I853807

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I853807 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：108110805 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 03 月 27 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/55 (2006.01)* *C07K14/715 (2006.01)*
A61K47/65 (2017.01) *C07K16/28 (2006.01)*
A61P37/04 (2006.01)

(30)優先權：2018/03/28 美國 62/649,379

(71)申請人：美商必治妥美雅史谷比公司 (美國) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (US)
美國

(72)發明人：戴維斯 強納森 哈利 DAVIS, JONATHAN HARRY (US)；道爾 麥可 路易斯 DOYLE, MICHAEL LOUIS (US)；馬蒂亞 帕楊卡 阿葡瓦 MADIA, PRIYANKA APURVA (IN)；辛哈蘿伊 瑪莉 史圖瑟斯 SINHAROY, MARY STRUTHERS (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2013/184942A1 WO 2016/022671A1

審查人員：吳思瑩

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：11 共 431 頁

(54)名稱

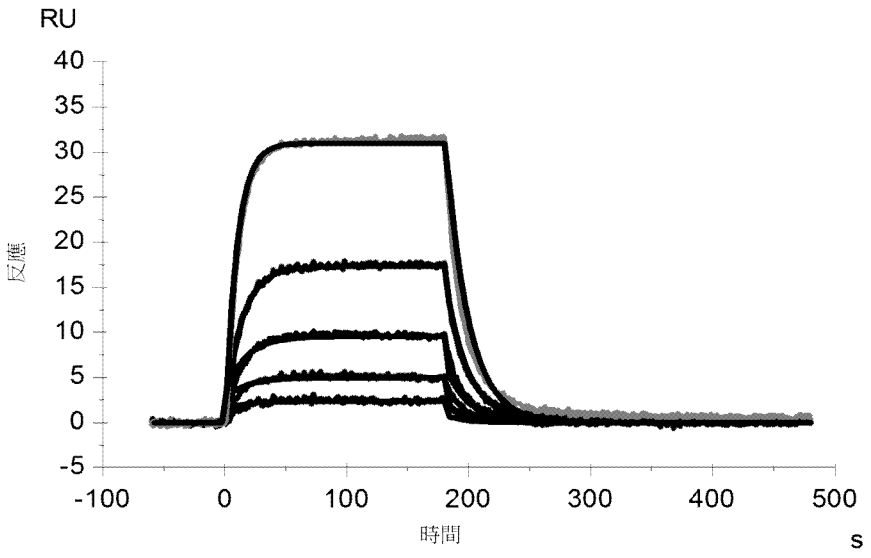
介白素-2/介白素-2 受體阿法融合蛋白及其使用方法

(57)摘要

本文揭示融合蛋白，其包含：(a)第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)；及(b)第二多肽，其與該第一多肽框架內融合，其中該第二多肽包含介白素-2 受體α(IL2Rα)之胞外域，其中 IL2 或 IL2Rα 包含相較於原生 IL2 或原生 IL2Rα 至少少一個的糖基化位點。亦揭示該等融合蛋白之製造方法及治療使用方法。

Disclosed herein are fusion proteins comprising: (a) a first polypeptide comprising Interleukin-2 (IL2); and (b) a second polypeptide, fused in frame to the first polypeptide, wherein the second polypeptide comprises an extracellular domain of Interleukin-2 Receptor alpha (IL2Rα), wherein IL2 or IL2Rα comprises at least one fewer glycosylation site compared to native IL2 or native IL2Rα. Methods of production and methods of therapeutic use of the fusion proteins are also disclosed.

指定代表圖：



【圖2】

公告本

I853807

【發明摘要】

【中文發明名稱】

介白素-2/介白素-2受體阿法融合蛋白及其使用方法

【英文發明名稱】

INTERLEUKIN-2/INTERLEUKIN-2 RECEPTOR ALPHA FUSION PROTEINS AND METHODS OF USE

【中文】

本文揭示融合蛋白，其包含：(a)第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)；及(b)第二多肽，其與該第一多肽框架內融合，其中該第二多肽包含介白素-2受體α (IL2Rα)之胞外域，其中IL2或IL2Rα包含相較於原生IL2或原生IL2Rα至少少一個的糖基化位點。亦揭示該等融合蛋白之製造方法及治療使用方法。

【英文】

Disclosed herein are fusion proteins comprising: (a) a first polypeptide comprising Interleukin-2 (IL2); and (b) a second polypeptide, fused in frame to the first polypeptide, wherein the second polypeptide comprises an extracellular domain of Interleukin-2 Receptor alpha (IL2Rα), wherein IL2 or IL2Rα comprises at least one fewer glycosylation site compared to native IL2 or native IL2Rα. Methods of production and methods of therapeutic use of the fusion proteins are also disclosed.

【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

介白素-2/介白素-2受體阿法融合蛋白及其使用方法

【英文發明名稱】

INTERLEUKIN-2/INTERLEUKIN-2 RECEPTOR ALPHA FUSION PROTEINS AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】 本發明所揭示之主題大體而言係關於採用介白素-2/介白素-2受體α融合蛋白調節免疫反應之方法及組合物。

【先前技術】

【0002】 介白素-2 (IL2或IL-2)為一種調節免疫系統之關鍵態樣之生物細胞介素。已嘗試使用IL2來增強患有癌症、發炎性疾病或自體免疫疾病之患者之免疫反應。IL2為一種強效的T細胞生長因子，其促進免疫反應(包括無性擴增抗原活化的T細胞)，驅動CD4+ T輔助(Th) 1及Th2細胞發育，最終分化為CD8+細胞毒性T淋巴球(CTL)，且對抗CD4+ Th17及濾泡性T輔助(Tfh)細胞發育。IL2亦塑造了T細胞記憶回憶反應。

【0003】 臨床試驗已藉由輸注高劑量之IL2 (通常> 500,000單位/公斤，反覆地)，而利用IL2在患有癌症及HIV/AIDS之患者中之T細胞活化特性，來增強T細胞及NK細胞。實際上，由於一些(大致5%)呈現完全緩解，IL2經FDA批准用於患有黑素瘤及腎細胞癌之患者。然而，此等及其他癌症中之反應率很低，同時此療法伴有嚴重的毒性。同樣，認為IL2在促進HIV/AIDS患者之免疫上無效。高劑量IL2在此等情況中之不佳功效部分地係因為Tregs之伴隨擴增。

【0004】 近年來，已使用較低劑量之IL2來選擇性地增強耐受性以抑制與自身組織之自體免疫樣攻擊相關的非所需免疫反應。此等低劑量之IL2未顯示任何增強自體反應性T細胞或其再活化的跡象。臨床前研究顯示低IL2R信號傳導選擇性地促進Tregs而非T效應(Teff)細胞之關鍵活性，且顯示用低水準之IL2治療小鼠防止自體免疫。目前，多個具有高度活化免疫反應之已用低劑量IL2 (50萬-200萬單位，週期性地)治療。迄今為止，經驗為，此療法為安全的，其中無自動侵襲性T細胞之再活化的指示，同時Tregs在幾乎所有患者中增加，此通常伴有臨床改善。然而，IL2作為治療劑具有重要缺點，包括極短的活體內半衰期(此限制了其功效)及在高劑量下之毒性。由於此等原因，需要具有增進的藥物動力學及反應持久性之新穎IL2生物製劑以供使用。

【發明內容】

【0005】 本發明包括一種融合蛋白，該融合蛋白包含：(a)第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)多肽；及(b)第二多肽，其包含介白素-2受體α (IL2Rα)多肽之胞外域；其中(i)該IL2Rα多肽之胞外域相較於原生IL2Rα (SEQ ID NO: 7)之胞外域至少少一個糖基化；及/或(ii)該IL2多肽相較於原生IL2 (SEQ ID NO: 2)至少少一個糖基化；且其中該融合蛋白具有IL2活性。在一些實施例中，該IL2Rα多肽之胞外域相較於原生IL2Rα (SEQ ID NO: 7)之胞外域至少少一個糖基化、至少少兩個糖基化、至少少三個糖基化、至少少四個糖基化、至少少五個糖基化、至少少六個糖基化、至少少七個糖基化、至少少八個糖基化或至少少九個糖基化。在一些實施例中，該IL2多肽相較於原生IL2 (SEQ ID NO: 2)至少少一個糖基化。

【0006】 在一些實施例中，該融合蛋白包含第一多肽，其中該第一

多肽包含與SEQ ID NO: 2至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，該融合蛋白包含第二多肽，其中該第二多肽包含與SEQ ID NO: 12至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致之胺基酸序列。

【0007】 在一些實施例中，至少少一個糖基化之該IL2Rα多肽之胞外域包含移除糖基化的突變。在一些實施例中，該突變移除O-糖基化及/或N-糖基化。在一些實施例中，該突變移除O-糖基化。在一些實施例中，該突變移除N-糖基化。

【0008】 在一些實施例中，該IL2Rα多肽之胞外域中之該突變為對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸167至219、胺基酸168至219、胺基酸169至219、胺基酸170至219、胺基酸171至219、胺基酸172至219、胺基酸173至219、胺基酸174至219、胺基酸175至219、胺基酸176至219、胺基酸177至219、胺基酸178至219、胺基酸179至219、胺基酸180至219、胺基酸181至219、胺基酸182至219、胺基酸183至219、胺基酸184至219、胺基酸185至219、胺基酸186至219、胺基酸187至219、胺基酸188至219、胺基酸189至219、胺基酸190至219、胺基酸191至219或胺基酸192至219的缺失。在一些實施例中，該突變為對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸167、169、171至192至219的缺失。在一些實施例中，該突變不包括對應於SEQ ID NO: 7之170至219的缺失。在一些實施例中，該第二多肽為SEQ ID NO: 11。在一些實施例中，該第二多肽為SEQ ID NO: 12。

【0009】在一些實施例中，該突變為經糖基化之胺基酸被未糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。在一些實施例中，該突變為允許在胺基酸附近處糖基化之胺基酸被不允許在胺基酸附近處糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。在一些實施例中，該一或多個取代係在胺基酸N49、胺基酸N68、胺基酸T74、胺基酸T85、胺基酸T197、胺基酸T203、胺基酸T208及胺基酸T216或其任何組合處，其中該等胺基酸位置對應於SEQ ID NO: 7。在一些實施例中，該一或多個取代為用選自由以下組成之群之胺基酸取代天冬醯胺：丙胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用選自由以下組成之群之胺基酸取代蘇胺酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0010】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸N49。在一些實施例中，N49經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0011】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸N68。在一些實施例中，N68經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪

胺酸及纈胺酸。

【0012】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T74。在一些實施例中，T74經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0013】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T85。在一些實施例中，T85經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0014】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T197。在一些實施例中，T197經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0015】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T203。在一些實施例中，T203經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0016】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T208。在一些實施例中，T208經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精

胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0017】 在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T216。在一些實施例中，T216經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0018】 在一些實施例中，該一或多個取代係在胺基酸S50、胺基酸S51、胺基酸T69、胺基酸T70、胺基酸C192或其任何組合處，其中該等胺基酸位置對應於SEQ ID NO: 7。

【0019】 在一些實施例中，該等取代中之一者係在胺基酸S50處。在一些實施例中，S50經突變為脯胺酸。

【0020】 在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸S51。在一些實施例中，S51經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0021】 在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T69。在一些實施例中，T69經突變為脯胺酸。

【0022】 在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸T70。在一些實施例中，T70經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺

酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0023】在一些實施例中，該等取代中之一者為胺基酸C192。在一些實施例中，C192經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0024】在一些實施例中，至少少一個糖基化之該IL2多肽包含移除糖基化之突變。在一些實施例中，該突變為經糖基化之胺基酸被未糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。在一些實施例中，該突變為允許在胺基酸附近處糖基化之胺基酸被不允許在胺基酸附近處糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。在一些實施例中，該一或多個取代為用選自由以下組成之群之胺基酸取代丙胺酸：精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用選自由以下組成之群之胺基酸取代蘇胺酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用選自由以下組成之群之胺基酸取代半胱胺酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用絲胺酸取代

半胱胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用丙胺酸取代半胱胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用纈胺酸取代半胱胺酸。

【0025】 在一些實施例中，該一或多個取代係在對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸T3處。在一些實施例中，該等取代中之一者係在胺基酸C125處。在一些實施例中，在胺基酸C125處之該取代係選自由以下組成之群：C125S、C125A及C125V。

【0026】 在一些實施例中，突變為缺失。在一些實施例中，缺失係在胺基酸A1處。

【0027】 在一些實施例中，融合蛋白以酶促或化學方式去糖基化。在一些實施例中，融合蛋白鹼金屬、肼解、PNGase F、Endo H、O-糖苷酶或其任何組合去糖基化。

【0028】 在一些實施例中，融合蛋白進一步包含在第一多肽與第二多肽之間框架內融合的連接子。在一些實施例中，連接子為甘胺酸/絲胺酸連接子。在一些實施例中，甘胺酸/絲胺酸連接子包含$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GGGS)_n$、$(GGGGS)_n$或$(GGGGS)_n$之胺基酸序列，其中n為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10之整數。在一些實施例中，甘胺酸/絲胺酸連接子包含$(GGGS)_3$之胺基酸序列。

【0029】 在一些實施例中，融合蛋白進一步包含與第一多肽及/或第二多肽融合之異源部分。在一些實施例中，異源部分為半衰期延長部分。在一些實施例中，異源部分包含非多肽部分。在一些實施例中，異源部分包含多肽。在一些實施例中，異源部分包含白蛋白、免疫球蛋白恆定區或其一部分、免疫球蛋白結合多肽、免疫球蛋白G (IgG)、白蛋白結合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc區及其任何

組合。

【0030】 在一些實施例中，融合蛋白比由SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 13組成之多肽更穩定。在一些實施例中，融合蛋白具有選自由以下組成之群之一或多個特性：(i)相較於參考蛋白，熱力學穩定性增加；(ii)相較於參考蛋白，TM增加；(iii)相較於參考蛋白，抗降解增加；(iv)相較於參考蛋白，對修飾之抗性增加；(v)相較於參考蛋白，活體內穩定性增加；及(vi)其任何組合，其中該參考蛋白包含：(i)第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)多肽；及(b)第二多肽，其包含介白素-2受體α (IL2Rα)多肽之胞外域；及相較於該融合蛋白至少少一個糖基化。

【0031】 在一些實施例中，融合蛋白為單體。在一些實施例中，融合蛋白為二聚體。在一些實施例中，二聚體包含兩個單體，且單體經由共價鍵彼此結合。在一些實施例中，二聚體包含兩個單體，且單體經由非共價鍵結合。

【0032】 在一些實施例中，相較於由SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 13組成之多肽的藥物動力學特性，融合蛋白具有選自由以下組成之群的一或多個藥物動力學特性：半衰期增加、C_{max}增加、AUC增加、C_{min}增加、廓清降低、生物可用性增進及其任何組合。在一些實施例中，融合蛋白具有延長的半衰期。在一些實施例中，相較於由SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 13組成之多肽的半衰期，延長的半衰期為其至少約1.5倍、至少約2倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約11倍、至少約12倍、至少約13倍、至少約14倍、至少約15倍、至少約16倍、至少約17倍、至少約18倍、至少約19倍、至少約20倍、至少約21倍或至少約22倍。

【0033】 在一些實施例中，本文揭示一或多種融合蛋白。在一些實施例中，本文提供一種組合物，其包含一或多種本文所揭示之融合蛋白。

【0034】 在一些實施例中，本文揭示一種核酸，其編碼本文所揭示之融合蛋白中之任一者。在一些實施例中，本文揭示一種載體，其包含編碼本文所揭示之融合蛋白中之任一者的核酸。在一些實施例中，本文揭示一種宿主細胞，其包含編碼本文所揭示之融合蛋白中之任一者的核酸。在一些實施例中，宿主細胞為真核細胞。在一些實施例中，宿主細胞係選自由以下組成之群：哺乳動物細胞、昆蟲細胞、酵母細胞、轉殖基因哺乳動物細胞及植物細胞。在一些實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞。在一些實施例中，宿主細胞為原核細胞。在一些實施例中，原核細胞為細菌細胞。

【0035】 在一些實施例中，本文提供一種醫藥組合物，其包含：(a)本文所揭示之融合蛋白、本文所揭示之組合物、本文所揭示之核酸、本文所揭示之載體或本文所揭示之宿主細胞；及(b)醫藥學上可接受之賦形劑。

【0036】 在一些實施例中，本文提供一種套組，其包含：本文所揭示之融合蛋白、本文所揭示之組合物、本文所揭示之核酸、本文所揭示之載體或本文所揭示之宿主細胞；及向有需要之個體投與該融合蛋白之說明書。

【0037】 在一些實施例中，本文提供一種製造本文所揭示之融合蛋白之方法，其包含：在合適條件下培養本文所揭示之宿主細胞；及回收該融合蛋白。在一些實施例中，宿主細胞為真核細胞或原核細胞。在一些實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞、昆蟲細胞、真菌細胞、植物細胞、轉

殖基因哺乳動物細胞或細菌細胞。在一些實施例中，宿主細胞係選自由以下組成之群：CHO細胞、HEK 293細胞、NS0細胞、Per C6細胞、BHK細胞及COS細胞。在一些實施例中，細菌細胞為大腸桿菌(*Escherichia coli*)。

【0038】 在一些實施例中，本文提供一種治療有需要之個體之疾病或病症之方法，其包含向該個體投與有效量之本文所揭示之融合蛋白、本文所揭示之組合物、本文所揭示之核酸、本文所揭示之載體、本文所揭示之宿主細胞或本文所揭示之醫藥組合物。在一些實施例中，疾病或病症為癌症。在一些實施例中，癌症為膀胱癌、乳癌、子宮癌、子宮內膜癌、卵巢癌、結腸直腸癌、結腸癌、頭頸癌、肺癌、胃癌、生殖細胞癌、骨癌、鱗狀細胞癌、皮膚癌、中樞神經系統贅瘤、淋巴瘤、白血病、肉瘤、病毒相關癌症、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胃腸癌、霍奇金氏(Hodgkin's)或非霍奇金氏淋巴瘤、胰臟癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、骨髓瘤、唾液腺癌、腎癌、基底細胞癌、黑素瘤、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、睪丸癌、食道癌或頭癌或頸癌及其任何組合。

【0039】 在一些實施例中，疾病或病症為發炎性疾病或自體免疫疾病。在一些實施例中，發炎性疾病或自體免疫疾病係選自由以下組成之群：1型糖尿病、多發性硬化、類風濕性關節炎、乳糜瀉、全身性狼瘡紅斑、狼瘡性腎炎、皮膚狼瘡、幼年特發性關節炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎或全身性硬化症、移植物抗宿主疾病、牛皮癬、斑禿、HCV誘導性脈管炎、休格連氏(Sjogren's)症候群、天疱瘡、僵直性脊椎炎、白塞氏病(Behcet's Disease)、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's

Granulomatosis)、高安氏病(Takayasu's Disease)、自體免疫肝炎、硬化性膽管炎、古-斯二氏(Gougerot-sjögren)症候群及巨噬細胞活化症候群。

【0040】 在一些實施例中，疾病或病症為傳染性疾病。在一些實施例中，傳染性疾病係由病原性病毒引起。在一些實施例中，該病原性病毒係選自由以下組成之群：人類免疫缺乏病毒(HIV)、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、疱疹病毒、腺病毒、流感病毒、黃病毒、腸道細胞病變性人類孤兒病毒病毒、鼻病毒、科沙奇病毒、冠狀病毒、呼吸道融合細胞病毒、腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、德國麻疹病毒、小病毒、牛痘病毒、人類嗜T淋巴細胞(HTL)病毒、登革熱病毒、乳頭瘤病毒、軟疣病毒、脊髓灰白質炎病毒、狂犬病病毒、約翰坎甯安(John Cunningham，JC)病毒及節足動物攜帶病毒性腦炎病毒。在一些實施例中，傳染性疾病係由病原性細菌引起。在一些實施例中，該病原性細菌係選自由以下組成之群：披衣菌、立克次體、分枝桿菌、葡萄球菌、鏈球菌、肺炎球菌、腦膜炎球菌及淋球菌、克雷伯氏菌、變形桿菌、沙雷氏菌、假單胞菌、退伍軍人桿菌、白喉病細菌、沙門氏菌、桿菌、霍亂細菌、破傷風細菌、肉毒細菌、炭疽病細菌、鼠疫細菌、鉤端螺旋體病細菌及萊姆(Lymes)病細菌。在一些實施例中，傳染性疾病係由病原性真菌引起。在一些實施例中，該病原性真菌係選自由以下組成之群：念珠菌(Candida) (白色念珠菌(albican)、克魯斯氏念珠菌(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、熱帶念珠菌(tropicalis)等)、新型隱球菌(Cryptococcus neoformans)、麴菌屬(Aspergillus) (熏煙色麴菌(fumigatus)、黑麴菌(niger)等)、毛黴屬(Genus Mucorales) (白黴菌屬(mucor)、犁頭黴屬(absidia)、根黴菌屬(rhizopus))、申克氏孢子絲菌(*Sporothrix schenkii*)、皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitidis*)、巴西副

球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球孢子菌(*Coccidioides immitis*)及莢膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)。在一些實施例中，傳染性疾病係由病原性寄生蟲引起。在一些實施例中，該病原性寄生蟲係選自由以下組成之群：溶組織內阿米巴(*Entamoeba histolytica*)、大腸纖毛蟲(*Balantidium coli*)、變形纖毛蟲(*Naegleriafowleri*)、棘狀變形蟲屬(*Acanthamoeba sp.*)、蘭比亞梨形鞭毛蟲(*Giardia lambia*)、隱孢子蟲屬(*Cryptosporidium sp.*)、肺胞囊蟲(*Pneumocystis carinii*)、間日瘧原蟲(*Plasmodium vivax*)、微小巴倍蟲(*Babesia microti*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)、黑熱病利什曼原蟲(*Leishmania donovani*)、剛地弓形蟲(*Toxoplasma gondii*)及巴西鼠鉤蟲(*Nippostrongylus brasiliensis*)。

【0041】在一些實施例中，本文所揭示之方法進一步包含向個體投與第二藥劑。在一些實施例中，該第二藥劑為PD-1拮抗劑、CTLA-4拮抗劑、TIM3拮抗劑、GITR拮抗劑、KIR拮抗劑、LAG3拮抗劑或其任何組合。在一些實施例中，該第二藥劑為抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗CTLA-4抗體、抗TIM3抗體、抗KIR抗體、抗GITR抗體、抗LAG3抗體或其任何組合。在一些實施例中，該第二藥劑為細胞介素抑制劑。在一些實施例中，該細胞介素抑制劑靶向IL-6、IL-10、TGF-β、VEGF、IFN-γ中之一或多者或其任何組合。

【0042】在一些實施例中，該融合蛋白係經由局部、表皮、經黏膜、鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下、局部、靜脈內、腹膜內、肌肉內、動脈內、鞘內、淋巴管內、病灶內、囊內、眶內、心內、皮內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊柱內、硬膜外或胸骨內途

徑投與。

【圖式簡單說明】

【0043】 圖1顯示，SEQ ID NO: 16之分子量為93 kDa，如藉由SEC/MALS靜態光散射所量測。單獨多肽鏈之理論質量減少37,812 Da。所觀測到的溶液質量表明，其作為均質均二聚體存在，其中約19%之質量係由於糖基化。

【0044】 圖2顯示使用表面電漿子共振量測，IL2-CD25融合蛋白(SEQ ID NO: 16)與人類sCD25之原型結合。

【0045】 圖3顯示在0.5 mg/kg單一靜脈內(IV)或皮下(SC)劑量之後，所指示融合蛋白在Balb/C小鼠中之血清濃度-時間曲線。每一時間點表示來自3隻小鼠之樣本的平均值。誤差槓表示標準差。

【0046】 圖4顯示在0.5 mg/kg單一靜脈內(IV)或皮下(SC)劑量之後，所指示融合蛋白在Balb/C小鼠中之血清濃度-時間曲線。每一時間點表示來自3隻小鼠之樣本的平均值。誤差槓表示標準差。

【0047】 圖5顯示在0.075 mg/kg單一皮下(SC)劑量之後，hIL2-CD25 (22-212)在食蟹獼猴中之血清濃度-時間曲線。每一時間點表示來自3隻猴之樣本的平均值。誤差槓表示標準差。

【0048】 圖6顯示IL2-CD25融合蛋白在來自代表性供體之人類PBMC中誘導STAT5磷酸化的活性。細胞在Treg ($CD4^+$、$foxp3^+$、$CD25^+$)或Tconv ($CD4^+$、foxp3-)、$CD8^+$及NK細胞($CD3^-$、$CD56^+$)上閘控，且對在培育之後pSTAT5染色呈陽性之細胞的百分比進行定量。自此等實驗所測定之hIL2-CD25 (22-240)、hIL2-CD25 (22-212)及hIL2-CD25 (22-187)在Treg中之pSTAT5誘導的EC_{50}分別為10 ng/ml、4.4 ng/ml及4.6

ng/ml。

【0049】 圖7顯示截短融合蛋白在全血中刺激IL2R，從而在各種細胞類型中引起誘導磷酸化STAT5之能力。IL2R信號傳導藉由在胞內pSTAT5染色之後利用流式細胞測量術量測及測定全血混合物中pSTAT5染色呈陽性之細胞的百分比來偵測。將hIL2-CD25 (22-240)之效能與代表性供體中之hIL2-CD25 (22-212)進行比較。在人類全血中滴定蛋白質，且藉由流式細胞測量術來量測胞內pSTAT5染色之強度。hIL2-CD25 (22-240)在Treg中之pSTAT5誘導的EC50為22 ng/ml，且hIL2-CD25 (22-212)在Treg中之pSTAT5誘導的EC50為36 ng/ml。

【0050】 圖8A-圖8C顯示與人類化免疫系統相比，hIL2-CD25 (22-240)、hIL2-CD25 (22-212)及hIL2-CD25 (22-184)在小鼠中增加T細胞的類似能力。每三天向NSG-huCD34移植小鼠投與(皮下)融合蛋白三個劑量。藉由流式細胞測量術來測定來自所給藥小鼠之脾之Treg (圖8A)、CD8 (圖8B)及NK細胞(圖8C)之分析。

【0051】 圖9A及圖9B顯示在15 min之後混合細胞群體(包括PBMC)中之STAT5的磷酸化(圖9A)，或用hIL2-CD25 (22-212) (SEQ ID NO: 16)的全血濃度(圖9B)。

【0052】 圖10顯示在活體外人類或小鼠血清中，(G3S)3連接子在IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)中之穩定性的基於LC-MS/MS的分析。在使用抗IL2抗體捕捉之後，報導使用LC-MS/MS，IL2及CD25之峰面積比率。

【0053】 圖11顯示在猴血清中，在0.075 mg/kg之單一皮下劑量之後，(G3S)3連接子在IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)中之穩定性的基

於LC-MS/MS的分析。在使用抗IL2抗體捕捉之後，報導使用LC-MS/MS，IL2及CD25之峰面積比率。

【實施方式】

【0054】 參考附圖，在下文中更完全地描述本發明，其中顯示本發明之一些實施例但非所有實施例。實際上，此等揭示內容可以多種不同形式實施，且不應解釋為限於本文所闡述之實施例；確切而言，提供此等實施例以使得本發明將滿足可適用的法定要求。類似編號貫穿全文係指類似元件。

【0055】 得益於前文描述內容及關聯圖式中呈現的教示的熟習此等揭示內容相關的技術者將瞭解本文中所闡述的揭示內容的許多修改及其他實施例。因此，應理解，揭示內容不限於所揭示的具體實施例，且修改及其他實施例意欲包含於所附申請專利範圍的範疇內。雖然本文中使用特定術語，但其僅以通用及描述意義且不出於限制之目的使用。

5.1 概述

【0056】 提供各種方法及組合物，其可用於調節免疫系統。組合物包括融合蛋白，該融合蛋白包含：(a)第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)多肽；及(b)第二多肽，其包含介白素-2受體α (IL2Rα)多肽之胞外域；其中(i)該IL2Rα多肽之胞外域相較於原生IL2Rα (SEQ ID NO: 7)之胞外域至少少一個糖基化；及/或(ii)IL2多肽相較於原生IL2 (SEQ ID NO: 2)至少少一個糖基化；且其中該融合蛋白具有IL2活性。

【0057】 本發明亦描述：一種編碼本文所揭示之融合蛋白的核苷酸；一種包含該核苷酸的載體；一種包含該核苷酸的宿主細胞；及一種包含該融合蛋白、該核苷酸、該載體或該宿主細胞的組合物。本發明亦係關

於製備該融合蛋白、該核苷酸、該載體、該宿主細胞或該組合物之方法，或使用該融合蛋白、該核苷酸、該載體、該宿主細胞或該組合物之方法。

5.2 定義

【0058】 應注意，術語「一(a或an)」實體係指一或多個彼實體；例如，「一核苷酸序列」應理解為表示一或多個核苷酸序列。因此，術語「一(a/an)」、「一或多個」及「至少一個」在本文中可互換使用。

【0059】 此外，本文所用之「及/或」應視為兩種指定特徵或組分中之每一者具有或不具有另一者之特定揭示內容。因此，諸如本文中「A及/或B」之片語中所用之術語「及/或」意欲包括「A及B」、「A或B」、「A」(單獨)及「B」(單獨)。同樣，諸如「A、B及/或C」之片語中所用之術語「及/或」意欲涵蓋以下態樣中之每一者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A (單獨)；B (單獨)；及C (單獨)。

【0060】 類似地，除非上下文另外明確指示，否則「或」一詞意欲包括「及」。應進一步理解，對核酸或多肽所給出之所有鹼基大小或胺基酸大小、及所有分子量或分子量值均為近似值，且出於描述而提供。

【0061】 應理解，每當本文中用語言「包含」描述態樣時，則亦提供用術語「由……組成」及/或「基本上由……組成」所描述之類似態樣。

【0062】 除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域之一般技術者通常所理解相同之含義。舉例而言，the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press；The Dictionary of Cell and Molecular

Biology, 第3版, 1999, Academic Press；及the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press，向此項技術者提供本發明中所用之許多術語的通用辭典。

【0063】 單位、前綴及符號以其國際單位制(Système International de Unites，SI)接受形式表示。數值範圍包括界定該範圍之數字。除非另外指示，否則胺基酸序列以胺基至羧基取向自左向右書寫。本文提供之標題並非本發明之各種態樣的限制，其可作為整體由說明書提及。因此，下文緊接著定義之術語藉由參考整個說明書更充分定義。

【0064】 術語「約」在本文中用於指大致、大約、在……左右或在……區域中。當術語「約」與數值範圍結合使用時，其藉由向上或向下擴展所闡述數值之邊界來調整其範圍。因此，「約10-20」意謂「約10至約20」。一般而言，術語「約」可調整高於及低於所陳述值例如上下10%(高或低)變化的數值。

【0065】 如本文所用，除非另外指示，否則「介白素-2」、「IL2」或「IL-2」係指來自任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，諸如靈長類(例如，人類)及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)及馴養或農業哺乳動物的任何原生或重組IL2。該術語涵蓋未加工IL2以及由在細胞中加工產生之任何IL2形式(亦即，IL2之成熟形式)。該術語亦涵蓋天然存在之IL2之變體及片段，例如剪接變體或等位基因變體；及具有天然存在之IL2之IL2活性的非天然存在之變體。

【0066】 已知IL2之額外核酸及胺基酸序列。參見例如GenBank寄存編號：Q7JFM2 (鬼夜猴(*Aotus lemurinus*) (灰腹夜猴))；Q7JFM5 (小夜猴(*Aotus nancymaae*) (瑪氏(Ma's)夜猴))；P05016 (黃牛(*Bas taurus*)

(牛))；Q29416（家犬(Canisfamiliaris/*Canis lupus familiaris*)（狗））；P36835（家山羊(*Capra hircus*)（山羊））；及P37997（家馬(*Equus caballus*)(馬))。

【0067】 IL2之生物學上活性片段及變體保留IL2活性。片語「IL2之生物活性」或「IL2活性」係指IL2之生物活性中之一或多者，包括(但不限於)刺激攜帶IL2受體之淋巴球的能力。此類活性可在活體外及活體內量測。IL2為免疫活性之全域調節劑，且此處所見之效果為此類活性之總和。舉例而言，其調節存活活性(Bcl-2)，誘導效應T細胞活性(IFN-γ、顆粒酶B及穿孔蛋白)及/或促進調節性T細胞活性(FoxP3)。

【0068】 已知IL2之生物活性變體。參見例如美國申請公開案20060269515及20060160187以及WO 99/60128。

【0069】 如本文所用，除非另外指示，否則術語「CD25」、「IL2受體α」、「IL2Rα」或「IL2Ra」係指來自任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，諸如靈長類(例如人類)及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)及馴養或農業哺乳動物的任何原生或重組IL2Rα。該術語亦涵蓋天然存在之IL2Rα之變體，例如剪接變體或等位基因變體，或具有IL2Rα活性之非天然存在之變體。人類IL2藉由經其受體系統IL2R之信號傳導發揮其生物效應。IL2及其受體(IL2R)為T細胞增殖及對於免疫反應關鍵的其他基本功能所需。IL2R由3個非共價連接的I型跨膜蛋白組成，其為α (p55)、β (p75)及γ (p65)鏈。人類IL2Rα鏈含有219個胺基酸之胞外域、19個胺基酸之跨膜域及13個胺基酸之胞內域。在本文所描述之融合蛋白中，可採用IL2Rα (IL2R-α)之分泌性胞外域。

【0070】 已知IL2Rα之核酸及胺基酸序列。參見例如GenBank寄存

編號：NP_001030597.1（黑猩猩(*Pan troglodytes*)）；NP_001028089.1（恆河猴(*Macaca mulatta*)）；NM_001003211.1（灰狼(*Canis lupus*)）；NP_776783.1（溫帶牛(*Bos taurus*)）；NP_032393.3（小家鼠(*Mus musculus*)）；及NP_037295.1 (褐家鼠(*Rattus norvegicus*))。

【0071】亦提供IL2Rα之胞外域之生物學上活性片段及變體。此類IL2Rα胞外域活性變體或片段將保留IL2Rα胞外域活性。片語「IL2Rα胞外域之生物活性」係指IL2Rα之胞外域之生物活性中之一或多者，包括(但不限於)在IL2受體反應性細胞中與IL2結合及/或增強胞內信號傳導的能力。舉例而言，在Robb等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:5654-5658, 1988中揭示IL2Rα之生物學上活性片段及變體的非限制性實例。在一些實施例中，本文所揭示之IL2Rα之生物學上活性片段及變體相較於原生IL2Rα之胞外域至少少一個糖基化。

【0072】如本文所用，術語「天然存在」在應用於一個對象時係指一個對象可在自然界中發現的事實。舉例而言，存在於可自自然界中之來源分離之生物體(包括病毒)中且未經人類在實驗室中有意修飾的多肽或聚核苷酸序列為天然存在的。

【0073】「多肽」係指包含至少兩個連續連接之胺基酸殘基的鏈，其中鏈長無上限。蛋白質中之一或多個胺基酸殘基可含有修飾，諸如(但不限於)糖基化、磷酸化或二硫鍵形成。「蛋白質」或「融合蛋白」可包含一或多條多肽。

【0074】本發明亦包括多肽之片段或變體，及其任何組合。當提及本發明之多肽結合域或結合分子時，術語「片段」或「變體」包括保留參考多肽之至少一些特性(例如，IL2與IL2Rα之結合活性)的任何多肽。多肽

之片段包括蛋白水解片段以及缺失片段，但不包括天然存在之全長多肽(或成熟多肽)。本發明之多肽結合域或結合分子之變體包括如上文所描述的片段，以及具有歸因於胺基酸取代、缺失或插入所致之改變的胺基酸序列的多肽。變體可為天然存在或非天然存在的。非天然存在之變體可使用此項技術中已知的突變誘發技術產生。變體多肽可包含保守或非保守胺基酸取代、缺失或添加。

【0075】 如上所陳述，多肽變體包括例如經修飾的多肽。修飾包括例如：乙醯化、醯化、ADP-核糖基化、醯胺化、黃素之共價連接、血紅素部分之共價連接、核苷酸或核苷酸衍生物之共價連接、脂質或脂質衍生物之共價連接、磷脂醯肌醇之共價連接、交聯、環化、二硫鍵形成、去甲基化、共價交聯之形成、半胱胺酸之形成、焦麩胺酸之形成、甲醯化、γ-羧化、糖基化、GPI錨定形成、羥基化、碘化、甲基化、豆蔻醯化、氧化、peg化(Mei等人, *Blood 116*:270-79 (2010))、蛋白水解加工、磷酸化、異戊烯化、外消旋化、硒化、硫酸化、轉移RNA介導之向蛋白質添加胺基酸(諸如精胺醯化)及泛素化。

【0076】 如本文所用，在蛋白質或核苷酸序列中，「對應於」、「對應於...之胺基酸」、「對應於...之位點」或「等效胺基酸」係藉由比對來鑑別，以將第一蛋白質序列(例如IL2序列)與第二蛋白質序列(例如第二IL2序列)之間的一致性或相似性最大化。用於鑑別第二蛋白質序列中之等效胺基酸之數目係基於用於鑑別第一蛋白質序列中之對應胺基酸的數目。在一些實施例中，術語「對應於」係指在多肽中之一或多個胺基酸或聚核苷酸中之一或多個核苷酸處之突變的關係。藉助於非限制性實例，如本文所揭示之聚核苷酸(例如，SEQ ID NO: 7)之具體胺基酸(例如，S50)係指

SEQ ID NO: 7中之第50個胺基酸(絲胺酸)。

【0077】 如本文所用，術語「與...結合」係指在第一胺基酸鏈與第二胺基酸鏈之間形成共價或非共價鍵。在一個實施例中，術語「與...結合」意謂共價非肽鍵或非共價鍵。此結合可藉由冒號亦即(:)指示。在另一實施例中，其意謂除肽鍵外之共價鍵。舉例而言，胺基酸半胱胺酸包含可與第二半胱胺酸殘基上之硫醇基形成二硫鍵或橋之硫醇基。在大多數天然存在之IgG分子中，CH1及CL區藉由二硫鍵結合，且兩條重鏈藉由在對應於239及242 (使用Kabat編號系統) (位置226或229，EU編號系統)之位置處之兩個二硫鍵結合。共價鍵之實例包括(但不限於)：肽鍵、金屬鍵、氫鍵、二硫鍵、σ鍵、π鍵、δ鍵、糖苷鍵、不可知鍵、彎鍵、偶極鍵、π反饋鍵(Pi backbond)、雙鍵、參鍵、四鍵、五鍵、六鍵、共軛、超共軛、芳香性、哈普托數或反鍵。非共價鍵之非限制性實施例包括：離子鍵(例如，陽離子-π鍵或鹽鍵)、金屬鍵、氫鍵(例如，二氫鍵、二氫複合物、低阻氫鍵或對稱氫鍵)、範德華力(van der Walls force)、倫敦色散力(London dispersion force)、機械鍵、鹵素鍵、親金作用、插層、堆疊、熵力或化學極性。

【0078】 如本文所用，術語「相當」意謂自使用例如融合蛋白所得的相當比例或水準等於、實質上等於或類似於參考比例或水準。如本文所用，術語「類似」意謂與參考比例或水準具有不大於10%或不大於15%之差異的相當比例或水準。術語「實質上相等」意謂與參考比例或水準具有不大於0.01%、0.5%或1%之差異的相當比例或水準。

【0079】 如本文所用，術語「表現」係指聚核苷酸產生基因產物，例如RNA或多肽之過程。

【0080】「融合物」或「融合」蛋白包含與第二胺基酸序列框架內連接的第一胺基酸序列，在自然界中該第一胺基酸序列不與該第二胺基酸序列天然地連接。可使通常存在於單獨蛋白質中之胺基酸序列在融合多肽中結合在一起，或可將通常存在於同一蛋白質中之胺基酸序列以新排列置放於融合多肽中，例如IL2蛋白與IL2-Rα之蛋白融合物。例如藉由化學合成，或藉由建立其中肽區按所需關係編碼之聚核苷酸及轉譯該聚核苷酸，來產生融合蛋白。融合蛋白可進一步包含藉由共價非肽鍵或非共價鍵與第一胺基酸序列結合的第二胺基酸序列。在轉錄/轉譯後，製得單一蛋白質。以此方式，可將多個蛋白質或其片段併入單一多肽中。「可操作地連接」意欲意謂在兩個或更多個元件之間的功能性連接。舉例而言，兩條多肽之間的可操作連接將兩條多肽在框架中融合在一起，產生單一多肽融合蛋白。在一特定態樣中，融合蛋白進一步包含如下文進一步詳細論述，可包含連接子序列的第三多肽。

【0081】「Fc區」(片段可結晶區域)、「Fc域」或「Fc」係指抗體之重鏈中介導免疫球蛋白與宿主組織或因子之結合(包括與位於免疫系統之各種細胞(例如，效應細胞)上之Fc受體之結合，或與經典補體系統之第一組分(C1q)之結合)的C端區。因此，Fc區包含除第一恆定區免疫球蛋白域(例如CH1或CL)外之抗體之恆定區。在IgG、IgA及IgD抗體同型中，Fc區包含衍生自抗體之兩條重鏈之第二(CH2)及第三(CH3)恆定域的兩個一致蛋白質片段；IgM及IgE Fc區在每一多肽鏈中包含三個重鏈恆定域(CH域2-4)。IgG同型在某些物種中劃分成亞類:人類中IgG1、IgG2、IgG3及IgG4，以及小鼠中IgG1、IgG2a、IgG2b及IgG3。對於IgG，Fc區包含免疫球蛋白域CH2及CH3及在CH1與CH2域之間的鉸鏈。儘管對免疫球蛋白

重鏈之Fc區之邊界的定義可不同，但如本文所定義，人類IgG重鏈Fc區定義為對於IgG1自胺基酸殘基D221，對於IgG2自V222，對於IgG3自L221而對於IgG4自P224延伸至重鏈之羧基端，其中該編號係根據Kabat中之EU索引。人類IgG Fc區之CH2域自胺基酸237延伸至胺基酸340，且CH3域定位於Fc區中之CH2域之C端側上，亦即其自IgG之胺基酸341延伸至胺基酸447或446 (若C端離胺酸殘基不存在)或445 (若C端甘胺酸及離胺酸殘基不存在)。如本文所用，Fc區可為原生序列Fc，包括任何同種異型變體或變體Fc (例如非天然存在之Fc)。

【0082】「Fc受體」或「FcR」為與免疫球蛋白之Fc區結合的受體。與IgG抗體結合之FcR包含FcγR家族之受體，包括此等受體之等位基因變體及交替剪接形式。FcγR家族由三種活化性受體(在小鼠中，FcγRI、FcγRIII及FcγRIV；在人類中，FcγRIA、FcγRIIA及FcγRIIIA)及一種抑制性受體(FcγRIIB)組成。人類FcγR之各種特性為此項技術中已知的。大部分先天性效應細胞類型共表現一或多種活化性FcγR及抑制性FcγRIIB，而自然殺手(NK)細胞選擇性地表現一種活化性Fc受體(在小鼠中，FcγRIII，而在人類中，FcγRIIIA)但不在小鼠及人類中表現抑制性FcγRIIB。人類IgG1與大多數人類Fc受體結合，且對於與其結合之活化Fc受體的類型而言，認為其等效於鼠類IgG2a。

【0083】如本文所用，術語「插入」、「經插入」、「插入至...中」或語法相關術語，係指異源部分(例如，半衰期延長部分)在融合多肽中相對於指定蛋白質中之類似位置的位置。如本文所用，該等術語係指本文所揭示之重組多肽之特徵，且並不指示、暗示或表示製備融合多肽之任何方法或過程。

【0084】 關於多肽或聚核苷酸之「異源」及「異源部分」為來源於不同蛋白質或聚核苷酸之多肽或聚核苷酸。融合蛋白之額外組分可來源於與融合蛋白之其他多肽組分相同的生物體，或額外組分可來源於與融合蛋白之其他多肽組分不同的生物體。舉例而言，異源多肽可為合成的，或來源於不同物種、個體之不同細胞類型、或不同個體之相同或不同細胞類型。在一個態樣中，異源部分為與另一多肽融合產生融合多肽或蛋白質的多肽。在另一態樣中，異源部分為非多肽，諸如與多肽或蛋白質共軛的PEG。本文所揭示之異源部分之非限制性實施例為甘胺酸/絲胺酸連接子(例如，GGGSGGGSGGGS (SEQ ID NO: 71) (亦標記為$(Gly_3Ser)_3$))。

【0085】 「原生序列Fc區」或「原生序列Fc」包含與在自然界中發現之Fc區之胺基酸序列一致的胺基酸序列。原生序列人類Fc區包括原生序列人類IgG1 Fc區；原生序列人類IgG2 Fc區；原生序列人類IgG3 Fc區；及原生序列人類IgG4 Fc區以及其天然存在之變體。原生序列Fc包括Fc之各種同種異型(參見例如Jefferis等人. (2009) *mAbs* 1: 1)。

【0086】 在使用融合蛋白之活體外或活體內分析之情況下，術語「EC_{50}」係指誘導最大反應之50%之反應，亦即最大反應與基線之間的一半的融合蛋白的濃度。

【0087】 「保守胺基酸取代」係指用具有類似側鏈之胺基酸殘基取代胺基酸殘基。此項技術中已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基家族。此等家族包括具有鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、色胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸)、β分

支鏈側鏈(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)之胺基酸。在一些實施例中，在IL2/IL2Rα融合蛋白中所預測之非必需胺基酸殘基經來自相同側鏈家族之另一胺基酸殘基置換。鑑別不消除抗原結合之核苷酸及胺基酸保守取代的方法在此項技術中已熟知(參見例如Brummell等人, *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993)；Kobayashi等人 *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999)；及Burks等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997))。

【0088】 如本文所用，術語「核酸分子」意欲包括DNA分子及RNA分子。核酸分子可為單股或雙股，且可為cDNA。

【0089】 如本文所用，術語「調節區」係指位於編碼區上游(5'非編碼序列)、其中或下游(3'非編碼序列)，且影響相連編碼區之轉錄、RNA加工、穩定性或轉譯的核苷酸序列。調節區可包括啟動子、轉譯前導序列、內含子、聚腺苷酸化識別序列、RNA加工位點、效應子結合位點及莖環結構。若編碼區意欲在真核細胞中表現，則聚腺苷酸化信號及轉錄終止序列將通常位於編碼序列之3'端。

【0090】 編碼基因產物(例如多肽)之聚核苷酸可包括啟動子及/或與一或多個編碼區可操作地相連之其他轉錄或轉譯控制元件。除啟動子以外的其他轉錄控制元件(例如增強子、操縱子、抑制子及轉錄終止信號)亦可與引導基因產物表現之編碼區可操作地相連。

【0091】 多個轉錄控制區已為熟習此項技術者所知。此等區域包括(但不限於)在脊椎動物細胞中起作用的轉錄控制區，諸如(但不限於)啟動子及增強子區段，其來自巨細胞病毒(即刻早期啟動子，連同內含子-A)、猿猴病毒40 (早期啟動子)及反轉錄病毒(諸如勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma

virus))。其他轉錄控制區包括來源於脊椎動物基因(諸如肌動蛋白、熱休克蛋白、牛生長激素及兔ß-血球蛋白)之彼等區，以及能夠控制真核細胞中之基因表現的其他序列。額外適合之轉錄控制區包括組織特異性啟動子及增強子以及淋巴介質誘導之啟動子(例如，可由干擾素或介白素誘導之啟動子)。

【0092】 類似地，多種轉譯控制元件已為一般熟習此項技術者所知。此等元件包括(但不限於)核糖體結合位點、轉譯起始及終止密碼子，及來源於小核糖核酸病毒之元件(特定言之，內部核糖體進入位點或IRES，亦稱為CITE序列)。

【0093】 術語「序列一致性百分比」、「百分比一致性」、「序列一致性」或「一致性」可互換地使用，且係指在比較窗內，考量必須引入以對兩條序列進行最佳比對之添加或缺失(亦即，間隙)，兩條聚核苷酸或多肽序列之間共用的一致匹配位置的數目。匹配位置為在靶標及參考序列兩者中呈現一致核苷酸或胺基酸的任何位置。靶標序列中呈現之間隙不計數，因為間隙不為核苷酸或胺基酸。同樣，參考序列中呈現之間隙不計數，因為靶標序列核苷酸或胺基酸計數，不為來自參考序列之核苷酸或胺基酸。

【0094】 序列之比較及兩個序列之間的一致性百分比的測定可使用數學演算法完成，如下文非限制性實例中所描述。

【0095】 藉由測定兩個序列中存在之一致胺基酸殘基或核酸鹼基的位置數獲得匹配位置數，將匹配位置數除以比較窗中之總位置數且將結果乘以100獲得序列一致性百分比，來計算序列一致性百分比。兩個序列之間的序列比較及序列一致性百分比之測定可使用容易進行線上使用及下載之軟體實現。合適的軟體程式可自各種來源獲得，且用於比對蛋白質與核

苷酸序列。一種測定序列一致性百分比之適合程式為bl2seq，其為可自美國政府國家生物技術資訊中心(U.S. government's National Center for Biotechnology Information) BLAST網點(blast.ncbi.nlm.nih.gov)獲得之BLAST套件之一部分。Bl2seq使用BLASTN或BLASTP演算法執行兩個序列之間的比較。BLASTN用於比較核酸序列，而BLASTP用於比較胺基酸序列。其他適合之程式為例如Needle、Stretcher、Water或Matcher (生物信息學程式之EMBOSS套件之一部分)且亦可自European Bioinformatics Institute (EBI)在www.ebi.ac.uk/Tools/psa獲得。

【0096】 與聚核苷酸或多肽參考序列比對之單一聚核苷酸或多肽靶標序列內不同區域可各自具有其自身序列一致性百分比。應注意，序列一致性百分比值四捨五入至小數點後一位。舉例而言，80.11、80.12、80.13及80.14向下四捨五入為80.1，而80.15、80.16、80.17、80.18及80.19向上四捨五入為80.2。亦應注意，長度值將始終為整數。

【0097】 兩個核苷酸序列之間的百分比一致性可使用GCG套裝軟體(可在worldwideweb.gcg.com獲得)中之GAP程式，使用NWSgapdna.CMP矩陣以及間隙權數40、50、60、70或80及長度權數1、2、3、4、5或6來測定。兩個核苷酸或胺基酸序列之間的百分比一致性亦可使用已併入ALIGN程式(2.0版)中的E. Meyers及W. Miller (*CABIOS*, 4: 11-17 (1989))之演算法，使用PAM120權數殘基表、間隙長度罰分12分及間隙罰分4分來測定。另外，兩個胺基酸序列之間的百分比一致性可使用已併入GCG套裝軟體(可在http://www.gcg.com獲得)中之GAP程式中的Needleman及Wunsch (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970))演算法，使用Blossum 62矩陣或PAM250矩陣以及間隙權數16、14、12、10、8、6或4及長度權數

1、2、3、4、5或6來測定。

【0098】本文所描述之核酸及蛋白質序列可進一步用作「查詢序列」以針對公共資料庫執行檢索，以例如鑑別相關序列。此類檢索可使用Altschul等人(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10之NBLAST及XBLAST程式(2.0版)進行。BLAST核苷酸檢索可用NBLAST程式(得分=100，字長=12)執行，以獲得與本文所描述之核酸分子同源之核苷酸序列。BLAST蛋白質檢索可用XBLAST程式(得分=50，字長=3)執行，以獲得與本文所描述之蛋白質分子同源的胺基酸序列。為了使間隙式比對達成比較目的，可如Altschul等人, (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402中所描述使用間隙式BLAST。在使用BLAST及間隙式BLAST程式時，可使用各別程式(例如XBLAST及NBLAST)之預設參數。參見worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov。

【0099】核酸可存在於全細胞、細胞溶解物或經部分純化或基本上純之形式中。當核酸與其他細胞組分或其他雜質，例如其他細胞核酸(例如，染色體之其他部分)或蛋白質純化分開時，該核酸為「經分離」或「呈現基本上純的」，該純化藉由標準技術，包括鹼性/SDS處理、CsCl顯帶、管柱層析、瓊脂糖凝膠電泳及此項技術中熟知之其他技術來進行。參見F. Ausubel等人編, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)。

【0100】如本文所用，術語「載體」意欲指能夠轉運已與其連接之另一核酸的核酸分子。一種類型之載體為「質體」，其係指其中可接合額外DNA區段之環形雙股DNA環。另一類型之載體為病毒載體，其中額外DNA區段可與病毒基因組接合。某些載體能夠在其所引入之宿主細胞中

自主複製(例如具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如，非游離型哺乳動物載體)在引入宿主細胞中時可整合至宿主細胞之基因組中，且因此與宿主基因組一起複製。此外，某些載體能夠引導與其可操作地連接之基因之表現。此類載體在本文中稱為「重組表現載體」(或簡言之，「表現載體」)。一般而言，用於重組DNA技術中之表現載體常常呈質體形式。在本說明書中，由於質體為載體之最常用形式，故「質體」及「載體」可互換使用。然而，亦包括提供同等功能之其他表現載體形式，諸如病毒載體(例如複製缺陷反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)。

【0101】 如本文所用，術語「活體外宿主細胞」(或簡言之「宿主細胞」)意欲指包含不天然存在於細胞中之核酸的細胞，且可為其中已引入重組表現載體的細胞。應理解，此類術語意欲不僅指特定個體細胞，而且指此種細胞之後代。因為某些修飾可能由於突變或環境影響而出現在隨後世代中，所以此類後代實際上無法與親本細胞相同，但仍包括在如本文所用之術語「宿主細胞」的範疇內。例示性宿主細胞包括(但不限於)：原核細胞(例如，大腸桿菌)；或替代地真核細胞，例如真菌細胞(例如，酵母細胞，諸如釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、甲醇酵母(*Pichia pastoris*)或粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*))；及各種動物細胞，諸如昆蟲細胞(例如，Sf-9)或哺乳動物細胞(例如，HEK293F、CHO、COS-7、NIH-3T3)。

【0102】 如本文所用，片語「緊靠胺基酸之下游」係指緊鄰於胺基酸之羧基端的位置。類似地，片語「緊靠胺基酸之上游」係指緊鄰於胺基酸之胺基端的位置。因此，如本文所用，片語「在插入位點之兩個胺基酸

之間」係指其中在兩個相鄰胺基酸之間插入異源部分(例如，半衰期延長部分)的位置。

【0103】 如本文所用，「投與」係指使用熟習此項技術者已知之多種方法及遞送系統中之任一者，向個體物理引入包含治療劑之組合物。本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之不同投與途徑包括靜脈內、腹膜內、肌肉內、皮下、脊椎或其他非經腸投與途徑，例如藉由注射或輸注。如本文所用，片語「非經腸投與」意謂除經腸及局部投與以外之投與模式，通常為注射，且包括(但不限於)靜脈內、腹膜內、肌肉內、動脈內、鞘內、淋巴管內、病灶內、囊內、眶內、心內、皮內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊椎內、硬膜外及胸骨內注射及輸注，以及活體內電穿孔。或者，本文所描述之抗體可經由非非經腸途徑投與，諸如局部、表皮或黏膜投與途徑，例如鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下或局部。投與亦可執行例如一次、複數次及/或經一或多個延長之週期。

【0104】 「免疫反應」如在此項技術中所理解，且一般係指脊椎動物內針對外來藥劑或異常(例如癌細胞)之生物反應，該反應保護生物體免受此等藥劑及由其造成之疾病的影響。免疫反應係由以下之作用介導：免疫系統之一或多種細胞(例如，T淋巴球、B淋巴球、自然殺手(NK)細胞、巨噬細胞、嗜酸性球、肥大細胞、樹突狀細胞或嗜中性白血球)；及由此等細胞中之任一者或肝產生之可溶性大分子(包括抗體、細胞介素及補體)，其導致選擇性靶向脊椎動物體內之侵襲病原體、經病原體感染之細胞或組織、癌性或其他異常細胞(或在自體免疫或病理性發炎之情況下，正常人類細胞或組織)，與其結合，將其損傷，將其破壞，及/或消除。免疫反應包括例如對T細胞(例如效應T細胞、Th細胞、$CD4^+$細胞、$CD8^+$ T

細胞或Treg細胞)之活化或抑制，或對免疫系統之任何其他細胞(例如NK細胞)的活化或抑制。

【0105】「免疫調節劑」或「免疫調控劑」係指可涉及調節、調控或改變免疫反應之藥劑，例如靶向信號傳導路徑之組分的藥劑。「調節」、「調控」或「改變」免疫反應係指在免疫系統之細胞中或在此類細胞(例如效應T細胞，諸如Th1細胞)之活性中的任何改變。更特定言之，如本文所用，術語「調節」包括誘導、抑制、增強、升高、增加或降低給定活性或反應。此類調節包括刺激或抑制免疫系統，其可顯現為各種細胞類型之數目的增加或減少、此等細胞之活性的增加或降低、或可在免疫系統內發生之任何其他變化。已鑑別出抑制性與刺激性免疫調節劑兩者，其中一些可在腫瘤微環境中具有增強功能。在一些實施例中，免疫調節劑靶向T細胞表面上的分子。「免疫調節性靶標」或「免疫調控性靶標」為受到物質、藥劑、部分、化合物或分子結合所靶向且其活性藉由物質、藥劑、部分、化合物或分子之結合而進行改變的分子，例如細胞表面分子。免疫調節性靶標包括例如細胞表面上之受體(「免疫調節性受體」)及受體配體(「免疫調節性配體」)。

【0106】「免疫療法」係指藉由包含誘導、增強、抑制或以其他方式改變免疫系統或免疫反應之方法治療罹患疾病或具有感染疾病或遭受疾病復發之風險的個體。

【0107】「免疫刺激療法」或「免疫刺激性療法」係指引起增加(誘導或增強)個體之免疫反應以用於例如治療癌症的療法。

【0108】「增強內源性免疫反應」意謂增加個體中現存之免疫反應的效果或效力。此效果及效力增加可例如藉由克服抑制內源性宿主免疫反

應之機制或藉由刺激增強內源性宿主免疫反應之機制來達成。

【0109】「T效應細胞」(「T_{eff}」細胞)係指具有細胞溶解活性之T細胞(例如，$CD4^+$及$CD8^+$ T細胞)以及T輔助(Th)細胞(例如Th1細胞)，該等細胞分泌細胞介素且活化及導引其他免疫細胞，但不包括調節性T細胞(Treg細胞)。本文所描述之某些IL2/IL2Rα融合蛋白活化T_{eff}細胞，例如$CD4^+$及$CD8^+$ T_{eff}細胞及Th1細胞。

【0110】刺激免疫反應或免疫系統之能力增加可由T細胞共刺激性受體之促效活性增強及/或抑制性受體之拮抗活性增強引起。刺激免疫反應或免疫系統之能力增加可由量測免疫反應之分析中之EC_{50}或最大活性水準的增加倍數反映，該分析例如量測細胞介素或趨化因子釋放之變化、細胞溶解活性(直接在靶細胞上測定或間接經由偵測CD107a或顆粒酶來測定)及增殖的分析。刺激免疫反應或免疫系統活性之能力可增強至少10%、30%、50%、75%、2倍、3倍、5倍或更多倍。

【0111】如本文所用，術語「連接」及「融合」係指第一胺基酸序列或核苷酸序列分別與第二胺基酸序列或核苷酸序列共價或非共價接合。第一胺基酸或核苷酸序列可直接與第二胺基酸或核苷酸序列接合或併接，或替代地插入序列可將第一序列與第二序列共價接合。術語「連接」不僅意謂第一胺基酸序列與第二胺基酸序列在C端或N端處融合，且亦包括分別將整個第一胺基酸序列(或第二胺基酸序列)插入至第二胺基酸序列(或第一胺基酸序列)中之任何兩個胺基酸中。在一個實施例中，藉由肽鍵或連接子，第一胺基酸序列與第二胺基酸序列連接。藉由磷酸二酯鍵或連接子，第一核苷酸序列可與第二核苷酸序列連接。連接子可為肽或多肽(對於多肽鏈)、或核苷酸或核苷酸鏈(對於核苷酸鏈)、或任何化學部分(對於

多肽及聚核苷酸鏈兩者)。術語「連接」亦由連字符(-)指示。

【0112】 如本文所用，術語「T細胞介導之反應」係指由T細胞，包括效應T細胞(例如$CD8^+$細胞)及輔助T細胞(例如$CD4^+$細胞)介導之反應。T細胞介導之反應包括例如T細胞細胞毒性及增殖。

【0113】 如本文所用，術語「細胞毒性T淋巴球(CTL)反應」係指由細胞毒性T細胞誘導之免疫反應。CTL反應主要由$CD8^+$ T細胞介導。

【0114】 如本文所用，術語「抑制」或「阻斷」(例如，提及抑制/阻斷IL2與細胞上之IL2Rα之結合)可互換地使用，且涵蓋部分及完全抑制/阻斷兩者。在一些實施例中，IL2/IL2Rα融合蛋白抑制IL2與IL2Rα之結合至少約50%，例如約60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%，例如如本文進一步描述所測定。在一些實施例中，IL2/IL2Rα融合蛋白抑制IL2與IL2Rα之結合不大於50%，例如約40%、30%、20%、10%、5%或1%，例如如本文進一步描述所測定。

【0115】 如本文所用，片語「抑制腫瘤之生長」包括腫瘤之生長之任何可量測降低，例如抑制腫瘤之生長至少約10%，例如至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約99%或100%。

【0116】 如本文所用，「癌症」係指特徵為異常細胞在體內不受控生長之一組廣泛疾病。不受調控之細胞分裂可引起惡性腫瘤或細胞形成，該等腫瘤或細胞侵入鄰近組織且可經由淋巴系統或血流轉移至身體遠端部分。

【0117】 如本文所用，術語「治療(treat/treating/treatment)」係指以反轉、緩解、改善、抑制或減緩或預防與疾病相關聯之症狀、併發症、

病狀或生物化學標誌的進展、發展、嚴重程度或復發或增強總存活期為目標來對個體執行的任何類型之干預或方法或向個體投與活性劑。治療可為治療患有疾病之個體或未患有疾病之個體(例如用於預防)。當預防性提供時，在任何症狀之前提供本文揭示之融合蛋白。防治性投與該物質用於預防或減弱任何隨後症狀。

【0118】 關於融合蛋白醫藥組合物或疫苗之「增強功效」或「增強免疫原性」，預期改善結果，例如如藉由特定值之改變所量測，該特定值諸如與保護性免疫相關之融合蛋白、醫藥組合物或疫苗之活性之特定參數的增加或降低。在一個實施例中，增強係指特定參數增加至少5%、10%、25%、50%、100%或大於100%。在另一實施例中，增強係指特定參數降低至少5%、10%、25%、50%、100%或大於100%。在一個實例中，疫苗之功效/免疫原性之增強係指疫苗抑制或治療疾病進展之能力增加，諸如疫苗對於彼目的之效果增加至少5%、10%、25%、50%、100%或大於100%。在另一實例中，疫苗之功效/免疫原性之增強係指疫苗募集個體抵抗已發展之癌症之天然防禦的能力的增加，諸如融合蛋白、醫藥組合物或疫苗對於彼目的的效果增加至少5%、10%、25%、50%、100%或大於100%。

【0119】 類似地，關於融合蛋白、醫藥組合物或疫苗之「克服受抑制的免疫反應」，預期改善結果，例如如藉由特定值之改變所量測，諸如返回至與保護性免疫相關之疫苗之活性之特定參數的先前正值。在一個實施例中，克服係指特定參數增加至少5%、10%、25%、50%、100%或大於100%。在一個實例中，克服針對融合蛋白、醫藥組合物或疫苗之受抑制的免疫反應係指，更新融合蛋白、醫藥組合物或疫苗抑制或治療疾病進

展的能力，諸如疫苗對於彼目的的效果更新至少5%、10%、25%、50%、100%或大於100%。

【0120】 如本文所(互換)使用，「治療有效量」、「治療劑量」、「劑量」、「有效劑量(effective dose)」、「有效劑量(effective dosage)」或「給藥量」，意謂達成如本文所描述之治療性目標的劑量。在一些實施例中，「治療劑量」意謂誘導出個體中之免疫耐受性的劑量。在某些實施例中，「治療劑量」意謂在指定時間至耐受時段內誘導出個體中的免疫耐受性的劑量，例如，在12週內投與第一劑量。IL2/IL2Rα融合蛋白之「治療有效量」係指IL2/IL2Rα融合蛋白足以引起所需生物反應之量。如一般熟習此項技術者應瞭解，特定IL2/IL2Rα融合蛋白之有效的絕對量可視諸如以下之因素而變化：所需生物學終點、待遞送之IL2/IL2Rα融合蛋白、靶細胞或組織及其類似者。一般熟習此項技術者將進一步理解，有效量可以單次劑量形式投與，或可藉由投與多次劑量(亦即，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多次劑量)來達成。治療劑促進疾病消退或抑制疾病發展或復發之能力可使用熟習此項技術者已知之多種方法，諸如在人類個體中在臨床試驗期間，在預測人類中之功效的動物模型系統中，或藉由在活體外分析中分析藥劑活性來加以評估。

【0121】 如本文所用，「治療(Treat/treatment/treating)」係指例如：疾病或病狀之嚴重程度降低；病狀時程之持續時間降低；與疾病或病狀相關之一或多個症狀改善或消除；向患有疾病或病狀之個體提供有利效果，未必治癒疾病或病狀。

【0122】 舉例而言，抗癌劑為在個體中促進癌症消退之藥物。在一些實施例中，治療有效量之藥物促進癌症消退至消除癌症之點。「促進癌

症消退」意謂，投與有效量之藥物(單獨或與抗贅生性劑組合)引起患者中腫瘤生長或大小減少、腫瘤壞死、至少一種疾病症狀之嚴重程度降低、疾病無症狀期之頻率及持續時間增加、預防由疾病病痛引起之損傷或能力喪失或以其他方式改善疾病症狀。另外，關於治療之術語「有效」及「效用」包括藥理學效果及生理學安全性。藥理學效果係指藥物促進患者中癌症消退之能力。生理學安全性係指由投與藥物引起的毒性水準，或細胞、器官及/或生物體水準之其他不良生理學作用(副作用)。

【0123】 對於治療腫瘤，舉例而言，治療有效量或劑量之藥物使細胞生長或腫瘤生長相對於未經治療之個體抑制至少約20%、至少約40%、至少約60%或至少約80%。在一些實施例中，治療有效量或劑量之藥物完全抑制細胞生長或腫瘤生長，亦即抑制細胞生長或腫瘤生長100%。化合物抑制腫瘤生長之能力可使用下文所描述之分析來加以評價。替代地，組合物之此特性可藉由檢查化合物抑制細胞生長之能力來評價，此類抑制可藉由熟習此項技術者已知的分析來活體外量測。在本文所描述之一些實施例中，可觀測到腫瘤消退且其繼續至少約20天、至少約40天或至少約60天之時段。

【0124】 術語「患者」包括接受預防性或治療性治療之人類及其他哺乳動物個體。

【0125】 如本文所用，術語「個體」包括任何人類或非人類動物。舉例而言，本文所描述之方法及組合物可用於治療患有癌症之個體。術語「非人類動物」包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、綿羊、狗、牛、雞、兩棲動物、爬行動物等。

【0126】 如本文所提及，術語「基於重量」之劑量或給藥意謂向患

者投與之劑量係基於該患者之重量來計算。舉例而言，當60 kg體重之患者需要3 mg/kg抗IL2抗體時，吾人可計算及使用適當量之IL2/IL2Rα融合蛋白(亦即，180 mg)來投與。

【0127】 關於本文所描述之方法及劑量使用術語「均一劑量」意謂在不考慮患者之重量或體表面積(BSA)的情況下向該患者投與之劑量。因此，均一劑量不以mg/kg劑量形式提供，而實際上以藥劑(例如IL2/IL2Rα融合蛋白)之絕對量形式提供。舉例而言，60 kg人及100 kg人應接受相同劑量之抗體(例如，480 mg IL2/IL2Rα融合蛋白)。

【0128】 如本文所用，術語「ug」及「uM」可分別與「μg」及「μM」互換使用。

【0129】 在以下子部分中進一步詳細描述本文所描述之各種態樣。

【0130】 對於免疫球蛋白或免疫球蛋白片段或區之胺基酸編號之參考，均係基於Kabat等人 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U. S. Department of Public Health, Bethesda; MD。(已自包括人類之幾種哺乳動物物種分離出FcRn受體。人類FcRn、大鼠FcRn及小鼠FcRn之序列為已知的(Story等人, *J. Exp. Med.* 180: 2377 (1994)。) Fc可包含具有或不具有免疫球蛋白之鉸鏈區之免疫球蛋白的CH2及CH3域。在WO 2004/101740及WO 2006/074199中提供例示性Fc變體。

5.3 介白素-2/介白素-2受體α融合蛋白

【0131】 本文揭示一種融合蛋白，其包含至少兩種組分：(a)第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)多肽；及(b)第二多肽，其包含介白素-2受體α(IL2Rα)多肽之胞外域。在一些實施例中，IL2Rα多肽之胞外域相較於原生IL2Rα (SEQ ID NO: 7)之胞外域至少少一個糖基化；及/或(ii)IL2多肽

相較於原生IL2 (SEQ ID NO: 2)至少少一個糖基化。在一些實施例中，融合蛋白具有IL2活性。

5.3.1 介白素-2

【0132】在一些實施例中，提供一種融合蛋白，其包含第一多肽，該第一多肽包含與第二多肽框架內融合之介白素-2 (IL2)，該第二多肽包含介白素-2受體α (IL2Rα)多肽之胞外域或由其組成。在一些實施例中，融合蛋白包含第一多肽，該第一多肽包含具有SEQ ID NO: 2之IL2。在一些實施例中，第一多肽包含與SEQ ID NO: 2至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致之胺基酸序列。

【0133】在一個實施例中，除非另外指示，否則「IL2多肽為來自任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，諸如靈長類(例如，人類)及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)及馴養或農業哺乳動物的任何原生或重組IL2。

【0134】在融合蛋白中表現適用於本發明之IL2多肽。本文所描述之融合蛋白特異性結合人類IL2R，且更具體言之，人類IL2Rα之胞外域內之特定域(例如，功能域)。在一些實施例中，包含IL2之融合蛋白為拮抗劑。在一些實施例中，包含IL2之融合蛋白以高親和力與人類IL2Rα結合。

【0135】術語IL2涵蓋未加工IL2以及由在細胞中加工產生之任何IL2形式(亦即，IL2之成熟形式)。該術語亦涵蓋天然存在之IL2之變體及片段，例如剪接變體或等位基因變體；及非天然存在之變體。例示性成熟形式之人類IL2 (具有20個胺基酸信號序列)之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 2中。未加工人類IL2另外包含20個N端胺基酸信號肽(SEQ ID NO:

1)，其在成熟IL2分子中不存在。例示性成熟形式之小鼠IL2 (具有20個胺基酸信號序列)之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 4中。未加工小鼠IL2另外包含20個N端胺基酸信號肽(SEQ ID NO: 3)，其在成熟IL2分子中不存在。「原生IL2」，亦稱為「野生型IL2」，意謂天然存在或重組IL2。

【0136】 已知IL2之額外核酸及胺基酸序列。參見例如GenBank寄存編號：Q7JFM2 (鬼夜猴(灰腹夜猴))；Q7JFM5 (小夜猴(瑪氏(Ma's)夜猴))；P05016 (黃牛(牛))；Q29416 (家犬(狗))；P36835 (家山羊(山羊))；及P37997 (家馬(馬))。

【0137】 亦提供IL2之生物學上活性片段及變體。此類IL2活性變體或片段將保留IL2活性。IL2之生物活性可指刺激攜帶IL2受體之淋巴球的能力。此類活性可在活體外及活體內量測。IL2為免疫活性之全域調節劑，且此處所見之效果為此類活性之總和。舉例而言，其調節存活活性(Bcl-2)，誘導效應T細胞活性(IFN-γ、顆粒酶B及穿孔蛋白)及促進調節性T細胞活性(FoxP3)。參見例如Malek等人(2010) Immunity 33(2):153-65。

【0138】 已知IL2之生物活性變體。參見例如美國申請公開案2006/0269515及2006/0160187以及WO 99/60128。

【0139】 可在本文所揭示之融合蛋白中採用IL2之生物學上活性片段及變體。此種功能片段可包含SEQ ID NO: 2之至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、75、100、125、150或更多個連續胺基酸。替代地，功能變體可包含與SEQ ID NO: 2中所闡述之序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性。

【0140】 進一步提供編碼IL2蛋白之聚核苷酸之活性變體及片段。此種聚核苷酸可包含編碼SEQ ID NO: 2之多肽之至少100、200、300、400、500、600、700個連續核苷酸，且繼續編碼具有IL2活性之蛋白質。替代地，功能性聚核苷酸可包含與編碼SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基序列之多肽至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性，且繼續編碼功能性IL2多肽。

【0141】 IL2之例示性多肽序列在下文表1中敍述。

表1

SEQ ID NO	描述	序列
1	IL2 (人類，未加工)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQM ILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
2	IL2 (人類，成熟形式)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
3	IL2 (小鼠，未加工)	MYSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQ QQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPKQAT ELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVV KLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ
4	IL2 (小鼠，成熟形式)	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRM ENYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHVLD LTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDESATV VDFLRRWIAFCQSIISTSPQ

【0142】 在一些實施例中，本文提供之融合蛋白可在IL2Rα之胞外域內包含至少一個突變。在一些實施例中，該IL2多肽相較於原生IL2 (SEQ ID NO: 2)至少少一個糖基化位點。在一些實施例中，至少少一個糖基化位點係歸因於移除糖基化之一或多個突變。

【0143】 在其他實施例中，融合蛋白包含用不具有糖基化位點之胺基酸取代具有糖基化位點之胺基酸的突變。在一些實施例中，該突變移除O-糖基化及/或N-糖基化。在一個實施例中，該突變移除O-糖基化，例如

在SEQ ID NO: 2之胺基酸3處之蘇胺酸。在另一實施例中，該突變移除N-糖基化。

【0144】 在一些實施例中，該突變為經糖基化之IL2之胺基酸被未糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。在一些實施例中，該突變為允許在胺基酸附近處糖基化之IL2之胺基酸被不允許在胺基酸附近處糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。

【0145】 在一些實施例中，IL2之胺基酸之一或多個取代為用選自由以下組成之群的胺基酸取代丙胺酸：精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0146】 在一些實施例中，IL2之胺基酸之一或多個取代為用選自由以下組成之群的胺基酸取代蘇胺酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0147】 在一些實施例中，IL2之胺基酸之一或多個取代為用選自由以下組成之群的胺基酸取代反應性胺基酸(例如半胱胺酸)：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用絲胺酸取代半胱胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用丙胺酸取代半胱胺酸。在一些實施例中，該一或多個取代為用纈胺酸取代半胱胺酸。

【0148】 在一些實施例中，該一或多個取代係在對應於SEQ ID

NO: 2之IL2之胺基酸T3處。

【0149】 在一些實施例中，取代中之一者係在SEQ ID NO: 2之胺基酸C125處。在一特定實施例中，在胺基酸C125處之取代係選自由以下組成之群：C125S、C125A及C125V。

【0150】 在一些實施例中，突變為缺失。在特定實施例中，缺失係在SEQ ID NO: 2之胺基酸A1處。

【0151】 本發明亦包括IL2多肽之任何其他突變。在其他實施例中，突變亦包括改善IL2之特性，例如改善IL2活性、改善IL2之半衰期、增進穩定性等之一或多個取代。

【0152】 如在此章節下文中所揭示，本文中敍述之突變為相對於SEQ ID NO: 2之胺基酸位置的突變。根據本發明，可在如本文所描述之IL2融合蛋白中之一或多者中，使用下文之突變中之任一者(單獨或與其他所揭示或任何此項技術中已知之突變組合)。

【0153】 在一些實施例中，IL2包含Carmenate等人, *J Immunol*, 200 (10) 3475-3484 (2018)及/或US 8,759,486中揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基Q22、Q126、I129、S130或其任何組合處，例如Q22V、Q126A、I129D、S130G或其任何組合。在一些實施例中，IL2包含L18N、Q126Y及S130R中之一或多個突變，如US 8,759,486 B2中所揭示。在一些實施例中，IL2包含Q13Y、Q126Y、I129D及S130R中之一或多個突變，如US 8,759,486 B2中所揭示。在一些實施例中，IL2包含K35E、K35D及K35Q中之一或多個突變，如WO 2018/091003 A1中所揭示。

【0154】 在一些實施例中，IL2包含Epstein等人 *Blood*,

101(12):4853-61] (2003)及/或US 7,371,371中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基R38處，例如R38W。在一些實施例中，IL2包含R38W之突變及IL2之胺基酸位置22至58外之一或多個突變，如US 7,371,371 B2中所揭示。

【0155】在一些實施例中，IL2包含Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)及/或US 8,906,356中所揭示之一或多個突變：例如胺基酸殘基91、126或兩者，例如V91R、Q126T或兩者。在一些實施例中，IL2包含E15W之突變，如Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)以及US 8,906,356中所揭示。在一些實施例中，IL2包含N88R及V91R中之一個或兩個突變，如Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)以及US 8,906,356中所揭示。在一些實施例中，IL2包含Q126T或Q126I之突變，如Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)及/或US 8,906,356中所揭示。

【0156】在一些實施例中，IL2包含US 8,906,356 B2中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸69、74、91、126或其任何組合處。在一些實施例中，突變為V91R、Q126T、Q126L、Q127T或其任何組合，如US 8,906,356 B2中所揭示。

【0157】在一些實施例中，IL2包含Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)及/或US 7,569,215 B2中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基E15、N30、E68、V69、N71、S75、N90或其任何組合處，例如N30S、E68D、V69A、N71A、S75P、N90H或其任何組合。在一些實施例中，IL2包含E15W之突變，如Wittrup等人*Biochemistry*, 第44卷, 第31期(2005)中所揭示。在一些實施例中，突變為V69A，如US

7,569,215 B2中所揭示。

【0158】在一些實施例中，IL2包含Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)及/或US 7,951,360 B2中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基N29、Y31、K35、T37、K48、V69、N71、N88或其任何組合處，例如N29S、Y31H、K35R、T37A、K48E、V69A、N71R、N88D或其任何組合。在一些實施例中，IL2包含E15W之突變，如Wittrup等人*Biochemistry*, 第44卷, 第31期(2005)中所揭示。

【0159】在一些實施例中，IL2包含Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)及/或US 8,349,311 B2中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸69、74、128或其任何組合處，例如V69A、I128P或其任何組合。

【0160】在一些實施例中，IL2包含Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基S4、T10、Q11、V69、N88、T133或其任何組合處，例如S4P、T10A、Q11R、V69A、N88D、T133A或其任何組合。

【0161】在一些實施例中，IL2包含Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸N30、V69、I128或其任何組合處，例如N30S、V69A、I128T或其任何組合。

【0162】在一些實施例中，IL2包含Wittrup等人*J Immunother.* 32(9):887-94 (2009)中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基K8、Q13、N26、N30、K35、T37、V69或其任何組合處，例如K8R、Q13R、N26D、N30T、K35R、T37R、V69A或其任何組合。

【0163】在一些實施例中，IL2包含Shanafelt等人，*Nat*

Biotechnol.,18(11):1197-202 (2000)中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基N88處，例如N88R。

【0164】 在一些實施例中，IL2包含US 9,616,105 B2中所揭示之一或多個突變：例如胺基酸20、88、126或其任何組合，例如N88R、N88G或N88I。在一些實施例中，IL2包含N88R、N88G或N88I之突變，如US 9,616,105 B2中所揭示。在一些實施例中，IL2包含D20H、D20I或D20Y之突變，如US 9,616,105 B2中所揭示。在一些實施例中，IL2包含Q126L之突變，如US 9,616,105 B2中所揭示。

【0165】 在一些實施例中，IL2包含US 2018/0125941 A1中所揭示之一或多個突變：例如D20H、N88I、N88G、N88R、Q126L、Q126F或其任何組合。在一些實施例中，IL2包含T3A、N88G、N88R、D20H、C125S、Q126L及Q126F之一或多個突變，如US 2018/0037624 A1中所揭示。

【0166】 在一些實施例中，IL2包含US 2017/0327555 A1中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基N88、D20、C125、Q126或其任何組合處，例如N88G、N88R、D20H、C125S、Q126L、Q126F或其任何組合。

【0167】 在一些實施例中，IL2包含WO 2016/025385 A1中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基D109、C125或兩者處，例如D109C、C125S或兩者。在一些實施例中，IL2包含WO 2016/025385 A1中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基D20、N88、Q126、C125、Q126或其任何組合處，例如D20H、N88I、N88G、N88R、Q126L、C125S、Q126F或其任何組合。

【0168】在一些實施例中，IL2包含WO 2016/164937 A1中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基L12、Q13、E15、H16、L19、D20、M23、D84、S87、N88、V91、E95或其任何組合處，例如L12G、L12K、L12Q、L12S、Q13G、E15A、E15G、E15S、H16A、H16D、H16G、H16K、H16M、H16N、H16R、H16S、H16T、H16V、H16Y、L19A、L19D、L19E、L19G、L19N、L19S、L19T、L19V、D20A、D20E、D20F、D20G、D20T、D20W、M23R、D84A、D84E、D84G、D84I、D84M、D84Q、D84R、D84S、D84T、S87E、N88A、N88D、N88E、N88F、N88G、N88M、N88R、N88S、N88V、N88W、V91D、V91E、V91G、V91S、E95G或其任何組合。

【0169】在一些實施例中，IL2包含US 9,932,380 B2或US 9,580,486中所揭示之一或多個突變：例如在胺基酸殘基V91處，例如V91K。在一些實施例中，IL2進一步包含C125A或C125S之突變。在一些實施例中，IL2進一步包含在T3處之突變。在一些實施例中，在T3處之突變為T3A或T3N中之一者。在一些實施例中，IL2包含在S5處之突變。在一些實施例中，突變為S5T。

【0170】在一些實施例中，IL2包含US 9,732,134 B2中所揭示之一或多個突變：例如E15、H16、Q22、D84、N88、E95或其任何組合。

【0171】在一些實施例中，IL2包含US 2015/0218260 A1中所揭示之一或多個突變：例如N88D。在一些實施例中，IL2包含US 9,266,938 B2中所揭示之突變：例如在胺基酸42、45、72或其任何組合處，例如L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R或L72K。在一些實施例中，IL2包含F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、

F42E、F42N、F42D、F42R及F42K之突變。在一些實施例中，IL2包含Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R及Y45K之突變。

【0172】在一些實施例中，IL2包含一至四個突變：第一突變，L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R或L72K；第二突變，F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R或F42K、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R或Y45K；第三突變，T3A、T3G、T3Q、T3E、T3N、T3D、T3R、T3K或T3P；及/或第四突變，C125A、C125S、C125T或C125V。本文中所列出或本文所引用之專利、專利公開案或任何其他參考文獻中揭示之突變，以全文引用之方式併入本文中。

5.3.2 介白素-2受體α

【0173】融合蛋白包含第二多肽，該第二多肽包含介白素-2受體α(IL2Rα)之胞外域。在一些實施例中，IL2Rα之胞外域包含闡述為SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。在一些實施例中，第二多肽包含與SEQ ID NO: 7至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致之胺基酸序列。

【0174】如本文所用，除非另外指示，否則術語「CD25」或「IL2受體a」、「IL2Rα」、「IL2Ra」、「IL2-Rα」及「IL2-Ra」係指來自任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，諸如靈長類(例如人類)及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)及馴養或農業哺乳動物的任何原生或重組IL2Rα。該術語亦涵蓋天然存在之IL2Rα之變體，例如剪接變體或等位基因變體；或非天然

存在之變體。人類IL2藉由經其受體系統IL2R之信號傳導發揮其生物效應。IL2及其受體(IL2R)為T細胞增殖及對於免疫反應關鍵的其他基本功能所需。IL2R由3個非共價連接的I型跨膜蛋白組成，其為α (p55)、β (p75)及γ (p65)鏈。人類IL2Rα鏈含有219個胺基酸之胞外域、19個胺基酸之跨膜域及13個胺基酸之胞內域。在本文所描述之融合蛋白中，可採用IL2Rα (IL2R alpha)之分泌性胞外域。

【0175】 例示性成熟形式之人類IL2Rα之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 6中。未加工人類IL2Rα顯示於SEQ ID NO: 5中。SEQ ID NO: 5及/或SEQ ID NO: 6之胞外域闡述於SEQ ID NO: 7中。例示性成熟形式之小鼠IL2Rα之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 9中。未加工小鼠IL2Rα顯示於SEQ ID NO: 8中。SEQ ID NO: 8及/或SEQ ID NO: 9之胞外域闡述於SEQ ID NO: 10中。「原生IL2Rα」，亦稱為「野生型IL2Rα」，意謂天然存在或重組IL2Rα。

【0176】 已知IL2Rα之核酸及胺基酸序列。參見例如GenBank寄存編號：NP_001030597.1 (黑猩猩(*P. troglodytes*))；NP_001028089.1 (恆河猴(*M. mulatta*))；NM_001003211.1 (灰狼(*C. lupus*))；NP_776783.1 (溫帶牛(*B. taurus*))；NP_032393.3 (小家鼠(*M. musculus*))；及NP_037295.1 (褐家鼠(*R. norvegicus*))。

【0177】 如本文所用，除非另外規定，否則IL2Rα之胞外域意謂在正常作用下與IL2結合之功能性IL2Rα胞外域。術語IL2Rα EC域包括保留全長野生型IL2Rα EC在IL2結合中之功能的其功能片段、變體、類似物或衍生物。IL2Rα EC域可為人類、豬、犬、大鼠或鼠類IL2Rα EC域。片語「IL2Rα EC域之生物活性」係指IL2Rα之EC域之生物活性中之一或多

者，包括(但不限於)增強IL2受體反應性細胞中之胞內信號傳導的能力。舉例而言，在Robb等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5654-5658, 1988中揭示IL2Rα EC域之生物學上活性片段及變體的非限制性實例。在一些實施例中，本文所揭示之IL2Rα EC域之生物學上活性片段及變體相較於原生IL2Rα之胞外域至少少一個糖基化。

【0178】 在本文所揭示之融合蛋白中，可採用IL2Rα之胞外域之生物學上活性片段及變體。此種功能片段可包含SEQ ID NO: 7之胞外域之至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、75、100、125、150、175、200、215或更多個連續胺基酸。替代地，功能變體可包含與SEQ ID NO: 7中所闡述之序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性。

【0179】 另外提供編碼IL2Rα之胞外域之聚核苷酸的活性變體及片段。此類聚核苷酸可包含編碼SEQ ID NO: 7之多肽之至少100、200、300、400、500、600或更多個連續核苷酸，且繼續編碼具有IL2Rα之胞外域活性之蛋白質。替代地，功能性聚核苷酸可包含與編碼SEQ ID NO: 7中所闡述之胺基序列之多肽至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性，且繼續編碼具有IL2Rα之胞外域活性之蛋白質。

【0180】 在表2中敍述IL2Rα之多肽序列。

表2.

SEQ ID NO	描述	序列
5	IL2Rα (人類，未加工形式)	MDSYLLMWGLLTFIMVPGCQAELCDDDPPEIPHATFKAM AYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVD

		QASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFP GEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIF TTEYQVAVAGCVFLLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI
6	IL2Rα (人類，成熟形式)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKS GSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPE EQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATER IYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLV TTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGCVFLLISVLLL SGLTWQRRQRKSRRTI
7	IL2Rα (人類，成熟形式之IL2Rα胞外域)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKS GSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPE EQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATER IYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLV TTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
8	IL2Rα (小鼠，未加工形式)	MEPRLLMLGFLSLTIVPSCRAELCLYDPPEVPNATFKALSY KNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSN SHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLT GHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQR GPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQ GSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETFVLTMEYKV AVASCLFLLISILLLSGLTWQHRWRKSRRTI
9	IL2Rα (小鼠，成熟形式)	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKEL VYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQ QTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHF VEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQ LTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQ PTETTAMTETFVLTMEYKVAVASCLFLLISILLLSGLTWQH RWRKSRRTI
10	IL2Rα (小鼠，成熟形式之IL2Rα胞外域)	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKEL VYMRCLGNSWSSNCQCTSNILRASHDKSRKQVTAQLEH QKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSK RIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTG WTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITT TDFPQPTETTAMTETFVLTMEYK
11	IL2Rα (人類，成熟形式之IL2Rα胞外域) -完全截短的	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKS GSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPE EQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATER IYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
12	IL2Rα (人類，成熟形式之IL2Rα胞外域) -一半截短的	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKS GSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPE EQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATER IYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS

【0181】在一些實施例中，本文提供之融合蛋白可包含在IL2Rα之EC域內之至少一個突變。

【0182】 在一些實施例中，該IL2Rα多肽之EC域相較於原生IL2Rα (SEQ ID NO: 7)之胞外域至少少一個糖基化、至少少兩個糖基化、至少少三個糖基化、至少少四個糖基化、至少少五個糖基化、至少少六個糖基化、至少少七個糖基化、至少少八個糖基化或至少少九個糖基化。

【0183】 在一些實施例中，至少少一個糖基化之該IL2Rα多肽之EC域包含移除糖基化的突變。在其他實施例中，融合蛋白包含用不具有糖基化位點之胺基酸取代具有糖基化位點之胺基酸的突變。在一些實施例中，該突變移除O-糖基化及/或N-糖基化。在一個實施例中，該突變移除O-糖基化。在另一實施例中，該突變移除N-糖基化。

【0184】 在一些實施例中，融合蛋白中之突變包含缺失IL2Rα之C端末端。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸167至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸168至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸169至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸170至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸171至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸172至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸173至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸174至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸175至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸176至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸177至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸178至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸179至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸180至219。在一些實施例

中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸181至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸182至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸183至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸184至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸185至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸186至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸187至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸188至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸189至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸190至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸191至219。在一些實施例中，突變為缺失SEQ ID NO: 7之胺基酸192至219。

【0185】 在一些實施例中，突變為對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸167、168、169或171至192至219的缺失。在一些實施例中，該突變不包括對應於SEQ ID NO: 7之170至219的缺失。

【0186】 在一些實施例中，第二多肽包含與SEQ ID NO: 11中所闡述之胺基酸序列至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致之胺基酸序列，基本上由其組成或由其組成。在其他實施例中，第二多肽包含SEQ ID NO: 11及+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20、+21、+22、+23、+24或+25個胺基酸，基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第二多肽包含SEQ ID NO: 11與不大於25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1

個胺基酸，基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第二多肽包含與SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致之胺基酸序列，基本上由其組成或由其組成。

【0187】 在一些實施例中，融合蛋白包含一或多個突變。在一些實施例中，一或多個突變為經糖基化之IL2之胺基酸被未糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。

【0188】 在一些實施例中，IL2Rα之一或多個取代胺基酸係在胺基酸N49、胺基酸N68、胺基酸T74、胺基酸T85、胺基酸T197、胺基酸T203、胺基酸T208及胺基酸T216或其任何組合處，其中該等胺基酸位置對應於SEQ ID NO: 7。

【0189】 在一些實施例中，該一或多個取代為用另一胺基酸取代天冬醯胺。在一些實施例中，該一或多個取代為用選自由以下組成之群之胺基酸取代天冬醯胺：丙胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0190】 在一些實施例中，一或多個取代為用另一胺基酸取代蘇胺酸。在一些實施例中，一或多個取代為用選自由以下組成之群之胺基酸取代蘇胺酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0191】 在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸N49。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸N49經突變為選自由以下組成之

群的胺基酸：丙胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0192】 在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸N68。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸N68經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0193】 在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸T74。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸T74經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0194】 在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸T85。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸T85經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0195】 在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸T197。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸T197經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0196】在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸T203。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸T203經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0197】在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸T208。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸T208經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0198】在一些實施例中，取代為SEQ ID NO: 7之胺基酸T216。在一些實施例中，SEQ ID NO: 7之胺基酸T216經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0199】在一些實施例中，融合蛋白包含一或多個突變。在一些實施例中，該一或多個突變為允許在胺基酸附近處糖基化之IL2Rα之胺基酸被不允許在胺基酸附近處糖基化之胺基酸取代的一或多個取代。

【0200】在一些實施例中，取代係在胺基酸S50、胺基酸S51、胺基酸T69、胺基酸T70、胺基酸C192或其任何組合處，其中該等胺基酸位置對應於SEQ ID NO: 7。

【0201】在一些實施例中，取代為對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸S50。在一些實施例中，對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸S50經突變為脯胺

酸。

【0202】 在一些實施例中，取代為對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸S51。在一些實施例中，對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸S51經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0203】 在一些實施例中，取代為對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸T69。在一些實施例中，對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸T69經突變為脯胺酸。

【0204】 在一些實施例中，取代為對應於SEQ ID NO:7之胺基酸T70。在一些實施例中，對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸T70經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0205】 在一些實施例中，取代為對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸C192。在一些實施例中，對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸C192經突變為選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

5.3.3 連接子

【0206】 本發明之融合蛋白可進一步包含連接子。在一些實施例中，連接子可自N端至C端將第一多肽與第二多肽連接，例如N-IL2-連接子-IL2Rα EC-C。在其他實施例中，連接子可自N端至C端將第二多肽與

第一多肽連接，例如N-IL2Rα EC-連接子-IL2-C。

【0207】 在一個實施例中，IL2/IL2Rα融合蛋白包含位於IL2多肽與IL2Rα多肽之間的連接子序列。連接子可具有任何長度，且可包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、50或60或更多個胺基酸。在其他實施例中，適用於本發明之連接子具有至少一個胺基酸且小於100個胺基酸、小於90個胺基酸、小於80個胺基酸、小於70個胺基酸、小於60個胺基酸、小於50個胺基酸、小於40個胺基酸、小於30個胺基酸、小於20個胺基酸、小於19個胺基酸、小於18個胺基酸、小於17個胺基酸、小於16個胺基酸、小於15個胺基酸、小於14個胺基酸、小於13個胺基酸或小於12個胺基酸。在一個實施例中，連接子序列包含甘胺酸胺基酸殘基。在其他情況下，連接子序列包含甘胺酸及絲胺酸胺基酸殘基之組合。

【0208】 在一些實施例中，融合蛋白包含在第一多肽與第二多肽之間框架內融合的連接子。在一些實施例中，融合蛋白包含為甘胺酸/絲胺酸連接子之連接子。此類甘胺酸/絲胺酸連接子可包含胺基酸殘基之任何組合，包括(但不限於)肽GGGS (SEQ ID NO: 174)或GGGGS (SEQ ID NO: 72)或其重複，包括此等給定肽之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個重複。本文所揭示之甘胺酸/絲胺酸連接子包含$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GGGS)_n$、$(GGGGS)_n$或$(GGGGS)_n$之胺基酸序列，其中n為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10之整數。在一特定實施例中，連接子序列包含GGGSGGGSGGGS (SEQ ID NO: 71) (亦標記為$(Gly_3Ser)_3$)。在另一實施例中，連接子序列包含GGGSGGGSGGGSGGGS (SEQ ID NO: 74) (亦標

記為$(Gly_3Ser)_4$)。在其他實施例中，連接子序列包含以下中之一者：$(Gly_3Ser)_5$ (GGGSGGGSGGGSGGGSGGGS) (SEQ ID NO: 75)、$(Gly_3Ser)_6$ (GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGS) (SEQ ID NO: 76)或$(Gly_3Ser)_7$ (GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGS) (SEQ ID NO: 77)。在其他實施例中，連接子序列包含如SEQ ID NO: 78中所闡述之$(Gly_4Ser)_3$ (GGGGSGGGGSGGGGS)。在額外實施例中，連接子序列包含：GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 79) (亦標記為$(Gly_4Ser)_4$)；GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 80) (亦標記為$(Gly_4Ser)_5$)；$(Gly_4Ser)_2$ (GGGGSGGGGS) (SEQ ID NO: 81)；$(Gly_4Ser)_1$ (GGGGS) (SEQ ID NO: 82)；$(Gly_4Ser)_6$ (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS) (SEQ ID NO: 83)；$(Gly_4Ser)_7$ (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS) (SEQ ID NO: 97)；或$(Gly_4Ser)_5$ (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS) (SEQ ID NO: 84)。

5.3.4 異源部分

【0209】本發明之融合蛋白可進一步包含額外元件，例如異源部分。此類元件可輔助融合蛋白之表現，輔助融合蛋白之分泌，增進融合蛋白之穩定性，允許蛋白質之更高效純化，及/或調節融合蛋白之活性。在一些實施例中，異源部分為多肽部分。在其他實施例中，異源部分為非多肽部分。

【0210】在一些實施例中，融合蛋白包含與第一多肽融合之異源部分。在一些實施例中，融合蛋白包含與第二多肽融合之異源部分。在一些實施例中，融合蛋白包含與第一多肽及第二多肽融合之異源部分。

【0211】 在一些實施例中，本文所揭示之融合蛋白包含一或多個額外異源部分。在一些實施例中，異源部分為半衰期延伸部分。在一些實施例中，異源部分包含白蛋白、免疫球蛋白恆定區或其一部分、免疫球蛋白結合多肽、免疫球蛋白G (IgG)、白蛋白結合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc區及其任何組合。

1) 免疫球蛋白恆定區或其部分

【0212】 免疫球蛋白恆定區由指示CH (恆定重鏈)域(CH1、CH2等)之域構成。視同型(亦即IgG、IgM、IgA、IgD或IgE)而定，恆定區可包含三個或四個CH域。一些同型(例如IgG)恆定區亦含有鉸鏈區。參見Janeway等人. 2001, *Immunobiology*, Garland Publishing, N.Y., N.Y。

【0213】 用於製造本發明之融合蛋白之免疫球蛋白恆定區或其一部分可自多種不同來源獲得。在較佳實施例中，免疫球蛋白恆定區或其一部分衍生自人類免疫球蛋白。然而，應理解，免疫球蛋白恆定區或其一部分可衍生自另一哺乳動物物種，包括例如嚙齒動物(例如小鼠、大鼠、兔、天竺鼠)或非人類靈長類(例如黑猩猩、獼猴)物種之免疫球蛋白。此外，免疫球蛋白恆定區或其一部分可衍生自任何免疫球蛋白類別，包括IgM、IgG、IgD、IgA及IgE；及任何免疫球蛋白同型，包括IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。在一個實施例中，使用人類同型IgG1。

【0214】 可獲得呈公開可獲得寄存物形式之各種免疫球蛋白恆定區基因序列(例如人類恆定區基因序列)。可選擇具有特定效應功能(或缺乏特定效應功能)或具有降低免疫原性之特定修飾的恆定區域序列。已公開許多抗體及抗體編碼基因之序列，且使用此項技術中公認的技術，合適的Ig恆定區序列(例如鉸鏈、CH2及/或CH3序列或其部分)可衍生自此等序

列。隨後，可改變或合成使用前述方法中之任一者獲得的遺傳物質，得到本發明多肽。將進一步理解，本發明之範疇涵蓋恆定區DNA序列之等位基因、變體及突變。

【0215】 可例如使用聚合酶鏈式反應及經選擇以擴增所關注域之引子，來選殖免疫球蛋白恆定區或其一部分之序列。為了選殖來自抗體之免疫球蛋白恆定區或其一部分之序列，可自融合瘤、脾或淋巴細胞分離mRNA，將其反轉錄為DNA，且藉由PCR擴增抗體基因。PCR擴增方法在以下中詳細描述：美國專利第4,683,195號；第4,683,202號；第4,800,159號；第4,965,188號；及例如「PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications」 Innis 等人編, Academic Press, San Diego, CA (1990)；Ho 等人 1989. Gene 77:51；Horton 等人 1993. Methods Enzymol. 217:270)。可藉由共同恆定區引子或藉由基於所公開之重鏈及輕鏈DNA及胺基酸序列之更特定引子引發PCR。如上文所論述，PCR亦可用於分離編碼抗體輕鏈及重鏈之DNA純系。在此情況下，文庫可藉由保守引子或較大同源探針(諸如小鼠恆定區探針)篩選。適合於擴增抗體基因之多種引子組為此項技術中已知的(例如，基於純化抗體之N端序列(Benhar及Pastan. 1994. Protein Engineering 7:1509)；cDNA末端之快速擴增(Ruberti, F.等人 1994. J. Immunol. Methods 173:33)；抗體前導序列(Larrick等人 1989 Biochem. Biophys. Res. Commun. 160:1250)的5'引子)。抗體序列之選殖進一步在1995年1月25日提交之Newman等人美國專利第5,658,570號中描述。

【0216】 本文所用之免疫球蛋白恆定區可包括所有域及鉸鏈區或其部分。在一個實施例中，免疫球蛋白恆定區或其一部分包含CH2域、CH3

域及鉸鏈區，亦即Fc區或FcRn結合搭配物。

【0217】 如本文所用，術語「Fc區」定義為多肽中對應於原生免疫球蛋白之Fc區，亦即如藉由其兩條重鏈之各別Fc域之二聚結合形成的部分。原生Fc區與另一Fc區形成均二聚體。

【0218】 在一個實施例中，「Fc區」係指單一免疫球蛋白重鏈中於恰好於番木瓜蛋白酶裂解位點(亦即IgG中之殘基216，重鏈恆定區之第一殘基視為114)上游之鉸鏈區中開始且在抗體之C端處結束的部分。因此，完全Fc域包含至少鉸鏈域、CH2域及CH3域。

【0219】 免疫球蛋白恆定區之Fc區，視免疫球蛋白同型而定，可包括CH2、CH3及CH4域以及鉸鏈區。包含免疫球蛋白之Fc區之融合蛋白賦予融合蛋白幾種所需特性，包括穩定性增加、血清半衰期增加(參見Capon等人, 1989, *Nature* 337:525)以及與Fc受體(諸如新生兒Fc受體(FcRn))結合 (美國專利第6,086,875號、第6,485,726號、第6,030,613號；WO 03/077834；US2003-0235536A1)。

【0220】 在一些實施例中，「Fc區」包括Fc域或衍生自Fc域之胺基酸序列。在某些實施例中，Fc區包含以下中之至少一者：鉸鏈(例如，鉸鏈區上部、中間及/或下部)域(抗體Fc區之約胺基酸216-230，根據EU編號)、CH2域(抗體Fc區之約胺基酸231-340，根據EU編號)、CH3域(抗體Fc區之約胺基酸341-438，根據EU編號)、CH4域、或其變體、部分或片段。在其他實施例中，Fc區包含完全Fc域(亦即，鉸鏈域、CH2域及CH3域)。在一些實施例中，Fc區包含以下、基本上由以下組成或由以下組成：與CH3域(或其一部分)融合之鉸鏈域(或其一部分)、與CH2域(或其一部分)融合之鉸鏈域(或其一部分)、與CH3域(或其一部分)融合之CH2域

(或其一部分)、與鉸鏈域(或其一部分)及CH3域(或其一部分)兩者融合之CH2域(或其一部分)。在另其他實施例中，Fc區缺乏CH2域之至少一部分(例如，CH2域之全部或部分)。在一特定實施例中，Fc區包含對應於EU編號221至447之胺基酸或由其組成。

【0221】 本文中表示為F、F1或F2之Fc域可自多種不同來源獲得。在一個實施例中，多肽之Fc區來源於人類免疫球蛋白。然而，應理解，Fc區可來源於另一哺乳動物物種，包括例如嚙齒動物(例如小鼠、大鼠、兔、天竺鼠)或非人類靈長類(例如黑猩猩、獼猴)物種之免疫球蛋白。此外，Fc域或其部分之多肽可來源於任何免疫球蛋白類別，包括IgM、IgG、IgD、IgA及IgE；及任何免疫球蛋白同型，包括IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。在另一實施例中，使用人類同型IgG1。

【0222】 在某些實施例中，Fc變體賦予由包含該野生型Fc域之Fc區賦予之至少一個效應功能的變化(例如，Fc區與Fc受體(例如FcγRI、FcγRII或FcγRIII)或補體蛋白質(例如C1q)結合或觸發抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、吞噬或補體依賴性細胞毒性(CDCC)之能力的增進或降低)。在其他實施例中，Fc變體提供經工程改造的半胱胺酸殘基。

【0223】 本發明之Fc區可採用此項技術中公認的已知賦予效應功能及/或FcR結合之變化(例如，增強或降低)的Fc變體。具體言之，本發明之結合分子可包括例如在以下中所揭示之胺基酸位置中之一或多者處的變化(例如，取代)：國際PCT公開案WO88/07089A1、WO96/14339A1、WO98/05787A1、WO98/23289A1、WO99/51642A1、WO99/58572A1、WO00/09560A2、WO00/32767A1、WO00/42072A2、WO02/44215A2、WO02/060919A2、WO03/074569A2、WO04/016750A2、

WO04/029207A2、WO04/035752A2、WO04/063351A2、WO04/074455A2、WO04/099249A2、WO05/040217A2、WO04/044859、WO05/070963A1、WO05/077981A2、WO05/092925A2、WO05/123780A2、WO06/019447A1、WO06/047350A2及WO06/085967A2；美國專利公開案第US2007/0231329號、第US2007/0231329號、第US2007/0237765號、第US2007/0237766號、第US2007/0237767號、第US2007/0243188號、第US20070248603號、第US20070286859號、第US20080057056號；或美國專利5,648,260、5,739,277、5,834,250、5,869,046、6,096,871、6,121,022、6,194,551、6,242,195、6,277,375、6,528,624、6,538,124、6,737,056、6,821,505、6,998,253、7,083,784、7,404,956及7,317,091。在一個實施例中，可在所揭示之胺基酸位置中之一或多者處進行特定變化(例如，此項技術中揭示之一或多個胺基酸之特定取代)。在另一實施例中，可在所揭示之胺基酸位置中之一或多者處進行不同變化(例如，此項技術中揭示之一或多個胺基酸位置之不同取代)。

【0224】 IgG之Fc區可根據很好公認的程序，諸如定點突變誘發及其類似程序來進行修飾，產生經修飾的IgG或Fc片段或其將由Fc受體結合的部分。此類修飾包括遠離Fc受體接觸位點之修飾以及在接觸位點內保持或甚至增強與Fc受體之結合的修飾。舉例而言，人類IgG1 Fc (Fc γ1)中之以下單一胺基酸殘基可經取代而不顯著丟失Fc針對Fc受體之結合親和力：P238A、S239A、K246A、K248A、D249A、M252A、T256A、E258A、T260A、D265A、S267A、H268A、E269A、D270A、E272A、L274A、N276A、Y278A、D280A、V282A、E283A、H285A、

N286A、T289A、K290A、R292A、E293A、E294A、Q295A、Y296F、N297A、S298A、Y300F、R301A、V303A、V305A、T307A、L309A、Q311A、D312A、N315A、K317A、E318A、K320A、K322A、S324A、K326A、A327Q、P329A、A330Q、P331A、E333A、K334A、T335A、S337A、K338A、K340A、Q342A、R344A、E345A、Q347A、R355A、E356A、M358A、T359A、K360A、N361A、Q362A、Y373A、S375A、D376A、A378Q、E380A、E382A、S383A、N384A、Q386A、E388A、N389A、N390A、Y391F、K392A、L398A、S400A、D401A、D413A、K414A、R416A、Q418A、Q419A、N421A、V422A、S424A、E430A、N434A、T437A、Q438A、K439A、S440A、S444A及K447A，其中例如P238A表示在位置編號238處之野生型脯胺酸經丙胺酸取代。作為一實例，特定實施例併入N297A突變，從而移除高度保守的N-糖基化位點。除丙胺酸以外，其他胺基酸可取代在以上指定位置處之野生型胺基酸。可將突變引入至Fc中，產生不同於原生Fc之多於一百個Fc區。另外，可將兩個、三個或更多個此等個別突變之組合一起引入，產生數百個Fc區。此外，本發明之構築體之Fc區中之一者可經突變，且構築體之另一Fc區則不經突變，或其兩者可經突變但具有不同突變。

【0225】 以上突變中之某些可賦予Fc區新功能性。舉例而言，一個實施例併入N297A，從而移除高度保守的N-糖基化位點。此突變之效果為降低免疫原性，從而增強Fc區之循環半衰期；及使Fc區不能與FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB及FcγRIIIA結合，而不損害親和力(Routledge等人1995, Transplantation 60:847；Friend等人1999, Transplantation

68:1632；Shields等人1995, J. Biol. Chem. 276:6591)。作為由上文所描述之突變產生之新功能性之另一實例，在一些情況下，針對Fc受體之親和力可超出野生型的。此增加的親和力可反映「開」速率增加、「關」速率降低，或「開」速率增加及「關」速率降低兩者。咸信賦予針對Fc受體之增加的親和力的突變的實例包括(但不限於) T256A、T307A、E380A及N434A (Shields等人 2001, J. Biol. Chem. 276:6591)。

【0226】 另外，至少三個人類Fcγ受體似乎識別IgG上之下部鉸鏈區(一般胺基酸234-237)中之結合位點。因此，新功能性及可能降低的免疫原性的另一實例可由此區域之突變引起，該等突變如例如藉由用來自IgG2 「PVA」之對應序列置換人類IgG1 「ELLG」之胺基酸233-236 (具有一個胺基酸缺失)。已顯示，當已引入此類突變時，介導各種效應功能之FcγRI、FcγRII及FcγRIII將不與IgG1結合。Ward及Ghetie 1995, Therapeutic Immunology 2:77，及Armour等人1999, Eur. J. Immunol. 29:2613。

【0227】 在一個實施例中，免疫球蛋白恆定區或其一部分(例如Fc區)為多肽，該多肽包括序列PKNSSMISNTP (SEQ ID NO: 98)及視情況進一步包括選自以下之序列：HQSLGTQ (SEQ ID NO: 93)、HQNLSDGK (SEQ ID NO: 94)、HQNISDGK (SEQ ID NO: 95)或VISSHLGQ (SEQ ID NO: 96) (美國專利第5,739,277號)。

【0228】 在某些實施例中，免疫球蛋白恆定區或其一部分為半糖基化的。舉例而言，包含兩個Fc區或FcRn結合搭配物之融合蛋白可含有經糖基化之第一Fc區(例如，經糖基化之CH2區)及非糖基化之第二Fc區(例如，非糖基化CH2區)。在一個實施例中，可將連接子插入於經糖基化與

非糖基化Fc區之間。在另一實施例中，Fc區或FcRn結合搭配物為完全經糖基化的，亦即所有Fc區均為經糖基化的。在其他實施例中，Fc區可為非糖基化的，亦即Fc部分中無一者為經糖基化的。

【0229】 在某些實施例中，本發明之融合蛋白包含免疫球蛋白恆定區或其一部分(例如，Fc變體)之胺基酸取代，其改變Ig恆定區之抗原非依賴性效應功能，特定言之蛋白質之循環半衰期。

【0230】 當相較於缺乏此等取代之蛋白質時，此類蛋白質呈現與Fc受體之增加或降低的結合，且因此分別在血清中具有增加或降低的半衰期。預料針對Fc受體具有增進親和力之Fc變體具有較長血清半衰期，且此類分子在需要所投與多肽具有長半衰期例如以治療慢性疾病或病症之治療哺乳動物的方法中，具有有用應用(參見例如美國專利第7,348,004號、第7,404,956號及第7,862,820號)。相比之下，預期Fc受體結合親和力降低之Fc變體具有較短半衰期，且此類分子亦適用於例如向對於活體內診斷成像而言縮短的循環時間可為有利的或在起始多肽當存在於循環延長時段時具有毒性副作用的情況下的哺乳動物投與。Fc受體結合親和力降低之Fc變體亦不大可能跨越胎盤，且因此亦適用於治療妊娠期婦女之疾病或病症。另外，其中可能需要降低之Fc受體結合親和力之其他應用包括其中需要定位大腦、腎臟及/或肝之彼等應用。在一例示性實施例中，本發明之融合蛋白呈現自血管跨越腎臟腎小球上皮之轉運降低。在另一實施例中，本發明之融合蛋白呈現自大腦跨越血腦障壁(BBB)至血管空間中之轉運降低。在一個實施例中，Fc受體結合改變之蛋白質包含至少一個Fc區(例如，一個或兩個Fc區)，該至少一個Fc區在Ig恆定區之「Fc受體結合環」內具有一或多個胺基酸取代。Fc受體結合環由野生型全長Fc區之胺基酸

殘基280-299 (根據EU編號)構成。在其他實施例中，Fc受體結合親和力改變之本發明之Ig恆定區或其一部分包含至少一個Fc區，該至少一個Fc區在對應於以下EU位置中之任一者之胺基酸位置處具有一或多個胺基酸取代：256、277-281、283-288、303-309、313、338、342、376、381、384、385、387、434 (例如，N434A或N434K)及438。在國際PCT公開案第WO05/047327號中揭示改變Fc受體結合活性之例示性胺基酸取代。

2)白蛋白或其片段或變體

【0231】 在某些實施例中，與IL2多肽及/或IL2Rα EC域連接之異源部分為白蛋白或其功能片段。

【0232】 人類血清白蛋白(HSA或HA) (其全長形式為609個胺基酸之蛋白質)引起血清之滲透壓之大量比例，且亦用作內源性及外源性配體之載劑。如本文所用，術語「白蛋白」包括全長白蛋白或其功能片段、變體、衍生物、或類似物。

【0233】 在一個實施例中，融合蛋白包含本文所描述之IL2多肽及IL2Rα EC域以及白蛋白、其片段或變體，其中IL2多肽與白蛋白或其片段或變體連接。在另一實施例中，融合蛋白包含本文所描述之IL2多肽及IL2RαEC域以及白蛋白、其片段或變體，其中IL2Rα EC與白蛋白或其片段或變體連接。

【0234】 在其他實施例中，與IL2多肽及IL2Rα EC域連接之異源部分為白蛋白或其片段或變體，其延長(或能夠延長)IL2多肽及IL2Rα EC域之半衰期。在以下中揭示白蛋白或其片段或變體之其他實例：美國專利公開案第2008/0194481 A1號、第2008/0004206 A1號、第2008/0161243 A1號、第2008/0261877 A1號或第2008/0153751 A1號，或PCT申請公開

案第2008/033413 A2號、第2009/058322 A1號或第2007/021494 A2號。

3)白蛋白結合部分

【0235】 在某些實施例中，與IL2多肽及IL2Rα EC域之異源部分為白蛋白結合部分，其包含白蛋白結合肽、細菌白蛋白結合域、白蛋白結合抗體片段或其任何組合。連接舉例而言，白蛋白結合蛋白可為細菌白蛋白結合蛋白、抗體或抗體片段，包括域抗體(參見美國專利第6,696,245號)。舉例而言，白蛋白結合蛋白可為細菌白蛋白結合域，諸如鏈球菌蛋白G中之一者(Konig, T.及Skerra, A. (1998) *J. Immunol. Methods* 218, 73-83)。可用作共軛搭配物之白蛋白結合肽之其他實例為例如具有Cys-Xaa $_1$-Xaa $_2$-Xaa $_3$-Xaa $_4$-Cys共同序列之彼等，其中Xaa $_1$為Asp、Asn、Ser、Thr或Trp；Xaa $_2$為Asn、Gln，H為Ile、Leu或Lys；Xaa $_3$為Ala、Asp、Phe、Trp或Tyr；及Xaa $_4$為Asp、Gly、Leu、Phe、Ser或Thr，如美國專利申請案2003/0069395或Dennis等人(Dennis等人 (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 35035-35043)中所描述。

4) PAS序列

【0236】 在其他實施例中，連接IL2多肽及IL2Rα EC域之異源部分為PAS序列。在一個實施例中，融合蛋白包含本文所描述之IL2多肽及IL2Rα EC域以及PAS序列，其中IL2多肽及/或IL2Rα EC域與PAS序列連接。

【0237】 如本文所用，PAS序列意謂包含主要為丙胺酸及絲胺酸殘基或包含主要為丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸殘基之胺基酸序列，該胺基酸序列在生理條件下形成無規捲曲構形。因此，序列為建構組元、胺基酸聚合物或序列盒，其包含以下、基本上由以下組成或由以下組成：丙胺酸、絲

胺酸及脯胺酸，其可用作融合蛋白中之異源部分之一部分。然而，熟習此項技術者應瞭解，當作為微量組份添加除丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸以外之殘基於PAS序列中時，胺基酸聚合物亦可形成無規捲曲構形。如本文所用，術語「微量組份」意謂，可在PAS序列中以一定程度添加除丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸以外之胺基酸，例如至多約12%，亦即約12/100個PAS序列之胺基酸；至多約10%，亦即約10/100個PAS序列之胺基酸；至多約9%，亦即約9/100個胺基酸；至多約8%，亦即約8/100個胺基酸；約6%，亦即約6/100個胺基酸；約5%，亦即約5/100個胺基酸；約4%，亦即約4/100個胺基酸；約3%，亦即約3/100個胺基酸；約2%，亦即約2/100個胺基酸；約1%，亦即約1/100個胺基酸。除丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸以外之胺基酸可選自由以下各者組成之群：Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Thr、Trp、Tyr及Val。

【0238】 在生理條件下，PAS序列鏈段形成無規捲曲構形，且因此可介導增加的對IL2多肽之活體內及/或活體外穩定性。由於螺旋域自身不呈現穩定結構或功能，所以由IL2多肽及與其融合之IL2Rα EC域介導之生物活性基本上保留。在其他實施例中，形成無規捲曲域之PAS序列為生物性惰性，尤其相對於血漿中之蛋白質水解、免疫原性、等電點/靜電行為、與細胞表面受體之結合或內化，但仍為生物可降解的，此提供優於合成聚合物(諸如PEG)的明顯優勢。

【0239】 形成無規捲曲構形之PAS序列之非限制性實施例包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：ASPAAPAPASPAAPAPSAPA (SEQ ID NO: 85)、AAPASPAPAAPSAPAPAAPS (SEQ ID NO: 86)、APSSPSPSAPSSPSPASPSS (SEQ ID NO: 87)、

APSSPSPSAPSSPSPASPS (SEQ ID NO: 88)、SSPSAPSPSSPASPSPSSPA (SEQ ID NO: 89)、AASPAAPSAPPAAASPAAPSAPPA (SEQ ID NO: 90)及ASAAAPAAASAAASAPSAAA (SEQ ID NO: 91)或其任何組合。自例如美國專利公開案第2010/0292130 A1號及PCT申請公開案第WO 2008/155134 A1號，已知PAS序列之其他實例。

5) HAP序列

【0240】在某些實施例中，與IL2多肽及IL2Rα EC域連接之異源部分為富含甘胺酸的均聚胺基酸聚合物(HAP)。HAP序列可包含甘胺酸之重複序列，其長度為至少50個胺基酸、至少100個胺基酸、120個胺基酸、140個胺基酸、160個胺基酸、180個胺基酸、200個胺基酸、250個胺基酸、300個胺基酸、350個胺基酸、400個胺基酸、450個胺基酸或500個胺基酸。在一個實施例中，HAP序列能夠延長與HAP序列融合或連接之部分的半衰期。HAP序列之非限制性實施例包括(但不限於)：$(Gly)_n$、$(Gly_4Ser)_n$或$S(Gly_4Ser)_n$，其中n為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一個實施例中，n為20、21、22、23、24、25、26、26、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40。在另一實施例中，n為50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200。

6)運鐵蛋白或其片段

【0241】在某些實施例中，與IL2多肽及IL2Rα EC域連接之異源部分為運鐵蛋白或其片段。可使用任何運鐵蛋白來製備本發明之融合蛋白。作為一實例，野生型人類Tf (Tf)為679個胺基酸蛋白質，大致75 KDa (不

考慮糖基化)，具有兩個主要域N域(約330個胺基酸)及C域(約340胺基酸)，其似乎來源於基因複製。參見GenBank寄存編號NM001063、XM002793、M12530、XM039845、XM 039847及S95936(www.ncbi.nlm.nih.gov/)。運鐵蛋白包含兩個域：N域及C域。N域包含兩個子域，N1域及N2域；且C域包含兩個子域，C1域及C2域。

【0242】在一個實施例中，融合蛋白之運鐵蛋白部分包括運鐵蛋白剪接變體。在一個實例中，運鐵蛋白剪接變體可為人類運鐵蛋白(例如Genbank寄存號AAA61140)之剪接變體。在另一實施例中，融合蛋白之運鐵蛋白部分包括運鐵蛋白序列之一或多個域，例如N域、C域、N1域、N2域、C1域、C2域或其任何組合。

7)聚合物，例如聚乙二醇(PEG)

【0243】在其他實施例中，與IL2多肽及IL2Rα EC域連接之異源部分為此項技術中已知之可溶性聚合物，包括(但不限於)聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖或聚乙烯醇。異源部分(諸如可溶性聚合物)可與IL2多肽或IL2Rα EC域中之任何位置或N端或C端連接。

【0244】本發明亦提供本發明之融合蛋白之化學修飾衍生物，其可提供額外優勢，諸如多肽之溶解度、穩定性及循環時間增加，或免疫原性降低(參見美國專利第4,179,337號)。用於修飾之化學部分可選自由水溶性聚合物組成之群，包括(但不限於)聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖及聚乙烯醇。融合蛋白可在分子中之隨機位置處、或在N端或C端處、或在分子中之預定位置處進行修飾，且可包括一個、兩個、三個或更多個連接的化學部分。

【0245】聚合物可具有任何分子量，且可為分支鏈或未分支鏈。對

於聚乙二醇，在一個實施例中，分子量在約1 kDa與約100 kDa之間，以易於操作及製造。可使用其他大小，視所需特性(例如，所需持續釋放之持續時間、效果(若有任何生物活性)、易於操作、抗原性之程度或缺乏抗原性及聚乙二醇對於蛋白質或類似物之其他已知效果)而定。舉例而言，聚乙二醇可具有以下之平均分子量：約200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、9500、10,000、10,500、11,000、11,500、12,000、12,500、13,000、13,500、14,000、14,500、15,000、15,500、16,000、16,500、17,000、17,500、18,000、18,500、19,000、19,500、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、45,000、50,000、55,000、60,000、65,000、70,000、75,000、80,000、85,000、90,000、95,000或100,000 kDa。

【0246】在一些實施例中，聚乙二醇可具有分支鏈結構。分支鏈聚乙二醇描述於例如以下中：美國專利第5,643,575號；Morpurgo等人，*Appl. Biochem. Biotechnol.* 56:59-72 (1996)；Vorobjev 等人，*Nucleosides Nucleotides* 18:2745-2750 (1999)；及 Caliceti 等人，*Bioconjug. Chem.* 10:638-646 (1999)。

【0247】與本發明之各融合蛋白、IL2多肽或IL2Rα EC域連接之聚乙二醇部分之數目(亦即，取代度)亦可變化。舉例而言，本發明之聚乙二醇化蛋白質可與平均1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、17、20或更多個聚乙二醇分子連接。類似地，在範圍內之平均取代度，諸如1-3、2-4、3-5、4-6、5-7、6-8、7-9、8-10、9-11、10-12、11-13、12-14、13-15、14-16、15-17、16-18、17-19或18-20個聚乙二醇部分/蛋白

質分子。用於測定取代度之方法例如在Delgado等人, *Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys.* 9:249-304 (1992)中論述。

【0248】 在其他實施例中，本發明中使用之IL2多肽及IL2Rα EC域與一或多個聚合物共軛。聚合物可為水溶性的，且與IL2多肽、IL2Rα EC域或同IL2多肽或IL2Rα EC域共軛之其他部分共價或非共價連接。聚合物之非限制性實施例可為聚(環氧烷)、聚(乙烯基吡咯啶酮)、聚(乙烯醇)、聚噁唑啉或聚(丙烯醯嗎啉)。

8)羥乙基澱粉(HES)

【0249】 在某些實施例中，與IL2多肽及IL2Rα EC域連接之異源部分為聚合物，例如羥乙基澱粉(HES)或其衍生物。在一個實施例中，融合蛋白包含本文所描述之IL2多肽及HES，其中IL2多肽及IL2Rα EC域與HES連接。

【0250】 羥乙基澱粉(HES)為天然存在之支鏈澱粉之衍生物，且由體內之α-澱粉酶降解。HES為碳水化合物聚合物支鏈澱粉之經取代衍生物，其以高達95重量%之濃度存在於玉米澱粉中。HES呈現有利的生物特性，且用作血量置換藥劑及在診所中之血液稀釋療法中使用(Sommermeyer等人, *Krankenhauspharmazie*, 8(8), 271-278 (1987)；及Weidler等人, *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 41, 494-498 (1991))。

【0251】 支鏈澱粉含有葡萄糖部分，其中在主鏈中，存在α-1,4-糖苷鍵，且在分支位點處存在α-1,6-糖苷鍵。此分子之物理-化學特性主要由糖苷鍵之類型來決定。歸因於帶切口的α-1,4-糖苷鍵，產生具有約六個葡萄糖單體/圈之螺旋結構。聚合物之物理-化學以及生物化學特性可經由取代來修飾。可經由鹼性羥乙基化，來達成羥乙基之引入。藉由調適反應條

件，有可能相對於羥乙基化在未經取代的葡萄糖單體中採用不同反應性之各別羥基。由於此事實，所以熟習此項技術者能夠有限程度地影響取代模式。

【0252】 HES之主要特徵為分子量分佈及取代度。取代度(表示為DS)係指熟習此項技術者已知之莫耳取代。參見Sommermeyer等人，*Krankenhauspharmazie*, 8(8), 271-278 (1987)，如上文所引用，尤其第273頁。

【0253】 在一個實施例中，羥乙基澱粉具有1至300 kD、2至200 kD、3至100 kD或4至70 kD之平均分子量(重量平均值)。羥乙基澱粉可進一步呈現0.1至3，較佳地0.1至2，更佳地0.1至0.9，較佳地0.1至0.8之莫耳取代度，及相對於羥乙基在2至20範圍內之C2:C6取代比。具有約130 kD平均分子量之HES之非限制性實例為具有0.2至0.8 (諸如0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7或0.8)，較佳地0.4至0.7 (諸如0.4、0.5、0.6或0.7)之取代度的HES。在一特定實施例中，具有約130 kD平均分子量之HES為來自Fresenius之VOLUVEN®。VOLUVEN®為人工膠樣，例如用於在治療及預防低血容量症之治療適應症中使用的容量置換。VOLUVEN®之特徵為130,000+/-20,000 D之平均分子量、0.4之莫耳取代及約9:1之C2:C6比。在其他實施例中，羥乙基澱粉之平均分子量之範圍為例如4至70 kD、或10至70 kD、或12至70 kD、或18至70 kD、或50至70 kD、或4至50 kD、或10至50 kD、或12至50 kD、或18至50 kD、或4至18 kD、或10至18 kD、或12至18 kD、或4至12 kD、或10至12 kD、或4至10 kD。在另其他實施例中，所採用之羥乙基澱粉之平均分子量在大於4 kD且小於70 kD範圍內，諸如約10 kD；或在9至10 kD、或10至11 kD、或9至11

kD範圍內，或約12 kD；或在11至12 kD、或12至13 kD、或1 1至13 kD範圍內，或約18 kD；或在17至18 kD、或18至19 kD、或17至19 kD範圍內，或約30 kD；或在29至30、或30至31 kD範圍內，或約50 kD；或在49至50 kD、或50至51 kD、或49至51 kD範圍內。

【0254】 在某些實施例中，異源部分可為具有不同平均分子量及/或不同取代度及/或不同C2:C6取代比之羥乙基澱粉的混合物。因此，可採用羥乙基澱粉之混合物，該等羥乙基澱粉具有不同平均分子量及不同取代度以及不同C2:C6取代比，或具有不同平均分子量及不同取代度以及相同或約相同C2:C6取代比，或具有不同平均分子量及相同或約相同取代度以及不同C2:C6取代比，或具有相同或約相同平均分子量及不同取代度以及不同C2:C6取代比，或具有不同平均分子量及相同或約相同取代度以及相同或約相同C2:C6取代比，或具有相同或約相同平均分子量及不同取代度以及相同或約相同C2:C6取代比，或具有相同或約相同平均分子量及相同或約相同取代度以及不同C2:C6取代比，或具有約相同平均分子量及約相同取代度以及約相同C2:C6取代比。

9)聚唾液酸(PSA)

【0255】 在某些實施例中，與IL2多肽及/或IL2Rα EC域連接之非多肽異源部分為聚合物，例如聚唾液酸(PSA)或其衍生物。聚唾液酸(PSA)為由某些菌株產生及哺乳動物中之某些細胞中之唾液酸之天然存在之未分支鏈聚合物，Roth J.等人 (1993)之*Polysialic Acid: From Microbes to Man*, Roth J., Rutishauser U., Troy F. A.編 (Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland), 第335-348頁。其可以自藉由有限酸水解或藉由用神經胺酸酶消化或藉由天然細菌來源之聚合物形式的分級分離，n=約80或更多個

唾液酸殘基下至n=2的各種聚合度來產生。不同聚唾液酸之組成亦變化，使得存在均聚形式，亦即包含大腸桿菌菌株K1及B組腦膜炎球菌之莢膜多醣的α-2,8-連接的聚唾液酸，其亦存在於胚胎形式的神經元細胞黏附分子(N-CAM)上。雜聚形式亦存在，諸如交替的大腸桿菌菌株K92之α-2,8 α-2,9聚唾液酸及奈瑟氏腦膜炎菌(*N. meningitidis*)之組C多糖。唾液酸亦可存在於與除唾液酸以外之單體(諸如奈瑟氏腦膜炎菌之組W135或組Y)的交替的共聚物中。聚唾液酸具有重要的生物學功能，包括逃過病原性細菌之免疫及補體系統，及在胎兒發育期間調控未成熟神經元之神經膠質黏附性(其中聚合物具有抗黏附功能)，Cho及Troy, *P.N.A.S., USA*, 91 (1994) 11427-11431，但在哺乳動物中不存在聚唾液酸的已知受體。大腸桿菌菌株K1之α-2,8-連接聚唾液酸亦稱為「多聚乙醯神經胺酸」，且用於(各種長度)例示本發明。已描述將聚唾液酸與多肽連接或共軛之各種方法(例如，參見美國專利第5,846,951號；WO-A-0187922及US 2007/0191597 A1)。

10) XTEN序列

【0256】 如此處所用，「XTEN序列」係指延長長度的多肽，該等多肽具有：主要由小親水性胺基酸構成之非天然存在、實質上非重複序列；在生理條件下具有較低程度或無二級或三級結構的序列。作為融合蛋白搭配物，XTEN可用作載劑，當與本發明之IL2多肽及/或IL2Rα EC域連接產生融合蛋白時，賦予某些所需藥物動力學、物理化學及醫藥學特性。此類所需特性包括(但不限於)增強的藥物動力學參數及溶解度特徵。

【0257】 在一些實施例中，本發明之XTEN序列為具有大於約20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、

1000、1200、1400、1600、1800或2000個胺基酸殘基之肽或多肽。在某些實施例中，XTEN為具有大於約20至約3000個胺基酸殘基、大於30至約2500個殘基、大於40至約2000個殘基、大於50至約1500個殘基、大於60至約1000個殘基、大於70至約900個殘基、大於80至約800個殘基、大於90至約700個殘基、大於100至約600個殘基、大於110至約500個殘基或大於120至約400個殘基之肽或多肽。

【0258】 本發明之XTEN序列可包含一或多個具有9至14個胺基酸殘基之序列基元或與該序列基元至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列，其中該基元包含選自由以下組成之群之4至6種類型的胺基酸，基本上由其組成或由其組成：甘胺酸(G)、丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)、麩胺酸(E)及脯胺酸(P)。參見US 2010-0239554 A1。

【0259】 在一些實施例中，XTEN序列包含多個單元之不重疊序列基元，該等不重疊序列基元為AD基元家族、或AE基元家族、或AF基元家族、或AG基元家族、或AM基元家族、或AQ基元家族、或BC家族、或BD家族之基元，其中所得XTEN呈現同源性之範圍。在其他實施例中，XTEN包含多個單元之來自該等基元家族中之兩個或更多個的基元序列。可選擇此等序列以達成所需物理/化學特徵，包括下文將更充分描述之諸如以下之特性：淨電荷、親水性、缺乏二級結構或缺乏由基元之胺基酸組成所賦予之重複性。在其他實施例中，可使用本文所描述之方法來選擇及組裝併入XTEN中之基元，以達成具有約36至約3000個胺基酸殘基之XTEN。

【0260】 在其他實施例中，本發明中使用之XTEN序列影響本發明

之融合蛋白的物理或化學特性，例如藥物動力學。本發明中使用之XTEN序列可呈現以下有利特性中之一或多者：構形可撓性、水溶性增強、高程度之蛋白酶抗性、低免疫原性、與哺乳動物受體之低結合或流體動力學(或斯托克(Stokes))半徑增加。在一具體實施例中，與本發明中之IL2多肽及/或IL2Rα EC域連接之XTEN序列增加藥物動力學特性，諸如較長終末半衰期或增加的曲線下面積(AUC)，使得本文所描述之融合蛋白相較於野生型IL2多肽在活體內停留增加的時間段。在其他實施例中，本發明中使用之XTEN序列增加藥物動力學特性，諸如較長終末半衰期或增加的曲線下面積(AUC)，使得IL2多肽相較於野生型IL2在活體內停留增加的時間段。

【0261】 可採用各種方法及分析來測定包含XTEN序列之蛋白質的物理/化學特性。此類方法包括(但不限於)：分析性離心、EPR、HPLC-離子交換、HPLC-尺寸排阻、HPLC-反相、光散射、毛細管電泳、圓二色性、差示掃描熱量測定、螢光、HPLC-離子交換、HPLC-尺寸排阻、IR、NMR、拉曼光譜法(Raman spectroscopy)、折射法及UV/可見光譜分析。額外方法揭示於Amau等人, *Prot Expr and Purif* 48, 1-13 (2006)中。

【0262】 XTEN序列之其他實例可根據本發明使用，且揭示於以下中：美國專利公開案第2010/0239554 A1號、第2010/0323956 A1號、第2011/0046060 A1號、第2011/0046061 A1號、第2011/0077199 A1號或第2011/0172146 A1號，或國際專利公開案第WO 2010091122 A1號、第WO 2010144502 A2號、第WO 2010144508 A1號、第WO 2011028228 A1號、第WO 2011028229 A1號或第WO 2011028344 A2號。

11) 免疫球蛋白結合肽(或多肽)

【0263】 在某些實施例中，與IL2多肽及/或IL2Rα EC域連接之非異源部分為免疫球蛋白結合肽。免疫球蛋白結合肽可與Fc區結合，且可增進本文所描述之融合蛋白之半衰期。

【0264】 在一些實施例中，適用於本發明之免疫球蛋白結合肽為具有大於約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450或500個胺基酸殘基之肽或多肽。

【0265】 在一些實施例中，適用於本發明之免疫球蛋白結合肽包含13聚體IgG-Fc域結合肽(IgGBP)。DeLano WL等人 (2000) Science 287:1279-1283。在其他實施例中，適用於本發明之免疫球蛋白結合肽包含美國專利公開案第20170334954號、美國專利公開案第20170210777號或PCT公開案第WO/2017/069158號中揭示之肽。

5.3.5 融合蛋白

【0266】 在一些實施例中，融合蛋白包含如表3中所敍述之SEQ ID NO: 13至SEQ ID NO: 70及SEQ ID NO: 202至SEQ ID NO: 204中之任一者。

表3：

SEQ ID NO:	構築體	序列
204	IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
13	IL2(C145S)-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI

		SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
14	IL2(C145A)-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
15	IL2(C145V)-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**V**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
16	IL2-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
17	IL2-CD25(22-187)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
18	IL2(C145A)-CD25(C213S, 22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**S**LVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
19	HSA-$(G_4S)_3$-	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQ**A**PFEDHVKL

	IL2-CD25(22-187)	VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETY GEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCT AFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC CQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLL ECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVE NDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYA RRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEF KPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLC VLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV MDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGG GSGGGGSGGGGS APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGS ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLY MLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQM VYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
20	IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGS ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLY MLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQM VYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEM ETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSGGDAHKSEVAHRFKDLGEE NFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELR DEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEF AEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQ LGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESL VNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKE TCFAEEGKKLVAASQAALGL
21	IL2(C145A)-CD25(22-192)-GGC	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE

		ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQGG**C**
22	IL2(C145A)-CD25(22-213)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**C**
23	IL2(C145A)-CD25(22-187, N70C)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTG**C**SSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
24	IL2(C145A)-CD25(22-187, N89C)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATR**C**TTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
25	IL2(C145A)-CD25(22-187)-C	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE**C**
26	人類 Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G 作為雜二聚體之Fc的第一側	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGAAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHAT FKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSW DNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQ ASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE**G**
27	IL2(C145S)-CD25(22-187)-HuFc1.1(f)-AZ1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE

	作為雜二聚體配對之Fc的第一側	CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEPKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPS SIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
29	IL2-C145S-CD25(22-187)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
30	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
31	IL2-CD25(22-240)-C213S	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
32	IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
33	原生SigPep-IL2-CD25(22-187)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPP EIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQ GYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE

34	原生 SigPep-HuIL2-CD25(22-212)-PP	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPP EIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQ GYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGE EKPQASPEGRPESETS**PP**
35	M-IL2(C145S)-CD25(C213S)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIIS TLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLN CECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTT KQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEN EATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGK TRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**S**LVTTT DFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
36	M-IL2(C145S)-CD25(C213S)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIIS TLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLN CECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTT KQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEN EATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGK TRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**S**LVTTT DFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
37	M-IL2-C145A-CD25(22-212)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIIS TLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLN CECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTT KQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEN EATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGK TRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
38	M-IL2-C145A-CD25(22-212)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIIS TLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLN CECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTT KQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEN EATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGK TRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
39	Del-A21-IL2-CD(22-212)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLT GGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQ VTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEA TERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS

40	IL2-T23A-L2-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGSSGGAGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
41	IL2-T3A-L3-CD(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTS SATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESV CKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPES ETS
43	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
44	IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
45	IL2-T23A-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
46	IL2-T23A-CD25(22-212)-T106A	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
47	IL2-T23A-	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK

	CD25(22-212)-T95A	FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVAPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
49	IL2-T23A-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
50	IL2-T23A-C145S-CD25(22-212)	APA**S**SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
51	IL2-C145S-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
52	IL2-T23A-CD25(22-212, T95A-T105A)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVAPQPEEQKERK**A**TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
53	IL2-T23A-CD25(22-212)-PG	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSPG
54	IL2-CD25(22-187)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE

		CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
55	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
56	IL2-CD25(22-240, C213S)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTD FQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
57	Del-A21-IL2-CD(22-212)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQ VTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEA TERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
58	IL2-T23A-L2-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGSSGGAGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
59	IL2-T23A-L3-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTS SATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESV CKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPES ETS
60	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTK

		QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
61	IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTG**Q**SSHSSWDNQCQCTSSATR**Q**TTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
62	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N89Q	AP**A**SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATR**Q**TTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
63	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q	AP**A**SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTG**Q**SSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
64	IL2-C145S-CD25(22-187)-N89Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATR**Q**TTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
65	IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTG**Q**SSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE
66	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	AP**A**SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE

67	Fc1.1-7連接子-IL2-CD25(22-212) 產生Fc均二聚體	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGSGGSGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPP EIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQ GYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGE EKPQASPEGRPESETS
68	IL2-CD25(22-212)-Fc1.1 產生Fc均二聚體	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
69	IL2(V111K)-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNIN**K**IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
70	IL2(D40T)-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLL**T**LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
202	IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCE CKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTK QVAPQPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENE ATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT

		RWTQPQLICTGE
203	Fc-(IL2(V91K)CD25)2二價	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGSGGSGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINKIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPP EIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQ GYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGE EKPQASPEGRPESETS

【0267】 除非另外提及，否則IL2為成熟IL2(21-153)。除非另外指出，否則IL2與CD25之間的連接子為(G3S)3。

【0268】 在一些實施例中，本發明之融合蛋白包含與SEQ ID NO: 13至SEQ ID NO: 70及SEQ ID NO: 202至SEQ ID NO: 204中之任一者至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致之胺基酸序列。

【0269】 本發明之IL2-IL2Rα融合蛋白可具有一或多個以下特性/活性：(1)增加調節性T細胞(Treg)之活性及/或增加基於低劑量IL2之療法中之免疫耐受性；(2)增加較高劑量療法中之免疫反應及記憶；(3)當相較於重組IL2時，增加IL2可用性；及/或(4)增加活體內攜帶IL2R之淋巴球之持久IL2刺激。

【0270】 在一個實施例中，相較於由IL2 (SEQ ID NO: 2)或SEQ ID NO: 204 (具有12聚體連接子而無截短之wt IL2-CD25序列)組成之多肽的藥代動力學特性，本文所揭示之融合蛋白包含選自由以下組成之群的一或多個藥物動力學特性：半衰期增加、C_{max}增加、AUC增加、C_{min}增加、廓清降低、生物可用性增進及其任何組合。

【0271】在一個實施例中，相較於IL2 (SEQ ID NO: 2)或SEQ ID NO: 204 (具有12聚體連接子而無截短之wt IL2-CD25序列)，本文所揭示之融合蛋白具有延長的半衰期。在一些實施例中，相較於由IL2 (SEQ ID NO: 2)或SEQ ID NO: 204 (具有12聚體連接子而無任何截短之wt IL2-CD25序列)組成之多肽之半衰期，延長的半衰期為其至少約1.5倍、至少約2倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約11倍、至少約12倍、至少約13倍、至少約14倍、至少約15倍、至少約16倍、至少約17倍、至少約18倍、至少約19倍、至少約20倍、至少約21倍或至少約22倍。

【0272】在一些實施例中，由IL2/IL2Rα融合蛋白引起之Treg之增加的活性可以各種方式來分析，該等方式包括(例如)：(1)CD4+ T細胞區室中之Treg之表示及數目增加；(2)IL2-依賴性CD25上調；(3)增殖增加，如藉由增殖性標記Ki67之表現所評定；及(4)IL2-依賴性終末分化型Klrg1+ Treg子集之分率增加。對於Treg之此類效果可見於例如脾及/或發炎胰臟中。

【0273】在一些實施例中，經由增加T效應/記憶反應，本發明之IL2/IL2Rα融合蛋白增加耐受性及免疫抑制性Treg以及免疫性，且在其他實施例中，其(1)在相較於原生或重組IL2更低之有效IL2活性水準下，藉由遞送此類反應而呈現增進的藥物動力學；及/或(2)比原生或重組IL2呈現更持久的生物學反應。

【0274】在具體實施例中，融合蛋白具有優於原生或重組IL2之增進的活性。舉例而言，IL2/IL-2Rα融合蛋白之效果可在與原生或重組IL2相比之約2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80

倍、90倍、100倍、150倍、200倍或更低IL2活性下，增加耐受性Treg。在其他實施例中，IL2/IL2Rα融合蛋白在誘導持久增強Treg及相關特性中比原生或重組IL2更有效。

【0275】 來自各種生物體之各種IL2及IL2Rα片段及變體可用於產生本文提供之IL2/IL2Rα胞外域融合蛋白。此類組分在本文之另外詳述之其他地方中論述。非限制性未加工或成熟IL2/IL2Rα胞外域融合蛋白之實例闡述於以下SEQ ID NO中：SEQ ID NO: 13至SEQ ID NO: 70及SEQ ID NO: 202至SEQ ID NO: 204。

【0276】 術語「分泌信號序列」表示編碼多肽(「分泌性肽」)之聚核苷酸序列，該多肽作為較大多肽之組分經由合成其之細胞之分泌路徑引導較大多肽。較大多肽通常在經由分泌路徑輸送期間進行裂解以移除分泌性肽。如本文所用，「成熟」形式之融合蛋白或多肽包含已移除分泌性肽之加工形式多肽。如本文所用，「未加工」形式之融合蛋白保留分泌性肽序列。

【0277】 亦提供成熟及未加工形式之IL2/IL-Ra EC域融合蛋白及編碼其之聚核苷酸的生物學上活性片段及變體。此種功能性多肽片段可包含以下SEQ ID NO中之任一者之至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500或更多個連續胺基酸：SEQ ID NO: 13至SEQ ID NO: 70及SEQ ID NO: 202至SEQ ID NO: 204。替代地，功能性多肽變體可包含與以下SEQ ID NO中所闡述之序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性：SEQ ID NO: 13至SEQ ID NO: 70及SEQ ID NO: 202至SEQ

ID NO: 204。

【0278】 進一步提供編碼IL2/IL-Ra胞外域融合蛋白之聚核苷酸之活性變體及片段。此類聚核苷酸可包含編碼以下SEQ ID NO中所闡述之多肽的至少100、200、300、400、500、600、700、800、1000、1100、1200、1300、1500、1800、2000個連續核苷酸：SEQ ID NO: 13至SEQ ID NO: 70及SEQ ID NO: 202至SEQ ID NO: 204；且繼續編碼功能性IL2/IL-Ra胞外域融合蛋白。

【0279】 應進一步認識到，IL2/IL2Rα融合蛋白之組分可以任何順序存在。在一個實施例中，IL2多肽係在融合蛋白之N端處，且IL2Rα之胞外域係在融合蛋白之C端處。

【0280】 在一些實施例中，融合蛋白形成二聚體。在其他實施例中，融合蛋白為單體。又在一些實施例中，二聚體包含兩個單體，且單體經由共價鍵彼此結合。在一些實施例中，二聚體包含兩個單體，且單體經由非共價鍵結合。

【0281】 在本發明之一些實施例中，融合蛋白比由IL2 (SEQ ID NO: 2)或SEQ ID NO: 204 (具有12聚體連接子而無截短之wt IL2-CD25序列)組成之多肽更穩定。在一些實施例中，融合蛋白具有選自由以下組成之群之一或多個特性：(i)相較於參考蛋白，熱力學穩定性增加；(ii)相較於參考蛋白，TM增加；(iii)相較於參考蛋白，抗降解增加；(iv)相較於參考蛋白，對修飾之抗性增加；(v)相較於參考蛋白，活體內穩定性增加；及(vi)其任何組合，其中該參考蛋白包含：(i)第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)多肽；及(b)第二多肽，其包含介白素-2受體α (IL2Rα)多肽之胞外域；及相較於該融合蛋白至少多一個糖基化。

【0282】 可藉由其他機制來移除本文所揭示之融合蛋白之糖基化位點中的任一者。在一些實施例中，融合蛋白以酶促或化學方式去糖基化。在一些實施例中，融合蛋白由鹼金屬、肼解、肽-N-糖苷酶F (PNGase F)、內-β-N-乙醯基胺基葡萄糖苷酶H (Endo H)、O-糖苷酶或其任何組合去糖基化。

【0283】 在一些實施例中，融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除藉由用鹼金屬處理融合蛋白來達成。在一些實施例中，藉由鹼金屬硼氫化物處理自經糖基化多肽移除聚糖。在其他實施例中，本文所揭示之融合蛋白之糖基化位點可使用鹼金屬碳酸鹽，諸如碳酸鈉及碳酸鉀來移除。在一些實施例中，使用鹼金屬來進行β-消除處理。

【0284】 在一些實施例中，融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除藉由利用肼解化學處理融合蛋白來達成。在一個實施例中，使融合蛋白經受肼解自本文所揭示之融合蛋白釋放糖基化，且所釋放之糖鏈用2-胺基吡啶進行螢光標記。參見Hase等人 *J. Biochem.*, 95, 197 (1984)。在一些實施例中，使用Oxford GlycoSystems供應之儀器(GlycoPrep 1000)來進行肼解。

【0285】 在另一實施例中，融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除藉由使融合蛋白經受三氟甲磺酸(TFMS)來達成。

【0286】 在一些實施例中，融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除藉由用酶處理融合蛋白來達成。在一些實施例中，酶為糖苷酶。在一些實施例中，融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除使用肽-N-糖苷酶F (PNGase F)來達成。PNGase F之濃度可變化，且憑經驗決定。在一些實施例中，糖苷酶為PNGase F。PNGase F為市售酶(例如，New England

Biolabs, Ipswich MA, 目錄號P0704或目錄號P0710)。在一些實施例中，PNGase F為融合蛋白。舉例而言，PNGase F可為用幾丁質結合域(CBD)標記之PNGase F或PNGase F-SNAP融合蛋白。在一些實施例中，糖苷酶為凍乾的。在一些實施例中，糖苷酶為凍乾的PNGase F。在一些實施例中，糖苷酶實質上不含動物源性試劑。

【0287】 在一些實施例中，融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除藉由用內-β-N-乙醯基胺基葡萄糖苷酶H (Endo H)處理融合蛋白來達成。Endo-H為由褶皺鏈黴菌(*Streptomyces plicatus*)及幾種其他鏈黴菌物種分泌的甘油水解酶(Tarentino等人，1976)。其裂解寡醣之N-乙醯基葡糖胺核心之β-1,4-糖苷鍵，且留下一個N-乙醯基幾丁二糖與糖蛋白之天冬醯胺殘基連接(Trimble等人, 1978；Muramatsu 1971)。褶皺鏈黴菌之Endo H基因為939 bp (GenBank寄存號AAA26738.1)，其編碼28.9 kDa蛋白質。最近，來自褶皺鏈黴菌之Endo H在畢赤酵母(*Pichiapastoris*)中表現，且經由共醱酵及後醱酵處理，在活體外證實巴斯德畢赤酵母(*P. pastoris*)生產之Endo H之去糖基化活性(Wang等人，2015)。

【0288】 在一些實施例中，融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除藉由用O-糖苷酶(New England Biolabs, Ipswich MA)處理融合蛋白來達成。O-糖苷，亦稱為內-α-N-乙醯基半乳糖胺酶，催化自醣蛋白移除核心1及核心3 O-連接雙醣。在一些實施例中，其自醣蛋白釋放未經取代的Ser-及Thr-連接的。

【0289】 融合蛋白之一或多個糖基化位點之移除可在於細胞培養物(例如，生物反應器)中產生IL2/IL2Rα融合蛋白之後，在於細胞培養物中產生IL2/IL2Rα融合蛋白同時，在收穫融合蛋白之後，及/或在純化融合蛋

白同時達成。在一些實施例中，一或多個糖基化位點之移除可藉由在細胞培養期間添加一或多種移除藥劑來達成，同時表現融合蛋白。在其他實施例中，一或多個糖基化位點之移除可藉由選擇特定細胞類型作為宿主細胞(例如，大腸桿菌或鏈黴菌物種)來達成，該宿主細胞消除糖基化或具有降低的糖基化。在某些實施例中，一或多個糖基化位點之移除藉由共表現編碼融合蛋白之基因與編碼移除一或多個糖基化之酶的基因來達成。

【0290】 下表4敍述各種IL-2胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之融合蛋白包含如表4中敍述之SEQ ID NO: 101至SEQ ID NO: 115中之任一者。

表4：

SEQ ID NO:	構築體	序列
101	IL2(21-153)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLT
102	IL2(21-153)(C145S)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT
103	IL2(21-153)(C145A)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFAQSIISTLT
104	IL2(21-153)(C145V)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFVQSIISTLT
105	IL2(21-153)(T23A)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT
106	IL2(21-153)(T23A+C145S)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT
107	IL2(21-153)(T23A+C145A)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN

		RWITFAQSIISTLT
108	原生 SigPep-IL2(1-153)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQC LEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGS ETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
109	M-IL2(C145S)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTR MLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT
110	M-IL2(C145A)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTR MLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFAQSIISTLT
111	Del-A21-IL2	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFCQSIISTLT
112	Del-A21-IL2(C145S)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT
113	Del-A21-IL2(C145A)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFAQSIISTLT
114	IL2(V111K)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINKIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLT
115	IL2(D40T)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLTLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFH LRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR WITFCQSIISTLT

【0291】 下表5敍述各種連接子胺基酸序列。在一些實施例中，本文所揭示之融合蛋白包括選自如表5中敍述之SEQ ID NO: 116至SEQ ID NO: 127中之任一者的多個串接序列。

表5：

SEQ ID NO:	**構築體**	**序列**
116	L1-(G3S)3	GGGSGGGSGGGS
117	L2-G2S2	GGSSGGAGGGGS
118	L3-(G3S)5	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGS
119	L4-(G2S)3	GGSGGSGGS
120	L5-(G2S)5	GGSGGSGGSGGSGGS
121	L6-GGEEE	GGEEEGGEEEGS
122	L7-12聚體_剛性	ESPEPETPEDES
123	L8-22聚體_螺旋	GRGGEEKKKEKEKEEQEERETK

124	L9-G	G
125	L10-GG	GG
126	L11-S	S
127	L12-GS	GS

【0292】 下表6敍述各種CD25胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之融合蛋白包含如表6中敍述之SEQ ID NO: 128至SEQ ID NO: 169中之任一者。

表6：

SEQ ID NO:	**構築體**	**序列**
128	CD25(22-240)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
129	CD25(22-212)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETS
130	CD25(22-187)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
131	CD25(22-240)(C213S)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
132	CD25(22-192)-GGC	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQGGC
133	CD25(22-213)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETSC
134	CD25(22-187)(N70C)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGCSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
135	CD25(22-187)(N89C)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRCTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC

		VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
136	CD25(22-187)-C	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEC
137	CD25(22-187)-G	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEG
138	CD25(22-212)-PP	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETSPP
139	CD25(22-212)(T106A)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKATEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETS
140	CD25(22-212)(T95A)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETS
141	CD25(22-212)(T95A+T106A)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKATEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETS
142	CD25(22-212)-PG	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESETSPG
143	CD25(22-187)(N70Q+N89Q)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGQSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
144	CD25(22-187)(N89Q)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
145	CD25(22-187)(N70Q)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGQSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
146	CD25(22-211)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESET

147	CD25(22-210)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPESE
148	CD25(22-209)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPES
149	CD25(22-208)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRPE
150	CD25(22-207)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGRP
151	CD25(22-206)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEGR
152	CD25(22-205)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPEG
153	CD25(22-204)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASPE
154	CD25(22-203)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQASP
155	CD25(22-202)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQAS
156	CD25(22-201)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQA
157	CD25(22-	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM

	200)	LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKPQ
158	CD25(22-199)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEKP
159	CD25(22-198)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EEK
160	CD25(22-197)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG EE
161	CD25(22-196)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG E
162	CD25(22-195)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG
163	CD25(22-194)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFP
164	CD25(22-193)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQF
165	CD25(22-192)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQ
166	CD25(22-191)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETS
167	CD25(22-190)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMET
168	CD25(22-189)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC

		VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEME
169	CD25(22-188)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEM

【0293】 下表7敍述各種連接子胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之融合蛋白包含如表7中敍述之SEQ ID NO: 170至SEQ ID NO: 186中之任一者。在一些實施例中，不存在連接序列(亦即，如表7中敍述之「TL0」)。

表7：

SEQ ID NO:	**構築體**	**序列**
	TL0	-
170	TL1	G
171	TL2	GG
172	TL3	GS
173	TL4	GGS
174	TL5	GGGS
175	TL6	GGSGG
176	TL7	GGGSGG
177	TL8	GGSGGSG
178	TL9	GGSGGGSG
179	TL10	GGGSGGGSG
180	TL11	GGGGSGGGGS
181	TL12	GGGGSGGGGSG
182	TL13	EPKSS
183	TL14	PKSS
184	TL15	KSS
185	TL16	SS
186	TL17	S

【0294】 下表8敍述各種增強子胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之融合蛋白包含如表8中敍述之SEQ ID NO: 187至SEQ ID NO: 201中之任一者。

表8：

SEQ ID NO:	**構築體**	**序列**
187	IgG1-Fc	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

		PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
188	IgG1.1-Fc	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
189	IgG1.3-Fc	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
190	IgG1-Fc(P238K)	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
191	IgG4-Fc	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSLGK
192	IgG4.1-F c	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSLGK
193	IgG1.3-Fc-杵	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
194	IgG1.3-Fc-臼	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
195	IgG1-Fc(P238K)-杵	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
196	IgG1-	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD

	Fc(P238K)-臼	VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
197	IgG1.1- Fc(AZ1)	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYV YPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
198	IgG1.1- Fc(AZ2)	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYV LPPSREEMTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLT WPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
199	HSA	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA DLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ NCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV GSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTK CCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADD KETCFAEEGKKLVAASQAALGL
200	HSA(C34S)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA DLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ NCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV GSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTK CCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADD KETCFAEEGKKLVAASQAALGL
201	HSA(C35A)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA

		DLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ NCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV GSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTK CCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADD KETCFAEEGKKLVAASQAALGL

【0295】 在一些實施例中，本文所揭示之融合蛋白包含選自表4之IL-2序列(亦即，SEQ ID NO: 101至SEQ ID NO: 115中之一者)及來自表6之CD25序列(亦即，SEQ ID NO: 128至SEQ ID NO: 169中之一者)。在一些實施例中，融合蛋白亦包含選自表5之一個序列或多個串接序列(亦即，SEQ ID NO: 116至SEQ ID NO: 127中之一或多者)。

【0296】 在一些實施例中，本文所揭示之融合蛋白包含選自上表4之IL-2序列(亦即，SEQ ID NO: 101至SEQ ID NO: 115中之一者)及來自表6之CD25序列(亦即，SEQ ID NO: 128至SEQ ID NO: 169中之一者)、選自表5之一個序列或多個串接序列(亦即，SEQ ID NO: 116至SEQ ID NO:127中之一或多者)及包含來自表7之一個序列或多個串接序列(亦即，SEQ ID NO: 170至SEQ ID NO: 186中之一或多者)之視情況存在之連接子。

【0297】 在一些實施例中，本文所揭示之融合蛋白包含選自上表4之IL-2序列(亦即，SEQ ID NO: 101至SEQ ID NO: 115中之一者)及來自表6之CD25序列(亦即，SEQ ID NO: 128至SEQ ID NO: 169中之一者)、選自表5之一個或多個串接序列，及包含來自表8之一個序列或多個串接序列(亦即，SEQ ID NO: 187至SEQ ID NO: 201中之一者)之視情況存在之連接子。

【0298】 在一些實施例中，本文所揭示之融合蛋白按次序包含來自表8之增強子序列(亦即，SEQ ID NO: 187至SEQ ID NO: 201中之一者)、

選自表7之一個序列或多個串接序列(亦即，SEQ ID NO: 170至SEQ ID NO: 186中之一或多者)、選自表4之IL-2序列(亦即，SEQ ID NO: 101至SEQ ID NO: 115中之一者)，及來自表6之CD25序列(亦即，SEQ ID NO: 128至SEQ ID NO: 169中之一者)。在一些實施例中，融合蛋白包含選自表7之一個序列或多個串接序列(亦即，SEQ ID NO: 170至SEQ ID NO: 186中之一或多者)。在一些實施例中，融合蛋白包含選自表5之一個序列或多個串接序列(亦即，SEQ ID NO: 116至SEQ ID NO: 127中之一或多者)。

5.4 聚核苷酸

【0299】 在某些態樣中，本文提供聚核苷酸，例如DNA或RNA，其包含編碼本文所描述之具有IL2活性之融合蛋白的核苷酸序列；以及載體，其包含此類聚核苷酸序列，例如用於在宿主細胞(例如哺乳動物細胞)中有效表現之表現載體。在一些實施例中，本文提供聚核苷酸序列，其編碼SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 70之多肽序列。

【0300】 如本文中所用，「經分離」之聚核苷酸或核酸分子為與存在於核酸分子之天然來源中(例如在小鼠或人類中)之其他核酸分子分離的聚核苷酸或核酸分子。此外，「經分離」之核酸分子(諸如cDNA分子)可實質上不含其他細胞材料或培養基(當藉由重組技術製備時)，或實質上不含化學前體或其他化學物質(當化學合成時)。舉例而言，措辭「實質上不含」包括具有小於約15%、10%、5%、2%、1%、0.5%或0.1% (特定言之小於約10%)之其他材料(例如細胞材料、培養基、其他核酸分子、化學前體及/或其他化學物質)之聚核苷酸或核酸分子製劑。在一具體實施例中，分離或純化編碼本文所描述之融合蛋白之核酸分子。

【0301】 可藉由此項技術中已知之任何方法獲得聚核苷酸及測定聚核苷酸之核苷酸序列。編碼本文所描述之融合蛋白(例如表3中描述之融合蛋白)及此等融合蛋白之經修飾形式的核苷酸序列，可使用此項技術中熟知之方法來測定，亦即已知編碼特定胺基酸之核苷酸密碼子以產生編碼融合蛋白之核酸之此種方法來組裝。編碼融合蛋白之此種聚核苷酸可由以化學方式合成之寡核苷酸組裝(例如，如Kutmeier G等人, (1994), BioTechniques 17: 242-6中所描述)，簡言之，其涉及合成含有編碼該融合蛋白之序列之部分的重疊寡核苷酸，退火及接合彼等寡核苷酸，且接著藉由PCR使接合之寡核苷酸擴增。

【0302】 替代地，編碼本文所描述之融合蛋白之聚核苷酸可由來自合適來源(例如，融合瘤)之核酸使用此項技術中熟知之方法(例如，PCR及其他分子選殖方法)產生。舉例而言，使用可與已知序列之3'及5'端雜交之合成引子的PCR擴增，可使用自產生所關注融合蛋白之融合瘤細胞獲得的基因組DNA來進行。此類PCR擴增方法可用於獲得包含編碼例如IL2、連接子序列或IL2-Rα之序列之核酸。可將所擴增核酸選殖至用於在宿主細胞中表現及用於進一步選殖之載體中，例如以產生融合蛋白。

【0303】 若含有編碼特定融合蛋白之核酸的純系不可獲得，但已知融合蛋白分子之序列，則編碼融合蛋白之核酸可經化學合成，或藉由使用可與序列之3'及5'端雜交之合成引子的PCR擴增，或藉由使用對特定基因序列具有特異性之寡核苷酸探針選殖來鑑別例如來自編碼該融合蛋白之cDNA文庫的cDNA純系，而自合適來源(例如抗體cDNA文庫，或由表現該所關注蛋白質之任何組織或細胞(諸如經選擇以表現本文中所描述之融合蛋白的融合瘤細胞)產生之cDNA文庫，或自該等組織或細胞分離之核酸

(較佳為聚A+ RNA))獲得。接著，可使用此項技術中熟知之任何方法將藉由PCR產生之所擴增之核酸選殖至可複製之選殖載體中。

【0304】 編碼本文所描述之融合蛋白的DNA可使用習知程序(例如，藉由使用能夠與編碼本文所揭示之融合蛋白之基因特異性結合的寡核苷酸探針)而容易地分離及定序。融合瘤細胞可用作此類DNA之來源。一旦分離，可將DNA置放於表現載體中，接著將該等表現載體轉染至宿主細胞中，該等宿主細胞諸如大腸桿菌細胞、猿猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞(例如，來自CHO GS System™ (Lonza)之CHO細胞)或不另外產生免疫球蛋白之骨髓瘤細胞，得到在重組宿主細胞中合成融合蛋白。

【0305】 應進一步認識到，編碼IL2/IL2Rα融合蛋白之聚核苷酸可包含輔助融合蛋白之轉譯之額外元件。此類序列包括例如與編碼融合蛋白之聚核苷酸之5'端連接之Kozak序列。Kozak共同序列為發生在起起始轉譯過程作用之真核mRNA上且具有共同(gee)gccRccAUGG (SEQ ID NO: 92)之序列；其中(1)小寫字母表示在鹼基可仍然變化之位置處最常見的鹼基；(2)大寫字母指示高度保守的鹼基，亦即「AUGG」序列為恆定的或很少(若有過)變化，其中例外為IUPAC不明確地編碼「R」，該R指示通常在此位置處觀測到之嘌呤(腺嘌呤或鳥嘌呤)；及(3)括號中之序列((gee))具有不明意義。

【0306】 在一個非限制性實施例中，IL2/IL2Rα融合蛋白包含如SEQIDNO:92(gccaccATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGT)中所闡述之IL2前導序列最佳化的Kozak序列或其功能變體或片段。當相較於自缺乏前導序列之序列轉譯的水準時，Kozak序列之功能變體或片段將保留增加蛋白質之轉譯的能

力。此種功能片段可包含Kozak序列或SEQ ID NO: 92或SEQ ID NO: 99(gccaccATGG)中所闡述之序列之至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40個連續核苷酸。替代地，功能變體可包含與Kozak序列或SEQ ID NO: 92或SEQ ID NO: 99中所闡述之序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性。

5.5 細胞及載體

【0307】 在某些態樣中，本文提供表現(例如，以重組方式)本文所描述之融合蛋白的細胞(例如，宿主細胞)及包含編碼本文所描述之融合蛋白之核苷酸的表現載體。本文提供用於在宿主細胞中重組表現之載體(例如，表現載體)，該等載體包含聚核苷酸，該等聚核苷酸包含編碼融合蛋白的核苷酸序列。

【0308】 在一些實施例中，宿主細胞包含本文所描述之核酸。

【0309】 在一些實施例中，宿主細胞為真核細胞。在一些實施例中，宿主細胞係選自由以下組成之群：哺乳動物細胞、昆蟲細胞、酵母細胞、轉殖基因哺乳動物細胞及植物細胞。在一些實施例中，宿主細胞為原核細胞。在一些實施例中，原核細胞為細菌細胞。

【0310】 在一些實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞。此類哺乳動物宿主細胞包括(但不限於)：CHO、VERO、BHK、HeLa、MDCK、HEK 293、NIH 3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT2O及T47D、NS0 (不內源性產生任何免疫球蛋白鏈之鼠類骨髓瘤細胞株)、CRL7O3O、COS (例如，COS1或COS)、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、

YB/20、BMT10及HsS78Bst細胞。

【0311】 如本文所用，表現載體係指任何核酸構築體，其含有用於當引入至適當宿主細胞中時所插入編碼序列之轉錄及轉譯之必需元件，或在RNA病毒載體之情況下，用於複製及轉譯之必需元件。表現載體可包括質體、噬菌粒、病毒及其衍生物。

【0312】 如本文所用，基因表現控制序列為任何調節性核苷酸序列，諸如啟動子序列或啟動子-增強子組合，其有助於與其可操作地連接之編碼核酸之有效轉錄及轉譯。基因表現控制序列可例如為哺乳動物或病毒啟動子，諸如組成性或誘導性啟動子。組成性哺乳動物啟動子包括(但不限於)以下基因之啟動子：次黃嘌呤磷酸核糖轉移酶(HPRT)、腺苷脫胺酶、丙酮酸激酶、β-肌動蛋白啟動子及其他組成性啟動子。在真核細胞中組成性其作用之例示性病毒啟動子包括例如來自以下之啟動子及單純疱疹病毒之胸苷激酶啟動子：巨細胞病毒(CMV)、猿猴病毒(例如，SV40)、乳頭瘤病毒、腺病毒、人類免疫缺乏病毒(HIV)、勞斯肉瘤病毒、巨細胞病毒、莫洛尼(Moloney)白血病病毒之長末端重複序列(LTR)及其他反轉錄病毒。其他組成性啟動子為一般熟習此項技術者已知的。適用作本發明之基因表現序列之啟動子亦包括誘導性啟動子。誘導性啟動子在存在誘導劑之情況下表現。舉例而言，在某些金屬離子存在之情況下，誘導金屬硫蛋白啟動子促進轉錄及轉譯。其他誘導性啟動子為一般熟習此項技術者已知的。

【0313】 出於本發明之目的，可採用多個表現載體系統。此等表現載體通常可在宿主生物體中作為游離基因體形式或作為宿主染色體DNA之整體部分複製。表現載體可包括表現控制序列，該等表現控制序列包括

(但不限於)：啟動子(例如，天然結合之啟動子或異源啟動子)、增強子、信號序列、剪接信號、增強子元件及轉錄終止序列。較佳地，表現控制序列係載體中能夠轉化或轉染真核宿主細胞之真核啟動子系統。表現載體亦可使用來源於諸如以下之動物病毒的DNA元件：牛乳頭瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、牛痘病毒、桿狀病毒、反轉錄病毒(RSV、MMTV或MOMLV)、巨細胞病毒(CMV)或SV40病毒。其他涉及具有內部核糖體結合位點之多順反子系統的使用。

【0314】 通常，表現載體含有選擇標記(例如，胺苄青黴素抗性、潮黴素抗性、四環素抗性或新黴素抗性)，以允許偵測用所需DNA序列轉化之彼等細胞(參見例如Itakura等人，美國專利第4,704,362號)。可藉由引入允許選擇經轉染之宿主細胞之一或多個標記來選擇DNA已整合至其染色體中之細胞。標記可向營養缺陷型宿主提供原營養，提供殺生物劑抗性(例如，抗生素)或對重金屬(諸如銅)之抗性。可選標記基因可直接與待表現之DNA序列連接，或藉由共轉化來引入同一細胞中。

【0315】 適用於本發明之方法中使用之融合蛋白之最佳化表現的載體的實例為NEOSPLA (美國專利第6,159,730號)。此載體含有巨細胞病毒啟動子/增強子、小鼠β血球蛋白主要啟動子、SV40複製起點、牛生長激素聚腺苷酸化序列、新黴素磷酸轉移酶外顯子1及外顯子2、二氫葉酸還原酶基因及前導序列。載體系統亦在美國專利第5,736,137號及第5,658,570號中教示。此系統提供高表現量，例如> 30 pg/細胞/天。其他例示性載體系統揭示於例如美國專利第6,413,777號中。

【0316】 在其他實施例中，使用多順反子構築體，表現本發明之多肽。在此等表現系統中，所關注之多種基因產物(諸如多聚體結合蛋白之

多種多肽)可由單一多順反子構築體產生。此等系統宜使用內部核糖體進入位點(IRES)來在真核宿主細胞中提供相對較高水準之多肽。相容性IRES序列揭示於美國專利第6,193,980號中。

【0317】 更一般而言，一旦已製備出編碼多肽之載體或DNA序列，則可將表現載體引入至適當宿主細胞中。即，宿主細胞可經轉化。將質體引入至宿主細胞中，可藉由如上文所論述，熟習此項技術者熟知之各種技術來實現。經轉化的細胞在適合於生產融合蛋白之條件下生長，且針對融合蛋白合成進行分析。例示性分析技術包括酶聯免疫吸附分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)或螢光活化細胞分選分析(FACS)、免疫組織化學及其類似技術。

5.6 醫藥組合物

【0318】 可將本文所揭示之各種IL2/IL2Rα融合蛋白(在本文中亦被稱作「活性化合物」)併入適合於投與之醫藥組合物中。此類組合物通常包含融合蛋白及醫藥學上可接受之載劑。如本文所用，措辭「醫藥學上可接受之載劑」意欲包括與醫藥學上投與相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。此類介質及藥劑用於醫藥活性物質之用途為此項技術中所熟知。除非任何習知介質或藥劑與活性化合物不相容，否則考慮將其用於組合物中。亦可在組合物中併入補充活性化合物。

【0319】 在一些實施例中，揭示一種醫藥組合物，其包含(a)如本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，及(b)醫藥學上可接受之賦形劑。

【0320】 在一些實施例中，揭示一種醫藥組合物，其包含(a)組合物，其包含如本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，及(b)醫藥學上可接受之

賦形劑。

【0321】 在一些實施例中，揭示一種醫藥組合物，其包含(a)如本文所描述之核酸，及(b)醫藥學上可接受之賦形劑。

【0322】 在一些實施例中，揭示一種醫藥組合物，其包含(a)如本文所描述之載體，及(b)醫藥學上可接受之賦形劑。

【0323】 在一些實施例中，揭示一種醫藥組合物，其包含(a)如本文所描述之宿主細胞，及(b)醫藥學上可接受之賦形劑。

【0324】 將本發明之醫藥組合物調配成與其預期投予途徑相容。投與途徑之實例包括非經腸投與途徑，例如靜脈內、皮內、皮下、經口(例如，吸入)、經皮(局部)及經黏膜。另外，可能需要向需要治療之區域局部投與治療有效量之醫藥組合物。此可藉由例如以下來達成：手術中局部或區域性輸注或灌注、局部施用、注射、導管、栓劑、或植入(例如，由多孔、無孔或膠狀材料(包括膜，諸如矽橡膠膜或纖維)形成之植入物)及其類似方法。在另一實施例中，在小泡(諸如脂質體)中遞送治療有效量之醫藥組合物(參見例如Langer, Science 249:1527-33, 1990及Treat 等人,於 Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein及Fidler (編), Liss, N.Y., 第353-65頁, 1989)。

【0325】 在又一實施例中，可以控制釋放系統遞送治療有效量之醫藥組合物。在一個實例中，可使用泵(參見例如Langer, Science 249:1527-33, 1990；Sefton, Crit. Rev. Biomed. Eng. 14:201-40, 1987；Buchwald 等人, Surgery 88:507-16, 1980；Saudek等人, N Engl. J Med. 321:574-79, 1989)。在另一實例中，可使用聚合材料(參見例如Levy等人, Science 228:190-92, 1985；During等人, Ann. Neural. 25:351-56, 1989；Howard

等人, J Neurosurg. 71:105-12, 1989)。亦可使用其他控制釋放系統，諸如Langer (Science 249:1527-33, 1990)論述之彼等。

【0326】 可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所用劑量及濃度下對接受者為無毒性的，且包括：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨、苄索氯銨；酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如，Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

【0327】 用於非經腸製劑之醫藥學上可接受之載劑包括水性媒劑、非水性媒劑、抗微生物劑、等張劑、緩衝劑、抗氧化劑、局部麻醉劑、懸浮劑及分散劑、乳化劑、鉗合劑或螯合劑及其他醫藥學上可接受之物質。水性媒劑之實例包括氯化鈉注射液、林格氏注射液(Ringers Injection)、等張右旋糖注射液、無菌水注射液、右旋糖及乳酸林格氏注射液。非水性非經腸媒劑包括植物來源之不揮發性油、棉籽油、玉米油、芝麻油及花生油。可以將抑細菌或抑真菌濃度之抗微生物劑添加至封裝於多劑量容器中之非經腸製劑中，包括苯酚或甲酚、汞劑、苯甲醇、氯丁醇、對羥基苯甲

酸甲酯及對羥基苯甲酸丙酯、硫柳汞(thimerosal)、苯紮氯銨及苄索氯銨。等張劑包括氯化鈉及右旋糖。緩衝劑包括磷酸鹽及檸檬酸鹽。抗氧化劑包括硫酸氫鈉。局部麻醉劑包括普魯卡因鹽酸鹽。懸浮劑及分散劑包括羧甲基纖維素鈉、羥丙基甲基纖維素及聚乙烯吡咯啶酮。乳化劑包括聚山梨醇酯80 (TWEEN® 80)。金屬離子之鉗合劑或螯合劑包括EDTA。醫藥載劑亦包括乙醇、聚乙二醇及丙二醇作為水混溶媒劑，及用於調節pH之氫氧化鈉、鹽酸、檸檬酸或乳酸。

【0328】 用於非經腸、皮內或皮下施用之溶液或懸浮液可包括以下組分：無菌稀釋劑，諸如注射用水、鹽水溶液、不揮發性油、聚乙二醇、丙三醇、丙二醇或其他合成溶劑；抗細菌劑，諸如苯甲醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，諸如乙二胺四乙酸；緩衝劑，諸如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽；及用於調節張力之藥劑，諸如，氯化鈉或右旋糖。可用酸或鹼(諸如，鹽酸或氫氧化鈉)來調節pH。非經腸製劑可封裝於由玻璃或塑膠製成之安瓿、拋棄式注射器或多劑量小瓶中。

【0329】 適合於可注射使用之醫藥組合物包括無菌水溶液(當水溶性時)或分散液及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末。對於靜脈內投與，適合載劑包括生理鹽水、抑細菌水、Cremophor ELS (BASF; Parsippany, NJ)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。在所有情況下，該組合物必須為無菌的且流動性應達到存在易注射性之程度。其必須在製造及儲存條件下穩定，且必須在抗諸如細菌及真菌之微生物的污染作用下保藏。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇及液態聚乙二醇及其類似物)及其合適混合物之溶劑或分散介質。適當流動性可例如藉

由使用諸如卵磷脂之包衣、藉由維持所需粒度(在分散液之情況下)及藉由使用界面活性劑來維持。微生物作用之預防可藉由各種抗細菌劑及抗真菌劑達成，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞及其類似物。在許多情況下，組合物中將較佳包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露醇、山梨醇)、氯化鈉。可注射組合物之延長吸收可藉由在組合物中包括延遲吸收劑(例如，單硬脂酸鋁及明膠)來達成。

【0330】 可藉由如下方法來製備無菌可注射溶液：將所需量之活性化合物與上文所列舉之成分中之一者或組合一起併入適當溶劑中，視需要隨後進行過濾滅菌。一般而言，藉由將活性化合物併入至含有鹼性分散介質及來自上文所列舉成分之所需其他成分的無菌媒劑中來製備分散液。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉劑之情況下，較佳製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥，其產生活性成分加來自其先前無菌過濾溶液之任何額外所需成分的粉劑。

【0331】 對於藉由吸入之投與，化合物以氣霧劑噴霧形式自加壓容器或含有合適推進劑(例如氣體，諸如二氧化碳)或噴霧器之分配器遞送。全身性投藥亦可藉由經黏膜或經皮方式。

【0332】 對於經黏膜或經皮投與，在調配物中使用適合於待滲透之屏障的滲透劑。此類滲透劑一般為此項技術中已知的，且對於經黏膜投與，包括例如清潔劑、膽汁鹽及梭鏈孢酸衍生物。經黏膜投與可經由使用經鼻噴霧或栓劑實現。對於經皮投與，如此項技術中一般已知，將活性化合物調配成軟膏、油膏、凝膠或乳膏。化合物亦可以用於經直腸遞送之栓劑(例如，具有習知栓劑基質，諸如可可豆油及其他甘油酯)或保留灌腸劑形式製備。

【0333】 在一個實施例中，用將保護化合物免於自身體快速消除之載劑來製備活性化合物，該等載劑諸如控制釋放調配物，其包括植入物及微膠囊化遞送系統。可使用可生物降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。用於製備此類調配物之方法將為一般熟習此項技術者顯而易見的。材料亦可商業上獲自Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc。亦可使用脂質體懸浮液作為醫藥學上可接受之載劑。此等物質可根據熟習此項技術者已知之方法製備，例如美國專利案第4,522,811號中所描述。

【0334】 為了易於投藥及劑量均一性，按單位劑型來調配經口或非經腸組合物為尤其有利的。如本文所用，單位劑型係指適合以單位劑量用於待治療之個體的物理離散單元；各單元含有預定量之活性化合物，經計算與所需醫藥載劑聯合產生所需治療效果。本發明之單位劑型之規格由以下因素規定且直接視以下因素而定：活性化合物之獨特特徵及欲達成之特定治療效果，及混配此類功能性化合物用於治療個體之此項技術中固有的限制。醫藥組合物可與投與說明書一起包括於容器、包裝或分配器中。

【0335】 適用於調節此類功能之IL2/IL2Rα融合蛋白之有效量將視以下而定：所治療之個體、病痛之嚴重程度及投與IL2/IL2Rα融合蛋白之方式。例示性劑量包括約104至約107 IU IL2活性/成人、約104至105 IU IL2活性/成人、約105至約106 IU IL2活性/成人、約106至約107 IU IL2活性/成人。在其他情況下，IL2/IL2Rα融合蛋白之治療有效劑量為約105 IU IL2活性± 100倍，為約105 IU IL2活性± 10倍、約105 IU IL2活性± 2倍、約105 IU IL2活性± 20倍、約105 IU IL2活性 ± 30倍、約105 IU IL2活性± 40倍、約105 IU IL2活性± 50倍、約105 IU IL2活性± 60倍、約

105 IU IL2活性± 70倍、約105 IU IL2活性± 80倍或約105 IU IL2活性± 90倍。在特定非限制性實施例中，以此劑量投與人類IL2融合蛋白。

5.7 使用及方法

5.7.1 製備本文所揭示之組合物之方法

【0336】如上文所論述，本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白可用於藉由修飾本文所描述之IL2、IL2Rα或任何異源部分序列來產生新IL2/IL2Rα融合蛋白。因此，在本文所描述之另一態樣中，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之結構特徵用於產生保留本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之至少一個功能性特性(諸如與人類IL2Rα及食蟹獼猴IL2Rα結合)的結構上相關IL2/IL2Rα融合蛋白。舉例而言，本文所描述之IL2、IL2Rα或任何異源部分序列中之一或多者可以重組方式與已知構架區及/或其他蛋白質組合，產生額外以重組方式工程改造的本文所描述之融合蛋白，如上文所論述。

【0337】在一些實施例中，本文揭示製造IL2/IL2Rα融合蛋白之方法，該等方法包含在合適的條件下培養包含融合蛋白之宿主細胞；及回收融合蛋白。在一些實施例中，宿主細胞為真核細胞或原核細胞。在一些實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞、昆蟲細胞、真菌細胞、植物細胞、轉殖基因哺乳動物細胞或細菌細胞。在一些實施例中，宿主細胞係選自由以下組成之群：CHO細胞、HEK 293細胞、NS0細胞、Per C6細胞、BHK細胞及COS細胞。在一個實施例中，宿主細胞為細菌細胞。在一特定實施例中，細菌細胞為大腸桿菌。

【0338】其他修飾類型包括先前部分中所描述之彼等修飾。用於工程改造方法之起始物質為本文提供之IL2或IL2Rα序列中之一或多者。為

了產生經工程改造的融合蛋白，不必實際上製備(亦即，表現為蛋白質)具有本文提供之IL2或IL2Rα序列中之一或多者的融合蛋白。相反地，序列中所含有之資訊用作起始物質以產生來源於初始序列之「第二代」序列，且接著製備「第二代」序列且將其表現為蛋白質。

【0339】 因此，本文提供用於製備融合蛋白之方法，該等方法包含：(a)提供IL2及IL2Rα；(b)改變IL2及IL2Rα中之至少一個胺基酸殘基，產生至少一個改變的融合蛋白序列；及(c)將改變的融合蛋白序列表現為蛋白質。

【0340】 本文亦提供用於製備融合蛋白之方法，該等方法包含：(a)提供IL2及IL2Rα；(b)改變IL2及IL2Rα中之至少一個糖基化，產生至少一個改變的糖基化位點；及(c)將改變的融合蛋白序列表現為蛋白質。

【0341】 改變的抗體可呈現上文闡述為(1)至(10)之功能特性中之一或多個、兩個或更多個、三個或更多個、四個或更多個、五個或更多個、六個或更多個、七個或更多個、八個或更多個、九個或更多個或全部。改變的抗體之功能特性可使用此項技術中可用之標準分析來評定。

【0342】 在工程改造本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之方法之一些實施例中，可沿IL2/IL2Rα融合蛋白編碼序列之全部或部分隨機或選擇性地引入突變，且可針對如本文所描述之結合活性及/或其他功能特性來篩選所得經修飾的IL2/IL2Rα融合蛋白。突變方法已描述於此項技術中舉例而言，Short之PCT公開案WO 02/092780描述使用飽和突變誘發、合成接合組裝或其組合來產生及篩選突變之方法。替代地，Lazar等人之PCT公開案WO 03/074679描述使用計算篩選方法使蛋白質之生理化學特性最佳化的方法。

【0343】 組合物進一步包含編碼上文所描述之各種融合蛋白及其變體及片段之經分離之聚核苷酸。進一步揭示載體及包含本文所描述之聚核苷酸之表現盒。表現盒將通常包括可操作地與聚核苷酸連接之啟動子及轉錄與轉譯終止區。

【0344】 使用術語「聚核苷酸」不意欲限制本發明為包含DNA之聚核苷酸。一般熟習此項技術者應認識到，聚核苷酸可包含核糖核苷酸及核糖核苷酸與去氧核糖核苷酸之組合。此類去氧核糖核苷酸及核糖核苷酸包括天然存在之分子及合成類似物兩者。

【0345】 在包括多於一個加工或裂解位點之構築體中，應理解，此類位點可為相同或不同的。

【0346】 「經分離」或「經純化」之聚核苷酸或蛋白質或其生物活性部分，實質上或基本上不含通常伴隨或與如在其天然存在之環境中發現之聚核苷酸或蛋白質相互作用的組分。因此，經分離或經純化之聚核苷酸或蛋白質實質上不含其他細胞材料或培養基(當由重組技術產生時)，或實質上不含化學前體或其他化學物質(當化學合成時)。最佳地，「經分離」之聚核苷酸不含在獲得聚核苷酸之生物體之基因組DNA中天然地側接聚核苷酸(亦即，位於聚核苷酸之5'及3'端處之序列)的序列(最佳地，蛋白質編碼序列)。舉例而言，在各種實施例中，經分離之聚核苷酸可含有小於約5 kb、4 kb、3 kb、2 kb、1 kb、0.5 kb或0.1 kb之核苷酸序列，該核苷酸序列在獲得聚核苷酸之細胞之基因組DNA中天然地側接聚核苷酸。

【0347】 實質上不含細胞材料之蛋白質包括具有小於約30%、20%、10%、5%或1% (乾重)之雜質蛋白質之蛋白質製劑。當本發明之蛋白質或其生物活性部分以重組方式生產時，最佳地，培養基表示小於約

30%、20%、10%、5%或1% (乾重)化學前體或非蛋白質相關化學物質。

【0348】本文中可採用在此項技術內習知的分子生物學、微生物學及重組DNA技術。此類技術在文獻中已充分解釋。參見例如Sambrook等人，「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」(1989)；「Current Protocols in Molecular Biology」第I-III卷 [Ausubel, R. M.編 (1994)]；「Cell Biology: A Laboratory Handbook」第I-III卷 [J. E. Celis編 (1994))]；「Current Protocols in Immunology」第I-III卷 [Coligan, J. E. 編(1994)]；「Oligonucleotide Synthesis」(M.J. Gaited. 1984)；「Nucleic Acid Hybridization」[B.D. Hames及S.J. Higgins編 (1985)]；「Transcription And Translation」[B.D. Hames及S.J. Higgins編 (1984)]；「Animal Cell Culture」[R.I. Freshney編 (1986)]；「Immobilized Cells And Enzymes」[IRL Press, (1986)]；B. Perbal,「A Practical Guide To Molecular Cloning」(1984)。

【0349】本文亦提供一種載體，其包含可操作地與啟動子連接之上文所描述之聚核苷酸。當表現控制序列控制及調節核苷酸序列之轉錄及轉譯時，該核苷酸序列「可操作地」與表現控制序列(例如，啟動子)「連接」。當提及核苷酸序列時，術語「可操作地連接」包括在待表現之核苷酸序列之前面具有適當起始信號(例如，ATG)，及維持正確閱讀框以允許在表現控制序列控制下表現序列且產生由序列編碼之所需產物。若需要插入至重組核酸分子中之基因不含有適當起始信號，則可將此種起始信號插入於基因之前面。「載體」為複製子，諸如質體、噬菌體或黏質體，其可與另一核酸區段連接以便使得複製所連接之區段。啟動子可為細菌、酵母菌、昆蟲或哺乳動物啟動子，或與其一致。此外，載體可為質體、黏質

體、酵母人工染色體(YAC)、噬菌體或真核病毒DNA。可採用此項技術中已知為適用於表現蛋白質之其他多種載體主鏈。此類載體包括(但不限於)：腺病毒、猿猴病毒40 (SV40)、巨細胞病毒(CMV)、小鼠乳腺腫瘤病毒(MMTV)、莫洛尼鼠類白血病病毒、DNA遞送系統(亦即脂質體)及表現質體遞送系統。此外，一類載體包含來源於病毒，諸如牛乳頭瘤病毒、多瘤病毒、桿狀病毒、反轉錄病毒或勝利基森林病毒(Semliki Forest virus)之DNA元件。此類載體可市售獲得或組裝自此項技術中熟知之方法所描述之序列。

【0350】 本文提供一種用於製造多肽之宿主載體系統，該宿主載體系統包含合適宿主細胞一載體。合適的宿主細胞包括(但不限於)原核或真核細胞，例如細菌細胞(包括革蘭氏陽性細胞)、酵母細胞、真菌細胞、昆蟲細胞及動物細胞。多種哺乳動物細胞可用作宿主，包括(但不限於)小鼠纖維母細胞NIH 3T3、CHO細胞、HeLa細胞、Ltk細胞等。亦可在組織培養物中使用額外動物細胞，諸如R1.1、B-W及L-M細胞、非洲綠猴腎細胞(例如，COS 1、COS 7、BSC1、BSC40及BMT10)、昆蟲細胞(例如，Sf9)及人類細胞及植物細胞。

【0351】 可在表現本文中呈現之聚核苷酸序列中採用廣泛多種宿主/表現載體組合。適用表現載體例如可由染色體、非染色體及合成DNA序列之區段組成。合適載體包括SV40之衍生物及已知細菌質體，例如大腸桿菌質體col El、pCR1、pBR322、pMB9及其衍生物，質體(諸如RP4)；噬菌體DNAS，例如噬菌體A之多種衍生物，例如NM989；及其他噬菌體DNA，例如M13及絲狀單股噬菌體DNA；酵母菌質體，諸如2!l質體或其衍生物；適用於真核細胞之載體，諸如適用於昆蟲或哺乳動物細胞之載

體；衍生自質體與噬菌體DNA之組合的載體，諸如已經修飾以採用噬菌體DNA或其他表現控制序列之質體；及類似者。

【0352】 可在此等載體中使用廣泛多種表現控制序列(對照可操作地與其連接之核苷酸序列之表現的序列)中之任一者，以表現本文提供之聚核苷酸序列。此類適用表現控制序列包括例如：SV40、CMV、牛痘、多瘤病毒或腺病毒之早期或晚期啟動子；噬菌體A之lac系統、trp系統、TAC系統、TRC系統、LTR系統、主要操縱子及啟動子區域；fd鞘蛋白之控制區；3-磷酸甘油酸激酶或其他糖分解酶之啟動子；酸性磷酸酶(例如，Pho5)之啟動子；酵母雜交因子之啟動子；及已知用於控制原核或真核細胞或其病毒之基因之表現的其他序列，以及其各種組合。

【0353】 應理解，並非全部載體、表現控制序列及宿主將同等地作用良好以表現本文提供之聚核苷酸序列。所有宿主亦將不會與相同表現系統同等地作用良好。然而，在不脫離本發明之範疇之情況下，熟習此項技術者將能夠選擇適當載體、表現控制序列及宿主而無需過度實驗來實現所需表現。舉例而言，在選擇載體中，必須考慮宿主，此係因為載體必須在宿主中起作用。亦將考慮載體之複本數、控制彼複本數之能力及由載體編碼之任何其他蛋白質(諸如抗生素標記)的表現。

【0354】 在選擇表現控制序列中，通常將考慮各種因素。此等包括例如系統之相對強度、其可控性及其與待表現之特定核苷酸序列或基因之相容性，特定言之關於可能二級結構。將考慮例如以下來選擇合適的單細胞宿主：其與所選擇載體之相容性、其分泌特徵、其正確摺疊蛋白質之能力及其醱酵需求，以及由待表現之核苷酸序列編碼之產物對宿主的毒性，及易於純化表現產物。

【0355】 在製備表現盒中，可操縱各種聚核苷酸，以便在適當取向中及在適當閱讀框(視需要)中提供聚核苷酸序列。為了此目的，可使用銜接子或連接子來接合聚核苷酸，或可涉及其他操縱以提供便利限制位點、移除多餘的DNA、移除限制位點或類似者。舉例而言，可在多肽之間添加連接子，諸如兩個甘胺酸。可添加由ATG核苷酸序列編碼之甲硫胺酸殘基，以允許起始基因轉錄。出於此目的，可涉及活體外突變誘發、引子修復、限制性酶切、退火、再取代(resubstitution)，例如轉換及顛換。

【0356】 進一步提供一種製造多肽之方法，該方法包含在宿主細胞中，在允許產生多肽之合適條件下，表現編碼本文所揭示之融合蛋白的聚核苷酸；及回收如此產生的多肽。

5.7.2 治療性用途及方法

【0357】 本文所描述之融合蛋白方法具有多種活體外及活體內效用，其涉及例如增強免疫反應(諸如藉由抑制(或拮抗) IL2Rα (例如，信號傳導))或偵測IL2。舉例而言，可向培養中、活體外或離體之細胞，或向人類個體(例如活體內)，投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，以增強各種疾病中之免疫性。因此，本文提供治療有需要之個體之疾病或病症之方法，其包含向該個體投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，使得調節個體中之免疫反應。在一些實施例中，反應經增強、刺激或上調。

【0358】 適合於本發明方法之個體包括將需要增強免疫反應之人類患者。該等方法尤其適合於治療患有可藉由加強免疫反應(例如T細胞介導之免疫反應，例如抗原特異性T細胞反應)治療之病症的人類患者。在一些實施例中，該等方法尤其適合於活體內治療癌症。為了達成抗原特異性增強免疫性，可與所關注抗原或可能已經存在於待治療之個體(例如，腫瘤

攜帶或病毒攜帶個體)中之抗原一起，投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白。當與另一藥劑一起投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白時，兩者可分開或同時投與。

【0359】 亦涵蓋用於偵測樣本中人類IL2或人類IL2Rα之存在、或量測人類IL2抗原之量的方法，該等方法包含使樣本及對照樣品與融合蛋白或單株抗體(例如人類單株抗體或其與人類IL2或IL2Rα特異性結合之抗原結合部分)在允許在本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白與人類IL2Rα之間形成複合物之條件下接觸。接著偵測複合物之形成，其中樣本與對照樣本之間複合物形成之差異指示樣本中存在人類IL2或IL2Rα。此外，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白可用於經由免疫親和力純化來純化人類IL2或IL2Rα。

【0360】 假定本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白能夠諸如藉由抑制IL2或IL2Rα之消極影響而刺激或共刺激T細胞反應(例如抗原特異性T細胞反應)，本文提供使用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白刺激、增強或上調抗原特異性T細胞反應(例如抗腫瘤T細胞反應)之活體外及活體內方法。在一些實施例中，亦提供CD3刺激(例如藉由與表現膜CD3之細胞共培育)，該刺激可在用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白刺激同時、之前或之後提供。舉例而言，本文提供刺激抗原特異性T細胞反應之方法，該等方法包含使該T細胞與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，及視情況與抗CD3抗體接觸，使得刺激抗原特異性T細胞反應。

【0361】 抗原特異性T細胞反應之任何適合之指示物可用於量測抗原特異性T細胞反應。此類合適指示物之非限制性實例包括在抗體存在下增加T細胞增殖及/或在抗體存在下增加細胞介素產生。在一些實施例中，

刺激抗原特異性T細胞產生介白素-2及/或干擾素-γ。

【0362】 可用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白增強或共刺激之T細胞包括$CD4^+$ T細胞及$CD8^+$ T細胞。T細胞可為Teff細胞，例如$CD4^+$ Teff細胞、$CD8^+$ Teff細胞；T輔助(Th)細胞(例如，Th1細胞)；或T細胞毒性(Tc)細胞。

【0363】 進一步涵蓋刺激個體中之免疫反應(例如，抗原特異性T細胞反應)之方法，該等方法包含向該個體投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，使得刺激個體中之免疫反應(例如，抗原特異性T細胞反應)。在一些實施例中，個體為腫瘤攜帶個體，且刺激針對腫瘤之免疫反應。腫瘤可為實體腫瘤或液體腫瘤，例如血液惡性病。在一些實施例中，腫瘤為免疫原性腫瘤。在一些實施例中，腫瘤為非免疫原性的。在一些實施例中，腫瘤為PD-L1陽性。在一些實施例中，腫瘤為PD-L1陰性。個體亦可為病毒攜帶個體，且刺激針對病毒之免疫反應。

【0364】 進一步提供用於抑制個體之腫瘤細胞之生長之方法，其包含向該個體投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，使得抑制個體中之腫瘤的生長。亦提供治療個體之病毒感染之方法，其包含向該個體投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，使得治療個體之病毒感染。

【0365】 在一些實施例中，向個體給予本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白作為輔助療法。用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白治療患有癌症之個體，可引起存活期延長，例如相對於目前標準護理長期持久反應；至少3個月、6個月、9個月、1、2、3、4、5、10年或更多年之長期存活期，或至少3個月、6個月、9個月、1、2、3、4、5或10年或更多年之無復發存活期。在一些實施例中，用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白治療

患有癌症之個體預防癌症復發，或延遲癌症復發例如3個月、6個月、9個月、1、2、3、4、5或10年或更多年。IL2/IL2Rα融合蛋白治療可用作第一、第二或第三線治療。

【0366】 用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白治療患有癌症之個體可引起例如穩定疾病、部分反應、總存活期增加、無疾病存活期增加、或無進展存活期增加。

【0367】 在一些實施例中，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白不具有顯著毒性。舉例而言，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白對於人類之器官，例如肝、腎臟、大腦、肺及心臟中之一或多者，不具有顯著毒性，如例如在臨床試驗中所測定。在一些實施例中，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白不顯著地觸發非所需免疫反應，例如自體免疫或發炎。

【0368】 在一些實施例中，用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白治療個體不會引起過度刺激免疫系統至一定程度以使得個體之免疫系統接著攻擊自身個體(例如，自體免疫性反應)，或引起例如全身性過敏反應。因此，在一些實施例中，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白不會引起全身性過敏反應。

【0369】 在一些實施例中，用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白治療個體不會引起顯著發炎性反應，例如免疫介導性局部肺炎、免疫介導性結腸炎、免疫介導性肝炎、免疫介導性腎炎或腎功能障礙、免疫介導性垂體炎、免疫介導性甲狀腺功能低下及甲狀腺高能症、或其他免疫介導性不良反應。在一些實施例中，用本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白治療個體不會引起顯著心臟病症，例如室性心律不齊；眼睛病症，例如虹膜睫狀體炎；輸注相關反應；澱粉酶增加、脂肪酶增加；神經系統病症，例如眩

量、周邊及感覺神經病；皮膚及皮下組織病症，例如皮疹、瘙癢、剝脫性皮膚炎、多形性紅斑、白癜風或牛皮癬；呼吸性胸部及縱隔病症，例如咳嗽；疲乏；噁心；食慾降低；便秘；關節痛；或腹瀉。

【0370】 在一些實施例中，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白與另一癌症療法(諸如，刺激免疫系統之化合物(例如，免疫腫瘤學藥劑)，例如本文所描述之化合物或調節本文所描述之靶標之化合物)組合，提供協同抗腫瘤效果。

【0371】 在一些實施例中，本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白係經由局部、表皮、經黏膜、鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下、局部、靜脈內、腹膜內、肌肉內、動脈內、鞘內、淋巴管內、病灶內、囊內、眶內、心內、皮內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊柱內、硬膜外或胸骨內途徑投與。

【0372】 提供用於增加個體之免疫反應之各種方法。此類方法包含向需要免疫反應增加之個體投與治療有效量之IL2/IL2Rα融合蛋白。因此，在具體實施例中，瞬時施用較高劑量之IL2用於增強免疫效應及記憶反應。

【0373】 提供用於降低個體之免疫反應之各種方法。此類方法包含向需要免疫反應降低之個體投與治療有效量之IL2/IL2Rα融合蛋白。利用抑制Treg之能力來抑制非所需免疫反應倍受關注。小鼠及人類中之資料顯示，用低劑量之IL2增強IL2R信號傳導選擇性地增強Treg且增強免疫耐受性機制。本文提供之IL2/IL2Rα融合蛋白表示一種更潛在地增強Treg之新穎及改良形式的IL2。因此，可向患有自體免疫疾病、慢性移植體對抗宿主疾病、移植排斥反應及目標為抑制自身反應性之其他病狀之患者投與

IL2/IL2Rα融合蛋白。

【0374】 下文進一步詳細論述本文中之此等及其他方法。

5.7.2.1 癌症

【0375】 在一些實施例中，本文揭示治療癌症之方法。藉由IL2/IL2Rα融合蛋白抑制IL2Rα可增強癌症患者中針對癌細胞之免疫反應。本文提供用於治療患有癌症之個體之方法，其包含向該個體投與本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白，使得治療個體，例如使得抑制或降低癌性腫瘤之生長，及/或使得腫瘤消退及/或使得達成存活期延長。IL2/IL2Rα融合蛋白可單獨使用以抑制癌性腫瘤之生長。替代地，IL2/IL2Rα融合蛋白可結合另一藥劑(例如，另一免疫原性藥劑、標準癌症治療或另一抗體，如下文所描述)使用。

【0376】 因此，本文提供例如藉由抑制腫瘤細胞之生長而治療個體之癌症的方法，其包含向該個體投與治療有效量之本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。可使用本發明之抗體抑制其生長之癌症包括通常對免疫療法有反應之癌症及通常不對免疫療法有反應之彼等癌症。癌症可為具有實體腫瘤或血液惡性疾病(液體腫瘤)之癌症。在一些實施例中，癌症為膀胱癌、乳癌、子宮癌、子宮內膜癌、卵巢癌、結腸直腸癌、結腸癌、頭頸癌、肺癌、胃癌、生殖細胞癌、骨癌、鱗狀細胞癌、皮膚癌、中樞神經系統贅瘤、淋巴瘤、白血病、肉瘤、病毒相關癌症、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胃腸癌、霍奇金氏或非霍奇金氏淋巴瘤、胰臟癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、骨髓瘤、唾液腺癌、腎癌、基底細胞癌、黑素瘤、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、睪丸癌、食道癌或頭癌或頸癌及其任何組合。

【0377】用於治療之癌症之其他非限制性實施例包括：鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、鱗狀非小細胞肺癌(NSCLC)、非鱗狀NSCLC、神經膠質瘤、胃腸癌、腎癌(例如，透明細胞癌瘤)、卵巢癌、肝癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、腎臟癌(例如，腎細胞癌(RCC))、前列腺癌(例如，激素難治性前列腺腺癌)、甲狀腺癌、神經母細胞瘤、胰臟癌、神經膠母細胞瘤(多形性膠質母細胞瘤)、子宮頸癌、胃癌(stomach cancer)、膀胱癌、肝腫瘤、乳癌、結腸癌及頭頸癌(或癌瘤)、胃癌(gastric cancer)、生殖細胞腫瘤、小兒肉瘤、鼻腔鼻竇自然殺手、黑素瘤(例如，轉移性惡性黑素瘤，諸如皮膚或眼內惡性黑素瘤)、骨癌、皮膚癌、子宮癌、肛門區癌、睪丸癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌、食道癌、小腸癌症、內分泌系統癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、兒童實體腫瘤、尿管癌症、腎盂癌瘤、中樞神經系統(CNS)贅瘤、原發性CNS淋巴瘤、腫瘤血管生成、脊椎軸腫瘤、腦癌、腦幹神經膠質瘤、垂體腺瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、表皮樣癌症、鱗狀細胞癌、T細胞淋巴瘤、環境誘導性癌症(包括由石棉誘導之彼等癌症)、病毒相關癌症或病毒起源癌症(例如，人乳頭瘤病毒(HPV相關腫瘤或HPV起源腫瘤))及起源於兩種主要血球譜系(亦即骨髓細胞株(其產生粒細胞、紅血球、凝血細胞、巨噬細胞及肥大細胞)或淋巴細胞性細胞株(其產生B、T、NK及漿細胞))中之任一者之血液科惡性疾病(諸如所有白血病、淋巴瘤及骨髓瘤類型，例如急性、慢性、淋巴球性及/或骨髓性白血病，諸如急性白血病(ALL)、急性骨髓白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)及慢性骨髓性白血病(CML)、未分化型AML(MO)、骨髓母細胞性白血病(M1)、骨髓母細胞性白血病(M2；伴隨細胞

成熟)、前髓細胞性白血病(M3或M3變體[M3V])、骨髓單核細胞性白血病(M4或伴隨嗜酸性球增多症之M4變型[M4E])、單核球性白血病(M5)、紅白血病(M6)、巨核母細胞白血病(M7)、分離型顆粒球性肉瘤及綠色瘤)；淋巴瘤，諸如霍奇金氏淋巴瘤(HL)、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、B細胞惡性血液病(例如B細胞淋巴瘤)、T細胞淋巴瘤、淋巴漿細胞樣淋巴瘤、單核細胞樣B細胞淋巴瘤、黏膜相關淋巴組織(MALT)淋巴瘤、多形性(例如，Ki 1+)大細胞淋巴瘤、成人T細胞淋巴瘤/白血病、套細胞淋巴瘤、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤、腸T細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤、T前體淋巴母細胞性淋巴瘤、T淋巴母細胞性淋巴瘤；及淋巴瘤/白血病(T-Lbly/T-ALL)、周邊T細胞淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤、移植後淋巴增生病症、真實組織細胞淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、B細胞淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤(LBL)、淋巴細胞性譜系造血腫瘤、急性淋巴母細胞白血病、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、濾泡性淋巴瘤、瀰散性組織細胞淋巴瘤(DHL)、免疫母細胞大細胞淋巴瘤、B前體淋巴母細胞性淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤(CTLC) (亦稱為蕈樣黴菌病或塞紮萊症候群(Sezary syndrome))及伴隨瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)之淋巴漿細胞樣淋巴瘤(LPL)；骨髓瘤，諸如IgG骨髓瘤、輕鏈骨髓瘤、非分泌型骨髓瘤、和緩性骨髓瘤(亦稱為頑固性骨髓瘤)、孤立性漿細胞瘤及多發性骨髓瘤、慢性淋巴球性白血病(CLL)、毛狀細胞淋巴瘤；骨髓譜系之造血腫瘤、間質起源腫瘤(包括纖維肉瘤及橫紋肌肉瘤；精細胞癌、畸胎上皮癌、中樞及周邊神經之腫瘤(包括星形細胞瘤、神經鞘瘤)；間質起源之腫瘤，包括纖維肉瘤、橫紋肌

肉瘤及骨肉瘤；及其他腫瘤，包括黑素瘤、著色性乾皮病、角化棘皮瘤、精細胞癌、甲狀腺濾泡性癌症及畸胎上皮癌；淋巴細胞性譜系之造血腫瘤(例如T細胞及B細胞腫瘤)，包括(但不限於) T細胞病症，諸如T-前淋巴球性白血病(T-PLL)，包括小細胞及腦狀細胞類型；T細胞類型之大型顆粒淋巴球白血病(LGL)；a/d T-NHL肝脾淋巴瘤；周邊/胸腺後T細胞淋巴瘤(多形性及免疫母細胞子類型)；血管中心性(鼻)T細胞淋巴瘤；頭或頸部之癌症、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌；急性骨髓淋巴瘤，以及該等癌症之任何組合。本文所描述之方法亦可用於治療轉移性癌症、不可切除之難治性癌症(例如難以用先前免疫療法，例如用阻斷CTLA-4或PD-1抗體治療之癌症)及/或復發性癌症。

【0378】 在一些實施例中，向患有呈現對先前治療(例如，使用免疫腫瘤學或免疫療法藥物進行之先前治療)之反應不充分或出現進展之癌症的患者，或向患有難治性或耐藥性癌症，即固有地難治性或耐藥性(例如，難以用PD-1路徑拮抗劑治療)或其中獲取耐藥性或難治性狀態之癌症的患者，投與本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。舉例而言，對第一療法無反應或不充分反應，或在治療(例如抗PD-1治療)後出現疾病進展之個體，可藉由投與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白(單獨或與另一療法(例如，抗PD-1療法)組合來治療。

【0379】 在一些實施例中，向先前未接受(亦即，用其治療)免疫腫瘤學藥劑(例如PD-1途徑拮抗劑)之患者，投與本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。

【0380】 用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白治療患有癌症之個體之方法可包含，向具有表現IL2或IL2Rα之癌細胞之個體，投與治療有效

量之本文所揭示的IL2/IL2Rα融合蛋白。本文亦提供用於預測個體是否將對用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白之治療有反應的方法，其中該等方法包含測定患者中之IL2或IL2Rα水準，且若個體為IL2或IL2Rα陽性，則個體可能對用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白之治療有反應。

【0381】 在一些實施例中，治療個體之癌症之方法包含：首先測定個體是否為PD-L1或PD-1陽性，例如具有表現PD-L1或PD-1之腫瘤細胞或TIL；且若個體具有PD-L1或PD-1陽性癌症或TIL細胞，則向該個體投與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白(及視情況PD-1或PD-L1拮抗劑)。用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白(及視情況PD-1或PD-L1拮抗劑)治療患有癌症之個體之方法可包含：向具有表現PD-L1或PD-1之癌細胞或TIL細胞之個體，投與治療有效量之本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白(及視情況PD-1或PD-L1拮抗劑)。本文亦提供用於預測個體是否將對用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白(及視情況PD-1或PD-L1拮抗劑)之治療有反應之方法，其中該等方法包含測定患者之癌症或TIL細胞中之PD-L1或PD-1水準，且若個體之癌症或TIL細胞為PD-L1或PD-1陽性，則個體可能對用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白(及視情況PD-1或PD-L1拮抗劑)之治療有反應。

【0382】 在一些實施例中，與標準護理治療一起投與本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白係作為維持療法，例如意欲預防腫瘤發生或復發之療法投與。

【0383】 在一些實施例中，與另一治療，例如放射線、手術或化學療法一起，投與本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。舉例而言，當存在可存在微小轉移灶之風險時及/或為降低復發之風險，投與使用本文揭示之

IL2/IL2Rα融合蛋白的輔助療法。

【0384】 在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白係以單藥療法形式、或以唯一免疫刺激療法形式投與。IL2Rα之抗體亦可與免疫原性劑，諸如癌細胞、純化腫瘤抗原(包括重組蛋白、肽及碳水化合物分子)、細胞及經編碼免疫刺激細胞介素之基因轉染之細胞組合(He等人,(2004) *J. Immunol.* 173:4919-28)。可使用之腫瘤疫苗之非限制性實例包括黑素瘤抗原之肽，諸如gp100、MAGE抗原、Trp-2、MART1及/或酪胺酸酶之肽，或經轉染以表現細胞介素GM-CSF之腫瘤細胞(下文進一步論述)。

【0385】 在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與疫苗接種方案組合。已設計出針對腫瘤之許多實驗性疫苗接種策略(參見Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62 ; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302 ; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428；Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738；亦參見Restifo, N.及Sznol, M., Cancer Vaccines, 第61章節, 第3023-3043頁，DeVita等人(編), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, 第五版)。在此等策略中之一者中，使用自體或同種異體腫瘤細胞製備疫苗。已顯示此等細胞疫苗在腫瘤細胞經轉導以表現GM-CSF時最有效。已顯示GM-CSF係用於腫瘤疫苗接種之抗原呈遞之強力活化劑(Dranoff 等人 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 3539-43)。

【0386】 各種腫瘤中之基因表現及大規模基因表現模式之研究已導

致對所謂的腫瘤特定抗原進行定義(Rosenberg, S A (1999) *Immunity* 10: 281-7)。在許多情況下，此等腫瘤特異性抗原為在腫瘤中及出現腫瘤之細胞中表現的分化抗原，例如黑素細胞抗原gp100、MAGE抗原及Trp-2。更重要地，許多此等抗原可顯示為宿主中發現之腫瘤特異性T細胞的標靶。在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與表現於腫瘤中之一批重組蛋白及/或肽結合使用，以產生針對此等蛋白質之免疫反應。此等蛋白質通常被免疫系統視為自身抗原且因此對其具耐受性。腫瘤抗原可包括蛋白質端粒酶，其對於合成染色體之端粒為所需的且表現於大於85%之人類癌症中且僅表現於有限數目之體細胞組織中(Kim等人 (1994) *Science* 266: 2011-2013)。腫瘤抗原亦可為因體細胞突變而在癌細胞中表現之「新抗原」，該等突變改變蛋白質序列或在兩個不相關序列之間產生融合蛋白質(亦即，費城染色體中之bcr-abl)，或為來自B細胞腫瘤之個體基因型。

【0387】 其他腫瘤疫苗可包括人類癌症中所牽涉之病毒的蛋白質，該等病毒諸如人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、肝炎病毒(HBV及HCV)及卡堡氏(Kaposi's)疱疹肉瘤病毒(KHSV)。可結合本發明之融合蛋白使用之另一形式之腫瘤特異性抗原為自腫瘤組織自身分離之純化熱休克蛋白(HSP)。此等熱休克蛋白質含有來自腫瘤細胞之蛋白質之片段，且此等HSP高效遞送至抗原呈遞細胞以引發腫瘤免疫性(Suot及Srivastava (1995) *Science* 269: 1585-1588；Tamura等人 (1997) *Science* 278: 117-120)。

【0388】 樹突狀細胞(DC)為可用於引發抗原特異性反應之強力抗原呈遞細胞。DC可離體產生且負載有各種蛋白質及肽抗原以及腫瘤細胞萃取物(Nestle等人(1998) *Nature Medicine* 4:328-332)。DC亦可藉由基因

方法轉導，以亦表現此等腫瘤抗原。DC亦已出於免疫接種之目的而與腫瘤細胞直接融合(Kugler等人 (2000) *Nature Medicine* 6:332-336)。作為一種疫苗接種方法，DC免疫接種可有效地與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白組合，以活化更強效之抗腫瘤反應。

【0389】 在一些實施例中，使用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白治療癌症之方法與標準癌症治療(例如，手術、放射線及化學療法)組合。此種組合之實例為用於治療黑素瘤之抗TIM3抗體與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白組合。組合使用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與化學療法後之科學理論基礎為，細胞死亡(即大多數化學治療性化合物之細胞毒性作用的結果)應引起抗原呈遞路徑中之腫瘤抗原之水準增加。可經由細胞死亡而與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白產生協同作用的其他組合療法為放射線、手術及激素去除。此等方案中之每一者在宿主中產生腫瘤抗原源。血管生成抑制劑亦可與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白組合。抑制血管生成引起腫瘤細胞死亡，此可將腫瘤抗原饋至宿主抗原呈遞路徑中。

【0390】 本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白亦可與靶向表現Fcα或Fcγ受體之效應細胞至腫瘤細胞之雙特異性抗體組合使用(參見例如美國專利第5,922,845號及第5,837,243號)。雙特異性抗體可用於靶向兩個單獨抗原。舉例而言，抗Fc受體/抗腫瘤抗原(例如Her-2/neu)雙特異性抗體已用於將巨噬細胞靶向至腫瘤位點。此靶向可更有效地活化腫瘤特異性反應。替代地，可藉由使用與腫瘤抗原結合之雙特異性抗體及樹突狀細胞特異性細胞表面標記物將抗原直接遞送至DC。

【0391】 腫瘤藉由多種機制逃避宿主免疫監視。許多此等機制可藉

由使由腫瘤表現且具免疫抑制性之蛋白質失活來加以克服。此等尤其包括TGF-β(Kehrl等人. (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050)、IL-10 (Howard及O'Garra (1992) *Immunology Today* 13: 198-200)及Fas配體(Hahne等人(1996) *Science* 274: 1363-1365)。針對此等實體中之每一者的抗體可與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白組合使用，以抵消免疫抑制劑之效果且促進宿主之腫瘤免疫反應。

【0392】活化宿主免疫反應之其他抗體可與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白組合使用。此等抗體包括樹突狀細胞表面上之活化DC功能及抗原呈遞的分子。抗CD40抗體能夠有效地取代T細胞輔助活性(Ridge等人 (1998) *Nature* 393: 474-478)，且可結合本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白使用。針對T細胞共刺激分子，諸如CTLA-4 (例如，美國專利第5,811,097號)、OX-40 (Weinberg等人 (2000) *Immunol* 164: 2160-2169)、4-lBB (Melero等人 (1997) *Nature Medicine* 3: 682-685 (1997))及ICOS (Hutloff等人(1999) *Nature* 397: 262-266)之活化抗體，亦可使T細胞活化程度增加。PD1或PD-L1之抑制劑亦可結合本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白使用。本文其他地方提供其他組合。

【0393】骨髓移植目前用於治療多種造血來源之腫瘤。雖然移植物抗宿主疾病為此治療之後果，但可自移植物抗腫瘤反應獲得治療益處。在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白用於增加供體移植之腫瘤特異性T細胞的效果。

【0394】亦存在涉及抗原特異性T細胞之離體活化及擴增以及將此等細胞授受性轉移至接受者中以便刺激針對腫瘤之抗原特異性T細胞的若干實驗性治療方案(Greenberg及Riddell (1999) *Science* 285: 546-51)。此

等方法亦可用於活化針對諸如CMV之感染劑的T細胞反應。在一些實施例中，在本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白存在下之離體活化可增加授受性轉移T細胞之頻率及活性。

5.7.2.2 發炎性疾病或自體免疫疾病

【0395】 在一些實施例中，本文揭示治療有需要之個體之疾病或病症之方法，其中該疾病或病症為發炎性疾病或自體免疫疾病。在一些實施例中，該等方法包含向該個體投與治療有效量之本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。

【0396】 在一些實施例中，向患有發炎性疾病或自體免疫疾病之患者投與本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白，該等患者對先前治療呈現反應不充分或進展。在一些實施例中，向先前未接受(亦即，用其治療)發炎性疾病或自體免疫疾病之治療之患者，投與本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。

【0397】 在一些實施例中，與發炎性疾病或自體免疫疾病之標準護理治療一起，投與本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白。在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白係作為發炎性疾病或自體免疫疾病之維持療法，例如意欲預防發炎發生或復發之療法投與。

【0398】 在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白係以治療發炎性疾病或自體免疫疾病之單藥療法形式，或以治療發炎性疾病或自體免疫疾病之唯一免疫刺激療法投與。在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與治療發炎性疾病或自體免疫疾病之疫苗接種方案組合。在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與用於治療發炎性疾病或自體免疫疾病之抗體組合。

【0399】 在一些實施例中，發炎性疾病或自體免疫疾病係選自由以

下組成之群：1型糖尿病、多發性硬化、類風濕性關節炎、乳糜瀉、全身性狼瘡紅斑、狼瘡性腎炎、皮膚狼瘡、幼年特發性關節炎、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎或全身性硬化症、移植物抗宿主疾病、牛皮癬、斑禿、HCV誘導性脈管炎、休格連氏症候群、天疱瘡、僵直性脊椎炎、白塞氏病、韋格納氏肉芽腫病、高安氏病、自體免疫肝炎、硬化性膽管炎、古-斯二氏症候群及巨噬細胞活化症候群。

5.7.2.3 傳染性疾病

【0400】 本文所描述之方法亦可用於治療已暴露於特定毒素或病原體之患者。因此，在一些實施例中，本文揭示治療有需要之個體之疾病或病症之方法，其中該疾病或病症為傳染性疾病。在一些實施例中，該等方法包含向該個體投與治療有效量之本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白，以治療傳染性疾病。

【0401】 類似於如上文所論述其對腫瘤之應用，使用包含用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白(單獨，或與疫苗組合作為佐劑)治療的方法，以刺激針對病原體、毒素及自身抗原的免疫反應。此治療方法可尤其適用之病原體之實例包括目前無有效疫苗之病原體，或習知疫苗不完全有效之病原體。此等包括(但不限於) HIV、肝炎(A、B及C)、流感、疱疹、梨形鞭毛蟲屬(Giardia)、瘧疾、利什曼原蟲屬(Leishmania)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)。

【0402】 引起可藉由本文所描述之方法治療之感染之病原性病毒的一些實例包括：HIV、肝炎(A、B或C)、疱疹病毒(例如VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II及CMV、埃-巴二氏病毒(Epstein Barr virus))、腺病毒、流感病毒、黃病毒、腸道細胞病變性人類孤兒病毒病毒(echovirus)、鼻病

毒、科沙奇病毒(coxsackie virus)、冠狀病毒、呼吸道融合細胞病毒、流行性腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、風疹病毒、小病毒、牛痘病毒、HTLV病毒、登革熱病毒、乳突狀瘤病毒、軟疣病毒(molluscum virus)、脊髓灰質炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒及節足動物攜帶病毒性病毒腦炎病毒。

【0403】引起可藉由本文所描述之方法治療之感染的病原性細菌的一些實例包括：披衣菌(chlamydia)、立克次體、分枝桿菌、葡萄球菌、鏈球菌、肺炎球菌(pneumonococci)、腦膜炎球菌(meningococci)及淋球菌(gonococci)、克雷伯氏菌(klebsiella)、變形桿菌(proteus)、沙雷氏菌(serratia)、假單胞菌(pseudomonas)、退伍軍人菌(legionella)、白喉病細菌(diphtheria)、沙門氏菌(salmonella)、桿菌(bacilli)、霍亂細菌(cholera)、破傷風細菌(tetanus)、肉毒桿菌(botulism)、炭疽病細菌(anthrax)、鼠疫細菌(plague)、鉤端螺旋體病細菌(leptospirosis)及萊姆病細菌(Lymes disease bacteria)。

【0404】引起可藉由本文所描述之方法治療之感染的致病性真菌之一些實例包括：念珠菌屬(白色念珠菌(albicans)、克魯斯氏念珠菌(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、熱帶念珠菌(tropicalis)等)、新型隱球菌(Cryptococcus neoformans)、麴菌屬(熏煙色麴菌(fumigatus)、黑麴菌(niger)等)、毛黴屬(Mucorales)(毛黴菌(mucor)、犁頭黴(absidia)、根黴菌屬(rhizophus))、申克氏孢子絲菌(*Sporothrix schenkii*)、皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitidis*)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球孢子菌(*Coccidioides immitis*)及莢膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)。

【0405】引起可藉由本文所描述之方法治療之感染的病原性寄生蟲的一些實例包括：溶組織內阿米巴(*Entamoeba histolytica*)、大腸纖毛蟲(*Balantidium coli*)、變形纖毛蟲(Naegleriafowleri)、棘狀變形蟲屬(*Acanthamoeba sp.*)、蘭比亞梨形鞭毛蟲(*Giardia lambia*)、隱胞子蟲屬(*Cryptosporidium sp.*)、肺胞囊蟲(*Pneumocystis carinii*)、間日瘧原蟲(*Plasmodium vivax*)、微小巴倍蟲(*Babesia microti*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)、黑熱病利什曼原蟲(*Leishmania donovani*)、剛地弓形蟲(*Toxoplasma gondii*)及巴西鼠鉤蟲(*Nippostrongylus brasiliensis*)。

【0406】在以上所有方法中，用本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白之治療可與免疫療法(例如本文所描述之彼等，諸如細胞介素治療(例如，干擾素、GM-CSF、G-CSF、IL2)或雙特異性抗體療法，其提供增強之腫瘤抗原呈遞(參見例如Holliger (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448；Poljak (1994) *Structure* 2: 1121-1123))之其他形式組合。

5.7.2.4 疫苗

【0407】本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白，可藉由共投與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與所關注抗原(例如，疫苗)，用於刺激抗原特異性免疫反應。因此，本文提供增強個體中針對抗原之免疫反應之方法，其包含向該個體投與：(i)抗原；及(ii)本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白，使得個體中針對抗原之免疫反應增強。抗原可為例如腫瘤抗原、病毒抗原、細菌抗原或來自病原體之抗原。此類抗原之非限制性實例包括以上部分中所論述之抗原，諸如上文所論述之腫瘤抗原(或腫瘤疫苗)、或來自

上文所述之病毒、細菌或其他病原體的抗原。

【0408】 在一些實施例中，包含與本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白結合之抗原決定基之肽或融合蛋白用作作為本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白之替代或補充的疫苗。

【0409】 活體內及活體外投與本文所描述之抗體組合物(例如人類單株抗體、多特異性及雙特異性分子及免疫共軛物)的合適途徑為此項技術中所熟知，且可由一般技術者選擇。舉例而言，抗體組合物可藉由注射(例如靜脈內或皮下)投與。所用分子之適合劑量將視個體之年齡及體重以及抗體組合物之濃度及/或調配物而定。

5.7.2.5 與第二藥劑共投與

【0410】 如先前所描述，本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白可與一或多種其他治療劑(例如細胞毒性劑、放射毒性劑或免疫抑制劑)一起共投與。本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白可與藥劑連接(作為免疫複合物)，或可與該藥劑分開投與。在後一種情況(分開投與)下，本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白可在藥劑之前、之後或同時投與，或可與其他已知療法，例如抗癌療法，例如放射線共投與。此類治療劑尤其包括抗贅生性劑，諸如小紅莓(阿德力黴素(adriamycin))、順鉑博萊黴素硫酸鹽(cisplatin bleomycin sulfate)、卡莫司汀(carmustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、達卡巴嗪(dacarbazine)及環磷醯胺羥基脲(cyclophosphamide hydroxyurea)，其本身僅在對患者具毒性或亞毒性之含量下有效。順鉑每四週一次以100 mg/ml劑量靜脈內投與，且阿德力黴素每21天一次以60-75 mg/ml劑量靜脈內投與。本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與化學治療劑之共投與提供兩種抗癌劑，該兩種抗癌劑經由對人

類腫瘤細胞產生細胞毒性效果之不同機制起作用。此類共投與可解決因耐藥性出現或腫瘤細胞之抗原性改變而將使其不與抗體起反應所致的問題。

【0411】 本文提供組合療法之方法，其中本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與一或多種額外藥劑(第二治療劑)共投與，例如小分子藥物、抗體或其抗原結合部分，其有效刺激免疫反應，從而進一步增強、刺激或上調個體中之免疫反應。

【0412】 一般而言，本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白可與以下組合：(i)刺激性(例如，共刺激)分子(例如，受體或配體)之促效劑；及/或(ii)免疫細胞(諸如T細胞)上之抑制性信號或分子(例如，受體或配體)之拮抗劑，其均引起免疫反應，諸如抗原特異性T細胞反應增加。在一些態樣中，免疫腫瘤學藥劑為：(i)刺激性(包括共刺激性)分子(例如受體或配體)之促效劑；或(ii)細胞上之抑制性(包括共抑制性)分子(例如受體或配體)之拮抗劑，該等細胞例如抑制T細胞活化之彼等細胞或涉及先天性免疫性之彼等細胞，例如NK細胞，且其中該免疫腫瘤學藥劑增強先天性免疫性。此類免疫腫瘤學試劑通常被稱作免疫檢查點調節劑，例如免疫檢查點抑制劑或免疫檢查點刺激劑。

【0413】 在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與靶向刺激性或抑制性分子之藥劑一起進行投與，該分子為免疫球蛋白超家族(IgSF)之成員。舉例而言，本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白可與靶向IgSF家族之成員之藥劑一起向個體投與，以增加免疫反應。舉例而言，本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白可與靶向(或與其特異性結合)膜結合配體之B7家族之成員或與B7家族成員特異性結合之共刺激或共抑制受體或配體的藥劑一起投與，該成員包括B7-1、B7-2、B7-H1 (PD-L1)、B7-DC

(PD-L2)、B7-H2 (ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5 (VISTA)及B7-H6。

【0414】本文所揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白亦可與靶向TNF及TNFR家族分子(配體或受體)之成員之藥劑一起投與，諸如CD40及CD40L、OX-40、OX-40L、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn 14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LTpR、LIGHT、DcR3、HVEM、VEGI/TL1A、TRAMP/DR3、EDA1、EDA2、TNFR1、淋巴毒素a/TNFp、TNFR2、TNFa、LTpR、淋巴毒素a 1β2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROY及NGFR(參見例如Tansey (2009) *Drug Discovery Today* 00:1)。

【0415】在一些實施例中，本文揭示之IL2/IL2Rα融合蛋白與包含抗PD-1抗體之藥劑一起投與。抗PD-1抗體可為結合PD-1且抑制PD-1與PD-L1之相互作用的任何抗體。在一些實施例中，抗PD-1抗體為此項技術中已知之任何抗PD-1抗體。在一些實施例中，第二治療劑包含納武單抗(nivolumab)。在一些實施例中，第二治療劑包含帕博利珠單抗(pembrolizumab)。

【0416】在一些實施例中，其中第二治療劑包含抗PD-L1抗體。抗PD-L1抗體可為結合PD-L1且抑制PD-1與PD-L1之相互作用的任何抗體。在一些實施例中，抗PD-L1抗體為此項技術中已知之任何抗PD-L1抗體。在一些實施例中，第二治療劑包含阿特珠單抗(atezolizumab)。在一些實施例中，第二治療劑包含德瓦魯單抗(durvalumab)。在一些實施例中，第

二治療劑包含阿維魯單抗(avelumab)。

【0417】 在一些實施例中，其中第二治療劑包含抗CTLA-4抗體。抗CTLA-4抗體可為結合CTLA-4且抑制其活性之任何抗體。在一些實施例中，抗CTLA-4抗體為此項技術中已知之任何抗CTLA-4抗體。在一些實施例中，第二治療劑包含曲美單抗(tremelimumab)。在一些實施例中，第二治療劑包含伊匹單抗(ipilimumab)。

【0418】 在一些實施例中，其中第二治療劑包含抗LAG3抗體。抗LAG3抗體可為結合LAG-3且抑制其活性之任何抗體。在一些實施例中，抗LAG3抗體為此項技術中已知之任何抗LAG3抗體。在一些實施例中，第二治療劑包含25F7。

【0419】 在一些實施例中，其中第二治療劑包含抗CD137抗體。抗CD137抗體可為結合CD137且抑制其活性之任何抗體。在一些實施例中，抗CD137抗體為此項技術中已知之任何抗CD137抗體。在一些實施例中，第二治療劑包含烏瑞魯單抗(urelumab)。

【0420】 在一些實施例中，其中第二治療劑包含抗KIR抗體。抗KIR抗體可為結合KIR且抑制其活性之任何抗體。在一些實施例中，抗KIR抗體為此項技術中已知之任何抗KIR抗體。在一些實施例中，第二治療劑包含利瑞魯單抗(lirilumab)。

【0421】 在一些實施例中，其中第二治療劑包含抗GITR抗體。抗GITR抗體可為結合GITR且抑制其活性之任何抗體。在一些實施例中，抗GITR抗體為此項技術中已知之任何抗GITR抗體。在一些實施例中，第二治療劑包含MK4166。在一些實施例中，第二治療劑包含TRX518。

【0422】 在其他實施例中，第二療法包含投與抗TIM3抗體。抗

TIM3抗體可為結合TIM3且抑制其活性之任何抗體。在一些實施例中，抗TIM3抗體為此項技術中已知之任何抗TIM3抗體。

【0423】 在某些實施例中，第二療法包含投與化學治療劑。在一些實施例中，化學治療劑係選自蛋白酶體抑制劑、免疫調節藥物(IMiD)、Bet抑制劑及其任何組合。在一些實施例中，蛋白酶體抑制劑係選自硼替佐米(bortezomib)、依薩佐米(ixazomib)、卡非佐米(carfilzomib)、奧普洛佐米(oprozomib)及馬瑞佐米(marizomib)。在某些實施例中，蛋白酶體抑制劑包含硼替佐米。

【0424】 在一些實施例中，第二療法包含放射線療法。此項技術中已知之任何放射線療法可用作第二療法。

【0425】 在一些實施例中，第二療法包含投與活化先天性免疫細胞之藥劑。在一些實施例中，活化先天性免疫細胞之藥劑包含NLRP3促效劑。在一些實施例中，NLRP3促效劑包含尿酸單鈉單水合物(MSU)及/或疫苗佐劑明礬。在一些實施例中，活化先天性免疫細胞之藥劑為toll樣受體7 (TLR7)促效劑。在一些實施例中，TLR7促效劑包含咪喹莫特(imiquimod) (R837)、GS-9620 (參見Tsai等人, J. Virology doi:10.1128/JVI.02166-16 (2017年2月8日))、ORN R-2336 (Miltenyl Biotec)或其任何組合。

【0426】 在一些實施例中，第二療法包含投與增強自然殺手(NK)細胞、$CD8^+$ T細胞或兩者之存活期的藥劑。

【0427】 在某些實施例中，第二療法包含投與選自由以下組成之群之藥劑：小紅莓(ADRIAMYCIN®)、順鉑、卡鉑、硫酸博萊黴素、卡莫司汀、苯丁酸氮芥(LEUKERAN®)、環磷醯胺(CYTOXAN®；

NEOSAR®)、來那度胺(lenalidomide) (REVLIMID®)、硼替佐米(VELCADE®)、地塞米松(dexamethasone)、米托蒽醌(mitoxantrone)、依託泊苷(etoposide)、阿糖胞苷、苯達莫司汀(TREANDA®)、利妥昔單抗(rituximab) (RITUXAN®)、異環磷醯胺、長春新鹼(vincristine) (ONCOVIN®)、氟達拉濱(fludarabine) (FLUDARA®)、沙立度胺(thalidomide) (THALOMID®)、阿侖單抗(alemtuzumab) (CAMPATH®)、奧伐木單抗(ofatumumab) (ARZERRA®)、依維莫司(everolimus) (AFINITOR®、ZORTRESS®)、卡非佐米(KYPROLISTM)及其任何組合。

【0428】調節以上蛋白質中之一者且可與本文所描述之融合蛋白組合以治療癌症之例示性藥劑包括：YERVOY® (伊匹單抗)或曲美單抗(針對CTLA-4)、加利昔單抗(galiximab) (針對B7.1)、BMS-936558 (針對PD-1)、MK-3475 (針對PD-1)、阿特珠單抗(TECENTRIQ®)、AMP224 (針對B7DC)、BMS-936559 (針對B7-H1)、MPDL3280A (針對B7-H1)、MEDI-570 (針對ICOS)、AMG557 (針對B7H2)、MGA271 (針對B7H3)、IMP321 (針對LAG-3)、BMS-663513 (針對CD137)、PF-05082566 (針對CD137)、CDX-1127 (針對CD27)、抗OX40 (Providence Health Services)、huMAbOX40L (針對OX40L)、阿塞西普(Atacicept) (針對TACI)、CP-870893 (針對CD40)、魯卡木單抗(Lucatumumab) (針對CD40)、達西珠單抗(Dacetuzumab) (針對CD40)、莫羅莫那(Muromonab)-CD3 (針對CD3)；抗GITR抗體MK4166、TRX518、Medi1873、INBRX-110、LK2-145、GWN-323、GITRL-Fc或其任何組合。

【0429】 可與融合蛋白組合以用於治療疾病或病症之其他分子包括NK細胞上之抑制受體的拮抗劑或NK細胞上之活化受體的促效劑。舉例而言，本文所描述之融合蛋白可與KIR之拮抗劑(例如，利瑞魯單抗)組合。

【0430】 T細胞活化亦由可溶性細胞介素調節，且本文所描述之融合蛋白可與抑制T細胞活化之細胞介素的拮抗劑或刺激T細胞活化之細胞介素的促效劑一起，向例如患有癌症之個體投與。

【0431】 在一些實施例中，本文所描述之融合蛋白可與以下組合使用：(i)IgSF家族或B7家族或抑制T細胞活化之TNF家族之蛋白質的拮抗劑(或抑制劑或阻斷劑)，或抑制T細胞活化之細胞介素(例如，IL-6、IL-10、TGF-β、VEGF；「免疫抑制性細胞介素」)的拮抗劑及/或(ii)IgSF家族、B7家族或TNF家族或刺激T細胞活化之細胞介素之刺激受體的促效劑，以用於刺激免疫反應，例如用於治療增殖性疾病，諸如癌症。

【0432】 用於組合療法之又其他藥劑包括抑制或消耗巨噬細胞或單核球之藥劑，包括(但不限於)：CSF-1R拮抗劑，諸如CSF-1R拮抗劑抗體，包括RG7155 (WO11/70024、WO11/107553、WO11/131407、W013/87699、W013/119716、WO13/132044)或FPA-008 (WO11/140249、W013169264、WO14/036357)。

【0433】 本發明之融合蛋白亦可與抑制TGF-β信號傳導之藥劑一起投與。

【0434】 可與本文所描述之融合蛋白組合之額外藥劑包括：增強腫瘤抗原呈遞之藥劑，例如樹突狀細胞疫苗、GM-CSF分泌性細胞疫苗、CpG寡核苷酸及咪喹莫特；或增強腫瘤細胞之免疫原性之療法(例如，蒽環黴素(anthracyclines))。

【0435】 可與本文所描述之融合蛋白組合之另一療法為抑制諸如吲哚胺雙加氧酶(IDO)、雙加氧酶、精胺酸酶或氧化氮合成酶之新陳代謝酶之療法。

【0436】 可與本文所描述之融合蛋白一起使用之另一類藥劑包括抑制腺苷形成(例如CD73抑制劑)或抑制腺苷A2A受體的藥劑。

【0437】 可與本文所描述之融合蛋白組合以用於治療疾病或病症(例如癌症)之其他療法包括：反轉/防止T細胞無反應性(anergy)或耗竭(exhaustion)之療法，及在腫瘤位點處觸發先天性免疫活化及/或發炎之療法。

【0438】 可與本文所描述之融合蛋白組合以用於治療疾病或病症(例如癌症)之其他療法包括(例如與HuMax-IL8一起)阻斷IL-8之療法。

【0439】 本文所描述之融合蛋白可與多於一種免疫腫瘤學藥劑組合，且可例如與靶向免疫路徑之多個元件的組合方法組合，諸如以下中之一或多者：增強腫瘤抗原呈遞之療法(例如樹突狀細胞疫苗、GM-CSF分泌性細胞疫苗、CpG寡核苷酸、咪喹莫特)；抑制負向免疫調控之藥劑，例如藉由抑制CTLA-4路徑及/或PD1/PD-L1/PD-L2路徑及/或消耗或阻斷Treg或其他免疫抑制細胞來進行；刺激正向免疫調控之療法，例如使用刺激CD-137、OX-40及/或CD40或GITR路徑及/或刺激T細胞效應功能之促效劑來進行；全身性地增加抗腫瘤T細胞之出現率的療法；耗乏或抑制Treg (諸如腫瘤中之Treg)的療法，例如使用CD25拮抗劑(例如達利珠單抗(daclizumab))或藉由離體抗CD25珠粒耗乏來進行；影響腫瘤中之抑制性骨髓細胞之功能的療法；增強腫瘤細胞免疫原性之療法(例如蒽環黴素)；授受性T細胞或NK細胞轉移，包括經基因修飾之細胞，例如經嵌合抗原受

體修飾之細胞(CAR-T療法)；抑制代謝酶(諸如吲哚胺雙加氧酶(IDO)、雙加氧酶、精胺酸酶或氧化氮合成酶)之療法；逆轉/防止T細胞無反應性或耗竭之療法；在腫瘤位點處觸發先天性免疫活化及/或發炎之療法；投與免疫刺激性細胞介素；或阻斷免疫抑制性細胞介素。

【0440】 本文所描述之融合蛋白可與以下中之一或多者一起使用：促效藥劑，其接合正向共刺激受體；阻斷劑，其經由抑制受體減弱信號傳導；拮抗劑；及一或多種藥劑，其全身性增加抗腫瘤T細胞之頻率；藥劑，其克服腫瘤微環境內之不同免疫抑制路徑(例如，阻斷抑制性受體接合(例如，PD-L1/PD-1相互作用)，消耗或抑制Treg (例如，使用抗CD25單株抗體(例如，達利珠單抗)或藉由離體抗CD25珠粒消耗)，抑制代謝酶(諸如IDO)，或反轉/防止T細胞無反應性或耗竭)；及藥劑，其在腫瘤位點處觸發先天性免疫活化及/或發炎。

【0441】 在一些實施例中，若個體為BRAF V600突變陽性，則本發明之融合蛋白與BRAF抑制劑一起向該個體投與。

【0442】 舉例而言，本發明之融合蛋白及本文所描述之組合療法可與以下額外治療組合使用(例如同時或分開)：諸如輻射及/或化學療法(例如使用喜樹鹼(camptothecin) (CPT-11)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil，5-FU)、順鉑、小紅莓、伊立替康(irinotecan)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、吉西他濱(gemcitabine)、順鉑、太平洋紫杉醇、卡鉑-太平洋紫杉醇(紫杉醇(Taxol))、小紅莓或喜樹鹼 + apo2l/TRAIL (6X聯合體))、一或多種蛋白酶體抑制劑(例如硼替佐米或MG132)、一或多種Bcl-2抑制劑(例如BH3I-2' (bcl-xl抑制劑)、吲哚胺雙加氧酶-1抑制劑(例如INCB24360、因多莫得、NLG-919或F001287)、AT-101 (R-(-)-棉籽醇衍生物)、ABT-263

(小分子)、GX-15-070 (奧巴拉西(obatoclax))或、MCL-1 (骨髓白血病細胞分化蛋白質-1)拮抗劑), iAP (細胞凋亡蛋白質之抑制劑)拮抗劑(例如smac7、smac4、小分子smac模擬物、合成smac肽(參見Fulda等人, Nat Med 2002;8:808-15)、ISIS23722 (LY2181308)或AEG-35156 (GEM-640))、HDAC (組蛋白脫乙醯基酶)抑制劑、抗CD20抗體(例如利妥昔單抗)、血管生成抑制劑(例如貝伐單抗)、靶向VEGF及VEGFR之抗血管生成劑(例如癌思停(Avastin))、合成三萜化合物(參見Hyer等人, Cancer Research 2005;65:4799-808)、c-FLIP (細胞FLICE抑制性蛋白質)調節劑(例如PPARγ (過氧化物酶體增殖劑活化受體γ)之天然及合成配位體、5809354或5569100)、激酶抑制劑(例如索拉非尼(Sorafenib))、曲妥珠單抗、西妥昔單抗、坦羅莫司(Temsirolimus)、mTOR抑制劑(諸如雷帕黴素(rapamycin)及坦羅莫司)、硼替佐米、JAK2抑制劑、HSP90抑制劑、PI3K-AKT抑制劑、來那度胺、GSK3β抑制劑、IAP抑制劑及/或遺傳毒性藥物。

【0443】 本發明之融合蛋白及本文所描述之組合療法可進一步與一或多種抗增殖細胞毒素劑組合使用。可用作抗增殖性細胞毒性劑之化合物類別包括(但不限於)以下:

【0444】 烷基化劑(包括(但不限於)氮芥(nitrogen mustards)、伸乙基亞胺衍生物、烷基磺酸酯、亞硝基脲(nitrosourea)及三氮烯(triazene): 尿嘧啶氮芥(Uracil mustard)、氮芥(Chlormethine)、環磷醯胺(CYTOXAN®) (fosfamide)、美法侖(Melphalan)、苯丁酸氮芥(Chlorambucil)、哌泊溴烷(Pipobroman)、三伸乙基三聚氰胺(Triethylenemelamine)、三伸乙基硫代磷胺

(Triethylenethiophosphoramine)、白消安(Busulfan)、卡莫司汀(Carmustine)、洛莫司汀(Lomustine)、鏈脲菌素(Streptozocin)、達卡巴嗪及替莫唑胺(Temozolomide)。

【0445】抗代謝物(包括(但不限於)葉酸拮抗劑、嘧啶類似物、嘌呤類似物及腺苷脫胺酶抑制劑):甲胺喋呤(Methotrexate)、5-氟尿嘧啶、氟尿苷(Floxuridine)、阿糖胞苷(Cytarabine)、6-巰基嘌呤、6-硫代鳥嘌呤、磷酸氟達拉濱(Fludarabine phosphate)、噴司他丁(Pentostatine)及吉西他濱(Gemcitabine)。

【0446】與本發明之融合蛋白組合之合適抗增殖劑(但不限於):紫杉烷(taxane)、太平洋紫杉醇(太平洋紫杉醇可以TAXOL™購得)、多烯紫杉醇(docetaxel)、迪斯德莫來(discodermolide,DDM)、迪克斯汀(dictyostatin,DCT)、派洛西德A(Peloruside A)、埃博黴素(epothilone)、埃坡黴素A、埃坡黴素B、埃坡黴素C、埃坡黴素D、埃坡黴素E、埃坡黴素F、呋喃并埃坡黴素D(furanoepothilone D)、去氧埃坡黴素B1、[17]-去氫去氧埃坡黴素B、[18]去氫去氧埃坡黴素B、C12,13-環丙基-埃坡黴素A、C6-C8橋接埃坡黴素A、反式-9,10-去氫埃坡黴素D、順式-9,10-去氫埃坡黴素D、16-去甲基埃坡黴素B、埃坡黴素BIO、迪斯德莫來(discoderomolide)、帕土匹龍(patupilone)(EPO-906)、KOS-862、KOS-1584、ZK-EPO、ABJ-789、XAA296A(迪斯德莫來)、TZT-1027(索利多汀(soblidotin))、ILX-651(塔斯汀鹽酸鹽(tasidotin hydrochloride))、軟海綿素B、艾日布林甲磺酸鹽(Eribulin mesylate)(E-7389)、哈米特林(Hemiasterlin)(HTI-286)、E-7974、斯普新(Cyrptophycin)、LY-355703、類美登素免疫結合物(DM-1)、MKC-1、

ABT-751、T1-38067、T-900607、SB-715992 (伊品斯波(ispinesib))、SB-743921、MK-0731、STA-5312、艾榴塞洛素(eleutherobin)、17β-乙醯氧基-2-乙氧基-6-側氧基-B-高-雌甾-1,3,5(10)-三烯-3-醇、環鏈黴菌素(cyclostreptin)、異絡厘麥萊蒂(isolaulimalide)、絡厘麥萊蒂(laulimalide)、4-表-7-去羥基-14,16-二去甲基-(+)-迪斯德莫來及cryptothilone 1，以及此項技術中已知之microtubuline穩定劑。

【0447】在需要結合用本文所描述之本發明之融合蛋白治療或在本文所描述之本發明之融合蛋白治療前使異常增殖細胞休眠的情況下，亦可向患者投與激素及類固醇(包括合成類似物)，諸如17a-炔雌醇、己烯雌酚、睪固酮、強的松(Prednisone)、氟甲睪酮(Fluoxymesterone)、丙酸屈他雄酮(Dromostanolone propionate)、睪內酯、乙酸甲地孕酮(Megestrolacetate)、甲基潑尼龍(Methylprednisolone)、甲基-睪固酮(Methyl-testosterone)、潑尼龍(Prednisolone)、曲安西龍(Triamcinolone)、氯三芳乙烯(Chlorotrianisene)、羥基孕酮(Hydroxyprogesterone)、胺麩精(Aminoglutethimide)、雌莫司汀(Estramustine)、乙酸甲羥孕酮(Medroxyprogesteroneacetate)、亮丙立德(Leuprolide)、氟他胺(Flutamide)、托瑞米芬(Toremifene)、ZOLADEX®。當採用本文所描述之方法或組合物時，在臨床環境中調節腫瘤生長或轉移所用之其他藥劑，諸如止吐劑亦可按需要投與。

【0448】在一些實施例中，本發明之融合蛋白與本文所論述之第二藥劑之組合可作為單一組合物在醫藥學上可接受之載劑中同時投與，或作為單獨組合物與本發明之融合蛋白及第二藥劑在醫藥學上可接受之載劑中同時投與。在一些實施例中，本發明之融合蛋白與第二藥劑之組合可依序

投與。兩種藥劑之投與可例如相隔30分鐘、60分鐘、90分鐘、120分鐘、3小時、6小時、12小時、24小時、36小時、48小時、3天、5天、7天或一或多週之時間起始，或第二藥劑之投與可在投與第一藥劑之後例如30分鐘、60分鐘、90分鐘、120分鐘、3小時、6小時、12小時、24小時、36小時、48小時、3天、5天、7天或一或多個週起始。

【0449】 在一些實施例中，可與本發明之融合蛋白及/或第二藥劑組合之抗贅生性抗體包括RITUXAN® (利妥昔單抗)、HERCEPTIN® (曲妥珠單抗)、BEXXAR® (托西莫單抗)、ZEVALIN® (布突默單抗(ibritumomab))、CAMPATH® (阿侖單抗(alemtuzumab))、LYMPHOCIDE® (依帕珠單抗(eprtuzumab))、AVASTIN® (貝伐單抗(bevacizumab))及TARCEVA® (埃羅替尼(erlotinib))或其任何組合。在一些實施例中，適用於與本發明之融合蛋白之組合療法之第二抗體可為抗體藥物結合物。

【0450】 在一些實施例中，本發明之融合蛋白(單獨或與另一藥劑組合)與骨髓移植同時或依序使用，以治療各種造血起源之腫瘤。

【0451】 本文提供用於改變與用免疫刺激性藥劑治療過度增殖疾病(例如，癌症)相關之不良事件的方法，該等方法包含向個體投與具有或不具有第二藥劑的本發明的融合蛋白。舉例而言，本文所描述之方法提供藉由向患者投與不可吸收類固醇，而降低免疫刺激性治療性抗體誘導性結腸炎或腹瀉之發生的方法。如本文所用，「不可吸收性類固醇」為呈現極大首次代謝以使得在於肝中代謝後，類固醇之生物可用率較低，亦即小於約20%的糖皮質激素。在本文所描述之一些實施例中，不可吸收性類固醇為布地奈德(budesonide)。布地奈德為局部起效之糖皮類固醇，其在經口投

與後主要藉由肝深入代謝。ENTOCORT EC® (Astra-Zeneca)為經研發以使遞送至回腸且通過整個結腸之藥物遞送最佳化的布地奈德之pH及時間依賴性口服調配物。ENTOCORT EC®在美國經批准用於治療涉及回腸及/或升結腸之輕度至中度克羅恩氏病(Crohn's disease)。在一些實施例中，與不可吸收類固醇結合之本發明之融合蛋白可進一步與水楊酸鹽組合。水楊酸鹽包括5-ASA藥劑，諸如：柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine) (AZULFIDINE®，Pharmacia & Up John)；奧沙拉嗪(olsalazine) (DJPENTUM®，Pharmacia & Up John)；巴柳氮(balsalazide) (COLAZAL®，Salix Pharmaceuticals, Inc.)；及美沙拉嗪(mesalamine) (ASACOL®，Procter & Gamble Pharmaceuticals；PENTASA®，Shire US；CANASA®，Axcan Scandipharm, Inc.；ROWASA®，Solvay)。

5.8 套組

【0452】如本文所用，套組包含用於調節免疫反應之IL2/IL2Rα融合蛋白，如本文其他地方所描述。如本文所用，術語「套組」及「系統」意欲係指至少一或多種IL2/IL2Rα融合蛋白，其在具體實施例中，該融合蛋白與一或多種其他類型之元件或組分(例如，其他類型之生物化學試劑、容器、包裝(諸如預期用於商業銷售之包裝)、使用說明書及其類似物)組合。

【0453】在一些實施例中，揭示一種套組，其包含：(a)如本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白、包含如本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之組合物、編碼如本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之核酸、載體及/或宿主細胞中之一或多者；及(b)用於向有需要之個體投與融合蛋白之說明書。在一些實施例中，揭示一種套組，其包含：(a)如本文所描述之IL2/IL2Rα融

合蛋白；及(b)用於向有需要之個體投與融合蛋白之說明書。在一些實施例中，揭示一種套組，其包含：(a)包含如本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之組合物；及(b)用於向有需要之個體投與組合物之說明書。在一些實施例中，揭示一種套組，其包含：(a)編碼如本文所描述之IL2/IL2Rα融合蛋白之核酸；及(b)用於向有需要之個體投與核酸之說明書。在一些實施例中，揭示一種套組，其包含：(a)如本文所描述之載體；及(b)用於向有需要之個體投與載體之說明書。在一些實施例中，揭示一種套組，其包含：(a)如本文所描述之宿主細胞；及(b)用於向有需要之個體投與宿主細胞之說明書。

【0454】 在一具體實施例中，本文提供一種醫藥封裝或套組，其包含一或多個填充有本文所描述之醫藥組合物成分中之一或多者，諸如一或多種本文所提供之融合蛋白的容器。在一些實施例中，套組含有本文所描述之醫藥組合物及任何預防劑或治療劑，諸如本文所描述之預防劑或治療劑。在某些實施例中，套組可含有T細胞有絲分裂原，諸如植物凝血素(PHA)及/或佛波醇肉豆蔻酸酯乙酸酯(phorbol myristate acetate；PMA)，或TCR複合物刺激性抗體，諸如抗CD3抗體及抗CD28抗體。視情況與此類容器相關聯的可為呈由管理醫藥或生物產品之製造、使用或銷售的政府機構所規定之形式的注意事項，該注意事項反映由人類投藥之製造、使用或銷售機構之批准。

【0455】 本文亦提供套組，其可在上文方法中使用。在一個實施例中，套組包含於一或多個容器中之本文所描述之融合蛋白，較佳地純化融合蛋白。在一具體實施例中，本文所描述之套組含有實質上經分離之融合蛋白作為對照。在另一具體實施例中，本文所描述之套組進一步包含不與

IL2及/或IL2-Rα抗原反應之對照抗體或融合蛋白。在另一具體實施例中，本文所描述之套組含有用於偵測融合蛋白與IL2及/或IL2-Rα抗原之結合的一或多個元件(例如，融合蛋白可與可偵測受質結合，該可偵測受質諸如螢光化合物、酶促受質、放射性化合物或發光化合物，或識別第一抗體之第二抗體可與可偵測受質結合)。在具體實施例中，本文所提供之套組可包括以重組方式產生或以化學方式合成之融合蛋白。如在套組中所提供之本文所揭示之融合蛋白的抗原亦可與固體載體連接。在一更具體實施例中，上文所描述套組之偵測構件包括與融合蛋白之抗原連接之固體載體。此類套組亦可包括未連接的經報導基因標記之抗人類抗體或抗小鼠/大鼠抗體。在此實施例中，融合蛋白與抗原之結合可藉由該報導基因標記之抗體之結合偵測。

【0456】 除非另外指示，否則本發明之實踐將使用細胞生物學、細胞培養、分子生物學、轉殖基因生物學、微生物學、重組DNA及免疫學之習知技術，此等習知技術屬於此項技術之技能範圍內。此類技術在文獻中已充分解釋。參見例如Sambrook等人編 (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual (第2版; Cold Spring Harbor Laboratory Press)；Sambrook等人編 (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover 編, (1985) DNA Cloning, 第I及II卷；Gait編 (1984) Oligonucleotide Synthesis；Mullis等人美國專利第4,683,195號；Hames及Higgins編 (1984) Nucleic Acid Hybridization；Hames及Higgins編 (1984) Transcription And Translation; Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.)；Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986)；Perbal

(1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.)；Miller及Calos編(1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory)；Wu等人編, Methods In Enzymology, 第154及155卷；Mayer及Walker編(1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London)；Weir及Blackwell編, (1986) Handbook Of Experimental Immunology, 第I-IV卷；Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986);)；Crooks, Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications, 第2版CRC Press (2007)及Ausubel等人 (1989) Current Protocols，Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)。

【0457】 上文所引用之所有參考文獻以及本文所引用之所有參考文獻與胺基酸或核苷酸序列(例如，GenBank號及/或Uniprot號)，均以其全文引用之方式併入本文中。

【0458】 以下實例係以說明而非限制之方式提供。

6. 實例

實例1. IL2-CD25融合蛋白形成穩定的均質均二聚體

【0459】 融合蛋白之大小及寡聚狀態藉由與直列式多角度光散射偵測器(SEC-MALS)耦聯之尺寸排阻層析法研究。藉由注入30 μg儲備蛋白質樣本來製備樣本。等度分離在與Prominence Shimadzu UFLC系統連接之GE Healthcare Superdex 200 Increase 10/300 GL管柱(10 mm × 300 mm)上於緩衝液中進行，該Prominence Shimadzu UFLC系統由脫氣器、

等度泵、具有注射器之冷卻樣本架、UV/vis偵測器及管柱烘箱組成，該緩衝液含有40 mM Tris、200 mM NaCl (pH 7.5) + 0.02%疊氮化鈉，及0.1 μM過濾，在0.75 mL/min之流速下運行。使用Shimadzu自動進樣器，將樣本注射至管柱上，且自串聯連接之三個線上偵測器獲得資料：設定在280 nm下進行收集之Shimadzu SPD-20雙波長UV/vis 分光光度計，隨後Wyatt Technologies mini-Dawn TREOS三角度雷射光散射偵測器，且接著Wyatt Optilab T-rEX干涉折射器。收集資料，且使用Astra 6(Wyatt)及LabSolutions Lite (Shimadzu)軟體進行分析。

【0460】 圖1中之資料顯示來自分析性尺寸排阻層析之相對於溶離時間之典型絕對質量。圖1中分析之樣本為與His標記(GGHHHHHH (SEQ ID NO: 100))融合之IL2-CD25(22-212) (SEQ ID NO: 16)的，其多肽鏈具有37,812 (降低)之理論分子量。資料指示，IL2-CD25(22-212)形成跨越具有93 kDa之所量測絕對質量之溶離特性的均質物種。溶離峰顯示無單體物種之證據，亦無比主峰高階之寡聚物種之證據。93 kDa之質量值指示分子形成均二聚體，且亦經糖基化(約18%質量來自IL2及CD25上之已知N-及O-連接糖基化位點)。

實例2：IL2-CD25融合蛋白等效地以減弱的觀測到之親和力與sCD25及sIL2Rβ/IL2Rγ異源受體結合。

【0461】 在Biacore T100及/或T200儀(GE Healthcare)上在25℃下進行表面電漿子共振(SPR)研究。融合蛋白分析物之結合係在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS-T) (pH 7.1)中在表面上進行測試，該表面由以下組成：低密度(~300RU)之biot-hCD25-BioP-TVMV-His，其已His裂解(hCD25)且捕捉在抗生蛋白鏈菌素上；SA感測器晶片或hCD122(27-241)-hFc-

D/hCD132(23-263)-hFc-K雜二聚體Fc融合物(hIL2-Rb/g)，其已經由蛋白A固定之CM5感測器晶片表面使用標準乙基(二甲基胺基丙基)碳化二亞胺/*N*-羥基丁二醯亞胺(NHS)化學物質，用乙醇胺阻斷進行捕捉。以滴定系列注射蛋白質分析物，且藉由2 × 8s注射低pH緩衝液進行更新返回基線。使用Biacore T-200評價軟體分析資料。

【0462】圖2顯示IL2-CD25融合蛋白(SEQ ID NO: 16)與人類sCD25之原型結合。所觀測到之4.2微莫耳之表觀平衡解離常數比經分離之IL2對於sCD25之親和力大致弱150倍，如藉由表面電漿子共振所量測(Liparoto, S.F., Myszka, D.G., Wu, Z., Goldstein, B., Laue, T.M.及Ciardelli, T.L. (2002) Biochemistry 41, 2543-51.)。

表9：IL2-CD25融合蛋白(SEQ ID NO: 16)與人類sCD25之結合之藥物動力學。

ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
1.29E+4	0.054	4.2E-6

【0463】下表10顯示短及長形式之IL2-CD25與人類sCD25及sIL2Rβ/IL2Rγ雜二聚體之原型結合觀測到之平衡K_D值。各種IL2-CD25融合蛋白之所觀測到之表觀平衡解離常數相較於IL2明顯減弱。IL2-CD25融合物與sCD25之結合相較於與IL2大致弱100倍。同樣，IL2-CD25融合物與β-γ雜二聚體之結合比與IL2之結合弱約150倍。

表10：IL2及IL2-CD25構築體與sCD25或sIL2Rβ/IL2Rγ雜二聚體之結合之觀測到之平衡K_D值，如藉由表面電漿子共振所量測。

受體	**與sCD25之K_D，μM**	**與sIL2Rβ/IL2Rγ雜二聚體之K_D，μM**
IL2	0.025	0.0004
IL2-CD25(22-187)	1.6	0.054
IL2-CD25(22-212)	2.3	0.065
IL2-CV-CD25(22-240)	2.1	0.063

IL2-CD25(22-240)	2.4	0.044
Fc1.1-7連接子-IL2-CD25(22-212) 二價SEQ ID NO: 67	5.6	N.D.
IL2-CD25(22-212)-Fc1.1 SEQ ID NO: 68	2.5	0.1
IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A (SEQ ID NO: 202)	1.9	N.D.
Fc-(IL2(V91K)CD25)2二價 SEQ ID NO: 203	3.0	
HSA-(G4S)3- IL2-CD25(22-187) SEQ ID NO: 19	4.0	0.03
IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA SEQ ID NO: 20	2.1	0.03
人類Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G SEQ ID NO: 26	3.0	0.15
IL2(C145S)-CD25(22-187)- HuFc1.1(f)-AZ1 SEQ ID NO: 27	2.0	0.15
IL2(V111K)-CD25 SEQ ID NO: 69	1.9	
IL2(D40T)-CD25 SEQ ID NO: 70	2.8	

實例3：截短形式之IL2-CD25針對聚集具有增進的穩定性：加快穩定性測試

【0464】 藉由在40℃下於pH範圍4-8之緩衝液中培育，來測試融合蛋白之穩定性。將融合蛋白濃縮至約15 mg/ml，且在4℃下滲析至以下緩衝液中：1) 20 mM乙酸鹽，250 mM蔗糖，pH 4；2) 20 mM檸檬酸鹽，250 mM蔗糖，pH 5；3) 20 mM組胺酸，250 mM蔗糖，pH 6；4) 20 mM磷酸鹽，250 mM蔗糖，pH 7；及5) 20 mM Tris，250 mM蔗糖，pH 8.4 (室溫)。在自滲析回收之後，藉由用滲析緩衝液稀釋，將融合蛋白之濃度標準化為10 mg/ml，且置放於在40℃下監測之培育箱中四週，其中恰好在培育之前(t0)、在一週之後(1w)及在40℃培育四週(4w)之後移出等分試樣。藉由尺寸排阻層析，在與Agilent 1260 HPLC系統連接之Shodex KW403-4F管柱上，於含有100 mM磷酸鈉、150 mM氯化鈉、pH7.3 (0.2 μm過濾)之緩衝液中，在0.30 mL/min之流速下運行，來分析各時間點。

【0465】 如表11及12中所見，截短形式之IL2-CD25在加快穩定性研究之後呈現比較長形式好許多的高分子量及低分子量概況。此對於pH值4、5、6及7尤其正確。將樣本保持在不同pH條件及四十攝氏度下四周。顯示為各構築體之高分子量及低分子量部分之百分比之結果指示，相較於長構築體，短構築體具有大幅增進的穩定性。顯示為各構築體之主峰部分之百分比之結果指示，相較於長構築體，短構築體具有大幅增進的穩定性。

表11：IL2-CD25融合蛋白之加快穩定性概況。

	IL2-CD25(22-187)		**IL2-CD25(22-212)**		**IL2-C145V-CD25 (22-240)**		**IL2-CD25(22-240)**	
pH	**HMW (%)**	**LMW (%)**	**HMW (%)**	**LMW (%)**	**HMW (%)**	**LMW (%)**	**HMW (%)**	**LMW (%)**
4	2.3	6.3	5.3	3.4	19.4	5.7	13.0	13.4
5	1.9	3.9	1.8	1.9	12.5	0.3	14.3	2.6
6	1.3	2.2	1.9	1.2	13.3	0.0	15.9	0.0
7	5.1	3.8	2.6	2.5	9.4	2.3	10.5	2.5
8	5.5	4.2	2.6	2.7	6.2	2.3	7.8	2.7

出於容易純化之目的，本文中之IL2-CD25融合蛋白含有His標記(GGHHHHHH，SEQ ID NO: 100)。

表12：IL2-CD25融合蛋白之加快穩定性概況。

pH	**IL2-CD25(22-187)**	**IL2-CD25(22-212)**	**IL2-C145V-CD25 (22-240)**	**IL2-CD25(22-240)**
4	91.4	91.3	74.9	73.6
5	94.2	96.4	87.2	83.1
6	96.6	97.0	86.7	84.1
7	91.1	94.9	88.3	87.0
8	90.3	94.7	91.6	89.5

實例4：非人類動物中之藥物動力學研究

【0466】 **藥物動力學研究** 所有動物方案均經Central New Jersey Institutional Animal Care and Use Committee批准，且根據指南圈養動物。重量為19-20公克之雌性Balb/C小鼠購自Charles-River (Wilmington, MA)。藉由靜脈內(IV)途徑經由尾部靜脈或皮下(SC)途徑，對未禁食

Balb/C小鼠投與單一0.5 mg/kg劑量之所指示分子。在藥物動力學研究中使用之IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)具有His6標記。自尾部靜脈在給藥後之以下時間點收集血液：5分鐘(僅IV)、1 h、7 h、24 h、48 h、72 h、96 h及168 h。對於猴PK研究，雄性食蟹獼猴係獲自Buckshire Corporation (Perkasie, PA)。對猴(N=3，平均體重7.8 kg)皮下投與單一0.075 mg/kg劑量之hIL2-CD25 (22-212)。在給藥後5 h、24 h、48 h、72 h、96 h、168 h、192 h及240 h，自清醒且坐著的猴之股動脈收集一系列血液樣本。使血液樣本凝結，且在4℃下離心(1500-2000 × *g*)得到血清。將血清樣本儲存於-80℃下直至進一步分析。

【0467】 血清中之融合蛋白之偵測：使用配體結合分析來偵測小鼠或猴血清樣本中之融合蛋白之水準。簡言之，在4℃下，以2 μg/mL，用含捕捉試劑(大鼠抗-人類IL2抗體，單株純系：MQ1-17H12；Thermo Fisher Scientific, San Diego, CA)之PBS塗覆96孔Nunc MaxdiSorp平底培養盤(Thermo Fisher Scientific, Denmark)隔夜。培養盤用阻斷緩衝液(含5%BSA之PBS)阻斷，且在25℃下培育一小時。用分析緩衝液(PBS與1% BSA及0.05%吐溫20)稀釋標準物、QC及樣本20倍，且將其添加至經洗滌培養盤(兩個重複)，且在4℃下培育隔夜。將經洗滌培養盤與偵測試劑(人類CD25生物素標記抗體，R&D Systems, Minneapolis, MN，在250 ng/mL下，於分析緩衝液中)一起培育，且在25℃下培育2小時。在25℃下，向經洗滌培養盤依序添加中性鏈親和素-HRP (Thermo Scientific, Rockford, IL) (100 ng/mL，於分析緩衝液中)45分鐘，隨後在螢光模式下在SpectraMax讀板儀中讀取之前，添加化學發光受質混合物(Thermo Scientific, Rockford, IL)一分鐘。使用藉由softmax分析程式(Molecular

Devices)之Log-Log線性曲線擬合演算法得到之標準曲線，計算血清樣本中之分析物之濃度。

表13：Balb/C小鼠中之所指示分子之藥物動力學參數。

	劑量	途徑	CL	Vss	AUC (0-最後)	Cmax	Tmax	T1/2	生物可用性
	mg/kg		ml/h/kg	ml/kg	nM*h	nM	h	h	%
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)	0.5	IV	1.3	46.3	8046.3	NA	NA	19.4	NA
	0.5	SC	NA	NA	3639.6	79	24	31	45%
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)	0.5	IV	4	94.2	3053.1	NA	NA	19.4	NA
	0.5	SC	NA	NA	2033.1	54.6	7	23	67%
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187)	0.5	IV	23.1	200.4	610.4	NA	NA	11.6	NA
	0.5	SC	NA	NA	261.3	13.2	7	10.9	43%
Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)	0.5	IV	1.96	167.6	1442	NA	NA	66.6	NA
	0.5	SC	NA	NA	886.5	12.02	24	68.8	61%
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1	0.5	IV	1.2	194.4	1771.3	NA	NA	120	NA
	0.5	SC	NA	NA	1478.6	16.2	24	61.3	83%

NA =不適用，ND =未測定。

表14：食蟹獼猴中之hIL2-CD25 (22-212)之藥物動力學參數。

	劑量	途徑	AUC (0-最後)	Cmax	Tmax	$T_{1/2}$
	mg/kg		nM*h	nM	h	天
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)	0.075	SC	1200	7.6	24	2.1

實例5：Kit225細胞上之IL2-CD25融合蛋白之活性

【0468】 經修飾融合蛋白之生物活性藉由以下來測定：量測刺激內源性表現於T細胞株Kit225 (一種來自患有T細胞慢性淋巴球性白血病，具有OKT3+、-T4+、-T8表型之患者的IL2依賴性人類T細胞株)上之IL2R之

能力。活性藉由使用對IL2R之信號級聯敏感之報導體系統來量測。使在IFNγ活化序列(IRF1-GAS-Luc)控制下與螢火蟲螢光素酶報告基因穩定整合之Kit225人類T細胞在含有以下之培養基中生長：RPMI + 格魯塔瑪(Glutamax)，10%熱滅活FBS，20 ng/mL重組IL2 (Invitrogen PHC0023)，1% Pen/Strep及0.7 mg/mL遺傳黴素(Geneticin)。在分析前一天，洗滌報導基因細胞，且將其再懸浮於分析培養基(無酚紅RPMI + L-麩醯胺酸，10%熱滅活FBS，1% Pen/Strep)中，以移除存在於生長培養基中之IL2，接著在37℃下培育隔夜。在分析當天，為了3倍11點濃度反應曲線，將IL2分子連續稀釋於分析緩衝液中，將各種濃度之IL2分子添加至CulturPlate-384分析培養盤(Perkin Elmer，目錄號6007688)，隨後以70,000細胞/孔添加。在37℃ CO_2培育箱中培育分析培養盤5小時，接著在添加ONE-GLO™受質(Promega E6120)之前，將其平衡至室溫持續20分鐘。密封培養盤，且在Perkin Elmer Envision上量測發光信號。使用GraphPad Priam，繪製11點IL2劑量反應發光信號。EC50定義為測試IL2融合蛋白對應於11點擬合曲線得出之50%活化的濃度，如使用四參數邏輯回歸模型所測定。藉由用融合蛋白對人類周邊血液單核細胞(PBMC)或全血之刺激，來測定初代細胞中融合蛋白對於IL2R信號傳導之效力。pSTAT5之酪胺酸磷酸化為IL2R信號傳導之即刻結果，且在全血或PBMC中之各種細胞群體中藉由流式細胞測量術偵測到。在37℃下，血液樣本或PBMC用hIL2-CD25融合蛋白之連續稀釋液處理15 min。在培育之後，將細胞固定，且用裂解/固定緩衝液進行血液裂解10 min (BD Phosflow)。洗滌細胞兩次，且接著在冰上用冰-冷甲醇滲透30 min，另外洗滌兩次。樣本接著用人類Fc阻斷液(ebioscience)處理，隨後用CD3、CD4、CD8、

CD25、pSTAT5、Foxp3及CD56之標記抗體染色。接著，藉由流式細胞測量術分析所有樣本。

【0469】 在活體外基於細胞之分析中，融合蛋白呈現IL2受體活化之效力，其相對於wt IL2顯著右移(較差效力)。此與非共價二聚體形式之融合蛋白之表觀親和力降低一致。向融合蛋白添加Fc尾確實產生朝較差效力之進一步偏移20-30倍。移除His標記或C端之截短對於融合蛋白之效力具有極小效果。在全血中獲得類似的相對效力結果。

表15A：Kit225細胞上之IL2-CD25融合蛋白之活性。

融合蛋白	EC_{50} (ng/ml)	
IL2 WT	0.41	N=9
hIL2-CD25 (22-240)-His	138	n=2
hIL2-C145V-CD25 (22-240)-His	166	n=2
hIL2-CD25(22-212)-His	210	n=2
hIL2-CD25(22-212)	139	n=12
hIL2-CD25(22-187)-His	145	n=2
hIL2-CD25(22-187)	49	n=2
Fc1.1-7連接子-IL2-CD25(22-212 (二價)	3414	n=2
hIL2-CD25(22-212)-Fc1.1 (二價)	3413	n=2

【0470】 Treg上之hIL2-CD25蛋白(包括hIL2-CD25 (22-212) (SEQ ID NO: 16)信號傳導)優於其他細胞類型之選擇性，可藉由在15 min之後混合細胞群體(包括PBMC或全血9A及9B，分別地)中之STAT5之監測磷酸化量測。在37℃下，新鮮獲得血液樣本用hIL2-CD25 (22-212) (SEQ ID NO: 16)之連續稀釋液處理15 min。在培育之後，對細胞進行處理(固定及滲透)，用CD3、CD4、CD8、CD25、pSTAT5、Foxp3及CD56之標記抗體染色，且藉由流式細胞測量術分析。Treg對hIL2-CD25 (22-212) (SEQ ID NO: 16)之IL2R刺激極其敏感，其中最大功效為90%之Treg反應於刺激上調pSTAT5，及具有7 +/- 11 ng/ml之效力。與Treg上觀測到之穩固活化相比，CD4非Treg (foxp3-)、CD8及NK細胞較低效地藉由hIL2-CD25

(22-212) (SEQ ID NO:16)刺激；在所有其他細胞類型中，低於50%之此等細胞上調pSTAT5，即使在平均濃度達至2700 ng/ml下(表16)。總而言之，對於hIL2-CD25 (22-212) (SEQ ID NO:16)，Treg上之IL2R優於其他細胞類型之選擇性相對於rhIL2保持或增加。與IL2-CD25之Fc-或HSA-融合蛋白在全血中保持高Treg選擇性，儘管具有較低效力(表16)。

表15B：Kit225細胞上之IL2-CD25融合蛋白之活性。

蛋白質	SEQ	效價			Ymax (%)
		EC50 ng/ml	STDEV	n	wt IL2反應%
wt-hIL2		0.42	0.23	9	N/A
hIL2-CD25(22-212)	16	139	112	12	103%
HSA-hIL2-CD25(22-187)	19	972	856	4	104%
hIL2-CD25(22-187)-HSA	20	205	78	4	95%
Fc-hIL2-CD25(22-187)	26	327	90	3	91%
hIL2-CD25 (22-187)-Fc	27	257	95	3	93%
Fc-(hIL2-CD25 (22-187))2 二價	67	737	264	4	97%
hIL2-CD25 (四聚非糖基化)	202	39.4	3.1	3	85%

表16：人類全血中之各種細胞類型之刺激之效力及功效。資料為2-10個供體，來自正常供體之新鮮抽取血液之平均值。在大於Treg效力之~200-400x濃度下測定最大pSTAT5陽性細胞%。

	Treg		CD4 foxp3-Non-Treg	CD8 T細胞	NK細胞
pSTAT5陽性細胞%	EC50 ng/ml	在所測試最高濃度下之最大值	在所測試最高濃度下之最大值	在所測試最高濃度下之最大值	在所測試最高濃度下之最大值
hIL2-CD25 (22-212) (SEQ 16)	7.2 (± 10.4, n=10)	90% (+/-8, n=10)	48% (+/-14, n=10) 在2.7μg/ml下	27% (+/-11, n=10) 在2.7μg/ml下	22% (+/-19, n=8) 在2.7μg/ml下
Fc-(IL2-CD25)$_2$ (SEQ 67) 二價	88 (± 74, n=4)	95% (+/-2, n=4)	50% (n=3) 在24μg/ml下	33% (n=3) 在24μg/ml下	8% (n=2) 在24μg/ml下
Fc-(IL2-CD25) (SEQ 26) 一價	25 (± 12, n=3)	94% (+/-1, n=3)	60% (n=3) 在8.1μg/ml	36% (n=3) 在8.1μg/ml	6% (n=3) 在8.1μg/ml

			下	下	下
HSA-(G4S)3-IL2-CD25-FT (SEQ 19)	83 (± 53, n=3)	95% (+/-3, n=3)	59% (n=2) 在24μg/ml 下	38% (n=2) 在24μg/ml 下	6% (n=2) 在24μg/ml 下
IL2-CD25 FT-GG-HSA (SEQ 20)	43 (± 35, n=2)	92% (+/-5, n=2)	60% (n=2) 在8.1μg/ml 下	39% (n=2) 在8.1μg/ml 下	10% (n=2) 在8.1μg/ml 下
(IL2-CD25)-Fc (SEQ 27) 一價	11.4 (± 1.6, n=2)	94% (+/-5, n=2)	67% n=2 在8.1μg/ml 下	49% n=2 在8.1μg/ml 下	25% n=2 在8.1μg/ml 下

實例6：藉由經截短之IL2-CD25融合蛋白增加白血球之活體內活性

【0471】在具有人類化免疫系統之小鼠中，測試融合蛋白活體內增加白血球之能力。16-20週齡雌性NSG-huCD34移植小鼠(NOD.Cg-Prkdc^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ，其用人類CD34+造血幹細胞重構)購自Jackson Laboratory。在移植14週後，藉由流式細胞測量術，檢查每一隻人類化小鼠之周邊血液中hCD45+細胞及鼠類CD45+細胞(mCD45+)之存在。選擇具有至少25%人類CD45移植之小鼠。已測試經移植人類造血幹細胞不含HIV、HBV、HCV及LCMV (淋巴球性脈絡叢腦膜炎病毒)。對動物任意提供標準嚙齒動物食物及純化水，且在使用之前適應最少1週。使用動物之所有程序均經BMS機構動物護理及使用委員會(BMS Institutional Animal Care and Use Committee)審查及批准。每三天，在動物處於麻醉同時，以10 μg/小鼠、200 μl之體積，對16-20週齡NSG-huCD34移植小鼠皮下給藥PBS或融合蛋白huIL2-CD25(22-187)、huIL2-CD25(22-212)及HuIL2-CD25(22-240)。在第0、3及6天，總共投與三次皮下劑量。在最後給藥24小時後，對所有處理組進行麻醉，收穫脾於HBSS中以用於Treg、CD8 T或NK細胞之FACS分析。所有三種融合蛋白均顯示增加脾細胞數量

之類似能力。

實例7：IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)中之(G3S)3肽連接子在人類或小鼠血清中之穩定性

【0472】研發基於液相層析與串聯質譜法(LC-MS/MS)之生物分析方法，以支持在活體外血清穩定性研究及活體內猴PK研究中評價(G3S)3連接子之穩定性。在使用大鼠抗IL-2抗體捕捉IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)（亦即，SEQ ID NO: 16)之後，兩個標誌肽DLISNINVIVLELK（來自IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)之IL-2域）及EPPPWENEATER（來自IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)之CD25域)之峰面積比，用於評價IL-2與CD25之間的連接子穩定性。連接子裂解及血清中之所得循環裂解產物將引起>1之IL2/CD25面積比系統性增加。

【0473】為了活體外測試IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)之連接子裂解責任，將0.5 μM之IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)在1.5 ml總體積之人類血清(Bioreclamation，目錄號HMSRM-M；批次號BRH1332647)或小鼠血清(Bioreclamation，目錄號MSESRM-BALB-M；批次號MSE264349)中於37℃下培育長達72小時。在0、4、24、48及72小時時收集樣本(200 μL血清)，且將其儲存在-80℃下直至藉由LC-MS/MS進行峰面積比之分析為止。為了鑑別歸因於在單次劑量之IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)之後猴活體內連接子裂解之循環裂解產物的存在，藉由LC-MS/MS，分析給藥後5、24、48、72、96及168小時時收集之血清樣本的峰面積比。

【0474】如圖10中所示，IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)之IL2及CD25域中之標誌肽之峰面積比在37℃下在於人類或小鼠血清中活體外

培育72小時內保持接近於均一，因此指示IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)在人類血清及小鼠血清兩者中之可忽略的連接子裂解。

【0475】另外，如圖11中所示，單一皮下劑量之0.075 mg/kg IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)之後，在自猴收集之血清樣本中，在使用抗IL2進行免疫捕捉之後，IL2及CD25替代物肽之比率保持接近於均一。資料表明在用IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) (亦即，SEQ ID NO: 16)給藥之猴血清中不存在連接子裂解。

【序列表】

<110> 美商必治妥美雅史谷比公司(BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY)

<120> 介白素-2/介白素-2受體阿法融合蛋白及其使用方法

<130> 3338.1000001/ELE/C-K/MKK

<140> TW108110805
<141> 2019-03-27

<150> US62/649,379
<151> 2018-03-28

<160> 204

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 153
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2 (人類，未加工)

<400> 1

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150

<210> 2
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2（人類，成熟形式）

<400> 2

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 3
<211> 169
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2 (小鼠，未加工)

<400> 3

Met Tyr Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
20 25 30

Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
50 55 60

Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe

100 105 110

Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
115 120 125

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
130 135 140

Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
145 150 155 160

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln
165

<210> 4
<211> 149
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2（小鼠，成熟形式）

<400> 4

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln
1 5 10 15

Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Leu
20 25 30

Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn Tyr Arg Asn Leu
35 40 45

Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu Pro Lys Gln Ala
50 55 60

Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu
65 70 75 80

Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp

85 90 95

Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val Val Lys Leu Lys
100 105 110

Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr
115 120 125

Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys Gln Ser Ile Ile
130 135 140

Ser Thr Ser Pro Gln
145

<210> 5
<211> 272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (人類，未加工形式)

<400> 5

Met Asp Ser Tyr Leu Leu Met Trp Gly Leu Leu Thr Phe Ile Met Val
1 5 10 15

Pro Gly Cys Gln Ala Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
20 25 30

His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
35 40 45

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

Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
65 70 75 80

Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro

85 90 95

Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
100 105 110

Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
115 120 125

Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
130 135 140

Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
145 150 155 160

Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
165 170 175

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
180 185 190

Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
195 200 205

Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr
210 215 220

Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
225 230 235 240

Val Ala Val Ala Gly Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu
245 250 255

Ser Gly Leu Thr Trp Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
260 265 270

<210> 6
<211> 251
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (人類，成熟形式)

<400> 6

```
Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1               5                  10                  15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
            20                  25                  30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
        35                  40                  45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
    50                  55                  60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65                  70                  75                  80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
                85                  90                  95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
            100                 105                 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
        115                 120                 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
    130                 135                 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145                 150                 155                 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
                165                 170                 175
```

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
180 185 190

Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
195 200 205

Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Val Ala Val Ala Gly
210 215 220

Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp
225 230 235 240

Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
245 250

<210> 7
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (人類， IL2R? 胞外域之成熟形式)

<400> 7

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
180 185 190

Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
195 200 205

Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
210 215

<210> 8
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (小鼠，未加工形式)

<400> 8

Met Glu Pro Arg Leu Leu Met Leu Gly Phe Leu Ser Leu Thr Ile Val
1 5 10 15

Pro Ser Cys Arg Ala Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro
20 25 30

Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn
35 40 45

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met
50 55 60

Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn
65 70 75 80

Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln
85 90 95

Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met
100 105 110

His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys
115 120 125

His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val
130 135 140

His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala
145 150 155 160

Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro
165 170 175

Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser
180 185 190

Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser
195 200 205

Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala

210 215 220

Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala
225 230 235 240

Ser Cys Leu Phe Leu Leu Ile Ser Ile Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr
245 250 255

Trp Gln His Arg Trp Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
260 265

<210> 9
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (小鼠，成熟形式)

<400> 9

Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

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

Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn
35 40 45

Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser
50 55 60

Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr
65 70 75 80

Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu
85 90 95

Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys

100 105 110

Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile
115 120 125

Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys
130 135 140

Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val
145 150 155 160

Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly
165 170 175

Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr
180 185 190

Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe
195 200 205

Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala Ser Cys Leu Phe Leu
210 215 220

Leu Ile Ser Ile Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp Gln His Arg Trp
225 230 235 240

Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
245

<210> 10
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (小鼠， IL2R? 胞外域之成熟形式)

<400> 10

Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys

```
1               5                   10                  15

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

Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn
        35                  40                  45

Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ile Leu Arg Ala Ser
    50                  55                  60

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

Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His
                85                  90                  95

Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His
            100                 105                 110

Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His
        115                 120                 125

Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile
    130                 135                 140

Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln
145                 150                 155                 160

Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu
                165                 170                 175

Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
            180                 185                 190

Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met
        195                 200                 205
```

Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
210 215

<210> 11
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (人類， IL2R? 胞外域之成熟形式)-全截短

<400> 11

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu
165

<210> 12
<211> 191
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2R? (人類， IL2R? 胞外域之成熟形式)-半截短

<400> 12

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
180 185 190

<210> 13
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145S)-CD25(22-240)

<400> 13

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

<210> 14
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)-CD25(22-240)

<400> 14

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

<210> 15
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145V)-CD25(22-240)

<400> 15

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Val Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

275 280 285

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

<210> 16
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-CD25(22-212)

<400> 16

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 17
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-CD25(22-187)

<400> 17

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 18
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)-CD25(C213S, 22-240)

<400> 18

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

<210> 19
<211> 911
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HSA-(G4S)3- IL2-CD25(22-187)

<400> 19

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys
595 600 605

Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile
610 615 620

Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu
625 630 635 640

Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu
645 650 655

Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu
660 665 670

Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn
675 680 685

Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met
690 695 700

Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg
705 710 715 720

Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly

725 730 735

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
740 745 750

Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
755 760 765

Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
770 775 780

Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
785 790 795 800

Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
805 810 815

Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
820 825 830

Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
835 840 845

Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
850 855 860

His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
865 870 875 880

Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
885 890 895

Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
900 905 910

<210> 20
<211> 923
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA

<400> 20

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

```
Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
            180                 185                 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
        195                 200                 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
    210                 215                 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225                 230                 235                 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
                245                 250                 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
            260                 265                 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
    290                 295                 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305                 310                 315                 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
                325                 330                 335

Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu
            340                 345                 350

Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr
        355                 360                 365

Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val
```

370 375 380

Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys
385 390 395 400

Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala
405 410 415

Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln
420 425 430

Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro
435 440 445

Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala
450 455 460

Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile
465 470 475 480

Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala
485 490 495

Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys
500 505 510

Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
515 520 525

Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe
530 535 540

Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg
545 550 555 560

Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu
565 570 575

Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala
580 585 590

Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser
595 600 605

Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
610 615 620

Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu
625 630 635 640

Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn
645 650 655

Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr
660 665 670

Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala
675 680 685

Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro
690 695 700

His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu
705 710 715 720

Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu
725 730 735

Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys
740 745 750

Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu
755 760 765

Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met

770 775 780

Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val
785 790 795 800

Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr
805 810 815

Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp
820 825 830

Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His
835 840 845

Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln
850 855 860

Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu
865 870 875 880

Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys
885 890 895

Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys
900 905 910

Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
915 920

<210> 21
<211> 319
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)-CD25(22-192)-GGC

<400> 21

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Gly Gly Cys
305 310 315

<210> 22
<211> 337
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)-CD25(22-213)

<400> 22

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Cys

<210> 23
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)- CD25(22-187, N70C)

<400> 23

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Cys Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 24
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)-CD25(22-187, N89C)

<400> 24

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Cys Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 25
<211> 312
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145A)-CD25(22-187)-C

<400> 25

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Cys
305 310

<210> 26
<211> 539
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G

<400> 26

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110

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

Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln
225 230 235 240

Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn
245 250 255

Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr
260 265 270

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu
275 280 285

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn
290 295 300

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val
305 310 315 320

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp
325 330 335

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser
340 345 350

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
355 360 365

Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His

370 375 380

Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys
385 390 395 400

Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met
405 410 415

Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln
420 425 430

Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln
435 440 445

Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met
450 455 460

Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro
465 470 475 480

Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly
485 490 495

Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg
500 505 510

Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp
515 520 525

Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Gly
530 535

<210> 27
<211> 541
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(C145S)-CD25(22-187)- HuFc1.1(f)-AZ1

<400> 27

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
305 310 315 320

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
325 330 335

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
340 345 350

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
355 360 365

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
370 375 380

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

385 390 395 400

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
405 410 415

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
420 425 430

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro
435 440 445

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
450 455 460

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
465 470 475 480

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
485 490 495

Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
500 505 510

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
515 520 525

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
530 535 540

<210> 28

<400> 28
000

<210> 29
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> IL2-C145S-CD25(22-187)

<400> 29

```
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1               5                  10                  15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
            20                  25                  30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
        35                  40                  45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    50                  55                  60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65                  70                  75                  80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                85                  90                  95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            100                 105                 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
        115                 120                 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145                 150                 155                 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
                165                 170                 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
            180                 185                 190
```

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 30
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)

<400> 30

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 31
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-CD25(22-240)-C213S

<400> 31

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

```
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65                  70                  75                  80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                85                  90                  95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            100                 105                 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
        115                 120                 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145                 150                 155                 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
                165                 170                 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
            180                 185                 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
        195                 200                 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
    210                 215                 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225                 230                 235                 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
                245                 250                 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
            260                 265                 270
```

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

<210> 32
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S

<400> 32

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

```
Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
            260                 265                 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
    290                 295                 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305                 310                 315                 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
                325                 330                 335

Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
            340                 345                 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
        355                 360
```

<210> 33
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 原生SigPep-IL2-CD25(22-187)

<400> 33

```
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1               5                   10                  15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
            20                  25                  30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
        35                  40                  45
```

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
165 170 175

His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
180 185 190

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
195 200 205

Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
210 215 220

Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
225 230 235 240

Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
245 250 255

Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
260 265 270

Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
275 280 285

Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
290 295 300

Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
305 310 315 320

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
325 330

<210> 34
<211> 358
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 原生SigPep-HuIL2-CD25(22-212)-PP

<400> 34

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
165 170 175

His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
180 185 190

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
195 200 205

Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
210 215 220

Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
225 230 235 240

Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
245 250 255

Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
260 265 270

Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
275 280 285

Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
290 295 300

Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
305 310 315 320

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
325 330 335

Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
340 345 350

Ser Glu Thr Ser Pro Pro
355

<210> 35
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M-IL2(C145S)-CD25(C213S)

<400> 35

Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser
115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
145 150 155 160

Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
165 170 175

Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
180 185 190

Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
195 200 205

Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
225 230 235 240

Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
245 250 255

Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
260 265 270

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

Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
290 295 300

Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
305 310 315 320

Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335

Ser Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala
340 345 350

Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360 365

<210> 36
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M-IL2(C145S)-CD25(C213S)

<400> 36

Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser
115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
145 150 155 160

Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
165 170 175

Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
180 185 190

Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
195 200 205

Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
225 230 235 240

Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
245 250 255

Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
260 265 270

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

Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
290 295 300

Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
305 310 315 320

Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335

Ser Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala
340 345 350

Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360 365

<210> 37
<211> 337
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M-IL2-C145A-CD25(22-212)

<400> 37

Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
145 150 155 160

Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
165 170 175

Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
180 185 190

Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
195 200 205

Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
225 230 235 240

Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
245 250 255

Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
260 265 270

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

Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
290 295 300

Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
305 310 315 320

Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335

Ser

<210> 38
<211> 337
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M-IL2-C145A-CD25(22-212)

<400> 38

Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
145 150 155 160

Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
165 170 175

Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
180 185 190

Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
195 200 205

Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
225 230 235 240

Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
245 250 255

Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
260 265 270

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

Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
290 295 300

Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
305 310 315 320

Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335

Ser

<210> 39
<211> 335
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Del-A21-IL2-CD(22-212)

<400> 39

Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
20 25 30

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45

Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
50 55 60

```
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65                  70                  75                  80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
                85                  90                  95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
            100                 105                 110

Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
        115                 120                 125

Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
    130                 135                 140

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
145                 150                 155                 160

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
                165                 170                 175

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
            180                 185                 190

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
        195                 200                 205

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
    210                 215                 220

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
225                 230                 235                 240

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
                245                 250                 255

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
            260                 265                 270
```

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

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
290 295 300

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
305 310 315 320

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 40
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-L2-CD25(22-212)

<400> 40

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 41
<211> 344
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T3A-L3-CD(22-212)

<400> 41

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
145 150 155 160

Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
165 170 175

Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
180 185 190

Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
195 200 205

Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
210 215 220

Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
225 230 235 240

Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
245 250 255

Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
260 265 270

His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
275 280 285

Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
290 295 300

Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
305 310 315 320

Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
325 330 335

Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
340

<210> 42

<400> 42
000

<210> 43
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)

<400> 43

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 44
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S

<400> 44

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala

340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

<210> 45
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-CD25(22-187)

<400> 45

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 46
<211> 336
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-CD25(22-212)-T106A

<400> 46

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 47
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-CD25(22-212)-T95A

<400> 47

```
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1               5                  10                  15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
            20                  25                  30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
        35                  40                  45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    50                  55                  60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65                  70                  75                  80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                85                  90                  95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            100                 105                 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
        115                 120                 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145                 150                 155                 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
                165                 170                 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
            180                 185                 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
```

195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 48

<400> 48
000

<210> 49
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-CD25(22-212)

<400> 49

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 50
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-212)

<400> 50

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 51
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-C145S-CD25(22-212)

<400> 51

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 52
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-C145S-CD25(22-212)

<400> 52

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 53
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-CD25(22-212)-PG

<400> 53

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Pro Gly

<210> 54
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-CD25(22-187)

<400> 54

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 55
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)

<400> 55

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 56
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> IL2-CD25(22-240, C213S)

<400> 56

```
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1               5                  10                  15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
            20                  25                  30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
        35                  40                  45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    50                  55                  60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65                  70                  75                  80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                85                  90                  95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            100                 105                 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
        115                 120                 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145                 150                 155                 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
                165                 170                 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
            180                 185                 190
```

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

<210> 57
<211> 335
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Del-A21-IL2-CD(22-212)

<400> 57

```
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1               5                  10                  15

Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
            20                  25                  30

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
        35                  40                  45

Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
    50                  55                  60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65                  70                  75                  80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
                85                  90                  95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
            100                 105                 110

Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
        115                 120                 125

Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
    130                 135                 140

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
145                 150                 155                 160

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
                165                 170                 175
```

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
180 185 190

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
195 200 205

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
210 215 220

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
225 230 235 240

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
245 250 255

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
260 265 270

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

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
290 295 300

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
305 310 315 320

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 58
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-L2-CD25(22-212)

<400> 58

```
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1               5                  10                  15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
            20                  25                  30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
        35                  40                  45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    50                  55                  60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65                  70                  75                  80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                85                  90                  95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            100                 105                 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
        115                 120                 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145                 150                 155                 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
                165                 170                 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
            180                 185                 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
        195                 200                 205
```

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 59
<211> 344
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-L3-CD25(22-212)

<400> 59

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
145 150 155 160

Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
165 170 175

Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
180 185 190

Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
195 200 205

Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
210 215 220

Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
225 230 235 240

Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
245 250 255

Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
260 265 270

His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
275 280 285

Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
290 295 300

Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
305 310 315 320

Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
325 330 335

Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
340

<210> 60
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q

<400> 60

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 61
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q

<400> 61

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 62
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)-N89Q

<400> 62

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 63
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)-N70Q

<400> 63

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 64
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N89Q

<400> 64

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 65
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q

<400> 65

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 66
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)

<400> 66

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 67
<211> 569
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc1.1-7連接子-IL2-CD25(22-212)

<400> 67

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
225 230 235 240

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
245 250 255

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
260 265 270

Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
275 280 285

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
290 295 300

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
305 310 315 320

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
325 330 335

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
340 345 350

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
355 360 365

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp
370 375 380

Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu
385 390 395 400

Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys
405 410 415

Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser
420 425 430

Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr
435 440 445

Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr
450 455 460

Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly
465 470 475 480

His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile
485 490 495

Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly
500 505 510

Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr
515 520 525

His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
530 535 540

Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro
545 550 555 560

Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
565

<210> 68
<211> 562
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-CD25(22-212)-Fc1.1

<400> 68

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
340 345 350

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
355 360 365

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
370 375 380

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
385 390 395 400

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

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
420 425 430

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
435 440 445

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
450 455 460

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
465 470 475 480

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
485 490 495

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
500 505 510

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
515 520 525

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
530 535 540

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
545 550 555 560

Pro Gly

<210> 69
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(V111K)-CD25(22-212)

<400> 69

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Lys Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 70
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(D40T)-CD25(22-212)

<400> 70

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Thr Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

<210> 71
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 71

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

<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 72

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 73

Gly Gly His His His His His His
1 5

<210> 74
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 74

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

<210> 75
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 75

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

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 76
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 76

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20

<210> 77
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 77

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 78
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 78

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

<210> 79
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 79

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

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 80
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 80

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 81

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

<210> 82
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 82

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 83
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 83

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 84
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 84

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 85
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚腺苷酸化信號序列

<400> 85

Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ser Ala Pro Ala
20

<210> 86
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚腺苷酸化信號序列

<400> 86

Ala Ala Pro Ala Ser Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser
20

<210> 87
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚腺苷酸化信號序列

<400> 87

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala
1 5 10 15

Ser Pro Ser Ser
20

<210> 88
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚腺苷酸化信號序列

<400> 88

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala
1 5 10 15

Ser Pro Ser

<210> 89
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚腺苷酸化信號序列

<400> 89

Ser Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Ser Ser Pro Ala Ser Pro Ser Pro
1 5 10 15

Ser Ser Pro Ala
20

<210> 90
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚腺苷酸化信號序列

<400> 90

Ala Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Pro
1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala
20

<210> 91
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚腺苷酸化信號序列

<400> 91

Ala Ser Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ser Ala Pro
1 5 10 15

Ser Ala Ala Ala
20

<210> 92
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2前導序列最佳化的Kozak序列

<400> 92
gccaccatgg acaggatgca actcctgtct tgcattgcac taagtcttgc acttgtcaca 60

aacagt 66

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FC區

<400> 93

His Gln Ser Leu Gly Thr Gln
1 5

<210> 94
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FC區

<400> 94

His Gln Asn Leu Ser Asp Gly Lys
1 5

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FC區

<400> 95

His Gln Asn Ile Ser Asp Gly Lys
1 5

<210> 96
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FC區

<400> 96

Val Ile Ser Ser His Leu Gly Gln
1 5

<210> 97
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 甘胺酸連接子

<400> 97

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 98
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FC區

<400> 98

Pro Lys Asn Ser Ser Met Ile Ser Asn Thr Pro
1 5 10

<210> 99
<211> 10
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> kozak序列

<400> 99
gccaccatgg 10

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> His tag

<400> 100

Gly Gly His His His His His His
1 5

<210> 101
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)

<400> 101

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 102
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)(C145S)

<400> 102

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 103
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)(C145A)

<400> 103

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 104
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)(C145V)

<400> 104

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Val Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 105
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)(T23A)

<400> 105

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 106
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)(T23A+C145S)

<400> 106

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 107
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)(T23A+C145A)

<400> 107

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 108
<211> 153
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 原生SigPep-IL2(1-153)

<400> 108

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150

<210> 109
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M-IL2(C145S)

<400> 109

Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser
115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 110
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M-IL2(C145A)

<400> 110

Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 111
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Del-A21-IL2

<400> 111

Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
20 25 30

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45

Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
50 55 60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110

Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
115 120 125

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 112
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Del-A21-IL2(C145S)

<400> 112

Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
20 25 30

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45

Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
50 55 60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110

Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
115 120 125

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 113
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Del-A21-IL2(C145A)

<400> 113

Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
20 25 30

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45

Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
50 55 60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110

Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile
115 120 125

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 114
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(V111K)

<400> 114

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Lys Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 115
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(D40T)

<400> 115

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Thr Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 116
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L1-(G3S)3

<400> 116

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

<210> 117
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L2-G2S2

<400> 117

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 118
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L3-(G3S)5

<400> 118

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

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L4-(G2S)3

<400> 119

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 120
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> L5-(G2S)5

<400> 120

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

<210> 121
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L6-GGEEE

<400> 121

Gly Gly Glu Glu Glu Gly Gly Glu Glu Glu Gly Ser
1 5 10

<210> 122
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L7-12聚體_剛性

<400> 122

Glu Ser Pro Glu Pro Glu Thr Pro Glu Asp Glu Ser
1 5 10

<210> 123
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L8-22聚體_螺旋

<400> 123

Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln
1 5 10 15

Glu Glu Arg Glu Thr Lys
20

<210> 124
<211> 1
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L9-G

<400> 124

Gly
1

<210> 125
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L10-GG

<400> 125

Gly Gly
1

<210> 126
<211> 1
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L11-S

<400> 126

Ser
1

<210> 127
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L12-GS

<400> 127

Gly Ser
1

<210> 128
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-240)

<400> 128

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
180 185 190

Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
195 200 205

Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
210 215

<210> 129
<211> 191
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-212)

<400> 129

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
180 185 190

<210> 130
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)

<400> 130

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu
165

<210> 131
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-240)(C213S)

<400> 131

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Ser
180 185 190

Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
195 200 205

Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
210 215

<210> 132
<211> 174
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-192)-GGC

<400> 132

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Gly Gly Cys
165 170

<210> 133
<211> 192
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-213)

<400> 133

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
180 185 190

<210> 134
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)(N70C)

<400> 134

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Cys Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu
165

<210> 135
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)(N89C)

<400> 135

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Cys Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu
165

<210> 136
<211> 167
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)-C

<400> 136

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Cys
165

<210> 137
<211> 167
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)-G

<400> 137

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Gly
165

<210> 138
<211> 193
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-212)-PP

<400> 138

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Pro
180 185 190

Pro

<210> 139
<211> 191
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> CD25(22-212)(T106A)

<400> 139

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
180 185 190

<210> 140
<211> 191
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-212)(T95A)

<400> 140

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
180 185 190

<210> 141
<211> 191
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-212)(T95A+T106A)

<400> 141

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
180 185 190

<210> 142
<211> 193
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-212)-PG

<400> 142

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Pro
180 185 190

Gly

<210> 143
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)(N70Q+N89Q)

<400> 143

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu
165

<210> 144
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)(N89Q)

<400> 144

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu
165

<210> 145
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-187)(N70Q)

<400> 145

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

```
Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
            20                  25                  30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
        35                  40                  45

Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
    50                  55                  60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65                  70                  75                  80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
                85                  90                  95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
            100                 105                 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
        115                 120                 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
    130                 135                 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145                 150                 155                 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu
                165
```

<210> 146
<211> 190
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-211)

<400> 146

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
180 185 190

<210> 147
<211> 189
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-210)

<400> 147

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu
180 185

<210> 148
<211> 188
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-209)

<400> 148

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser
180 185

<210> 149
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-208)

<400> 149

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
180 185

<210> 150
<211> 186
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-207)

<400> 150

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro
180 185

<210> 151
<211> 185
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-206)

<400> 151

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg
180 185

<210> 152
<211> 184
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-205)

<400> 152

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly
180

<210> 153
<211> 183

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-204)

<400> 153

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
180

<210> 154
<211> 182
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-203)

<400> 154

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro
180

<210> 155
<211> 181
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-202)

<400> 155

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser
180

<210> 156
<211> 180
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-201)

<400> 156

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln Ala
180

<210> 157
<211> 179
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-200)

<400> 157

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro Gln

<210> 158
<211> 178
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-199)

<400> 158

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys Pro

<210> 159
<211> 177
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-198)

<400> 159

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

Lys

<210> 160
<211> 176
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-197)

<400> 160

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
165 170 175

<210> 161
<211> 175
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-196)

<400> 161

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
165 170 175

<210> 162
<211> 174
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-195)

<400> 162

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
165 170

<210> 163
<211> 173
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-194)

<400> 163

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro
165 170

<210> 164
<211> 172
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-193)

<400> 164

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe
165 170

<210> 165
<211> 171
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-192)

<400> 165

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
165 170

<210> 166
<211> 170
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-191)

<400> 166

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser
165 170

<210> 167
<211> 169
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-190)

<400> 167

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr
165

<210> 168
<211> 168
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-189)

<400> 168

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu
165

<210> 169
<211> 167
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD25(22-188)

<400> 169

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
35 40 45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
85 90 95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
165

<210> 170
<211> 1
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 連接子序列

<400> 170

Gly
1

<210> 171
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 171

Gly Gly
1

<210> 172
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 172

Gly Ser
1

<210> 173
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 173

Gly Gly Ser
1

<210> 174
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 174

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 175
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 175

Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 176
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 176

Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 177
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 177

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 178
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 178

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 179
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 179

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 180
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 180

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

<210> 181
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 181

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

<210> 182
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 182

Glu Pro Lys Ser Ser
1 5

<210> 183
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 183

Pro Lys Ser Ser
1

<210> 184
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 184

Lys Ser Ser
1

<210> 185
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 185

Ser Ser
1

<210> 186
<211> 1
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子序列

<400> 186

Ser
1

<210> 187
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1-Fc

<400> 187

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

```
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro Gly
225
```

<210> 188
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.1-Fc

<400> 188

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 189
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.3-Fc

<400> 189

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 190
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1-Fc(P238K)

<400> 190

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 191
<211> 229
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG4-Fc

<400> 191

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 192
<211> 229
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG4.1-F c

<400> 192

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 193
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.3-Fc-杵

<400> 193

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 194
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.3-Fc-臼

<400> 194

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 195
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1-Fc(P238K)-杵

<400> 195

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 196
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1-Fc(P238K)-臼

<400> 196

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 197
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.1-Fc(AZ1)

<400> 197

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110

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

Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 198
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.1-Fc(AZ2)

<400> 198

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110

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

Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 199
<211> 585
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類血清白蛋白

<400> 199

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 200
<211> 585
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HSA(C34S)

<400> 200

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 201
<211> 585
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HSA(C35A)

<400> 201

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 202
<211> 311
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A

<400> 202

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
305 310

<210> 203
<211> 569
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc-(IL2(V91K)CD25)2二價

<400> 203

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
225 230 235 240

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
245 250 255

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
260 265 270

Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
275 280 285

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
290 295 300

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
305 310 315 320

Asn Ile Asn Lys Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
325 330 335

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
340 345 350

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
355 360 365

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp
370 375 380

Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu
385 390 395 400

Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys
405 410 415

Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser
420 425 430

Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr
435 440 445

Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr
450 455 460

Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly
465 470 475 480

His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile
485 490 495

Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly
500 505 510

Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr
515 520 525

His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
530 535 540

Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro
545 550 555 560

Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
565

<210> 204
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)

<400> 204

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
260 265 270

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

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
325 330 335

Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種融合蛋白，其包含：

(a) 第一多肽，其包含介白素-2 (IL2)多肽，其中該第一多肽包含與SEQ ID NO: 2所載之胺基酸序列具有至少95%序列一致性之胺基酸序列；及

(b) 第二多肽，其包含介白素-2受體α (IL2Rα)多肽之胞外域，其中該第二多肽包含與SEQ ID NO: 12所載之胺基酸序列具有至少90%序列一致性之胺基酸序列；

其中該IL2Rα多肽之胞外域不包括SEQ ID NO: 7所載之原生IL2Rα之胞外域之胺基酸192至219；及

其中該融合蛋白具有IL2活性。

【請求項2】

如請求項1之融合蛋白，其中該第一多肽包含與SEQ ID NO: 2具有至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項3】

如請求項1或2之融合蛋白，其中該第二多肽包含與SEQ ID NO: 12具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項4】

如請求項1之融合蛋白，其中該融合蛋白包含第一多肽中之突變，其中該第一多肽中之突變為一或多個對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸T3及/或

C125處之取代。

【請求項5】

如請求項1之融合蛋白，其中該融合蛋白包含第一多肽中之突變，其中該第一多肽中之突變為對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸A1處之缺失。

【請求項6】

如請求項1之融合蛋白，其中該融合蛋白係經酶促或化學方式去糖基化。

【請求項7】

如請求項1之融合蛋白，其進一步包含在該第一多肽與該第二多肽之間融合的連接子。

【請求項8】

如請求項7之融合蛋白，其中該連接子為甘胺酸/絲胺酸連接子。

【請求項9】

如請求項8之融合蛋白，其中該甘胺酸/絲胺酸連接子包含$(GGGS)_3$之胺基酸序列。

【請求項10】

如請求項1之融合蛋白，其中該融合蛋白進一步包含與該第一多肽及/或該第二多肽融合之異源部分。

【請求項11】

如請求項10之融合蛋白，其中該異源部分為半衰期延長部分。

【請求項12】

如請求項11之融合蛋白，其中該異源部分包含白蛋白、免疫球蛋白恆定區或其一部分、免疫球蛋白結合多肽、免疫球蛋白G (IgG)、白蛋白

結合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc區或其任何組合。

【請求項13】

如請求項1之融合蛋白，其中該融合蛋白包含如SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 39至41、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NOs: 49至53、SEQ ID NO: 57至59及SEQ ID NO: 67至70中任一者所載之胺基酸序列。

【請求項14】

如請求項1之融合蛋白，其中該融合蛋白包含如SEQ ID NO: 16所載之胺基酸序列。

【請求項15】

如請求項1、2及4至14中任一項之融合蛋白，其為單體或二聚體。

【請求項16】

一種核酸，其編碼如請求項1至15中任一項之融合蛋白。

【請求項17】

一種載體，其包含如請求項16之核酸。

【請求項18】

一種宿主細胞，其包含如請求項16之核酸。

【請求項19】

一種醫藥組合物，其包含：(a)如請求項1至15中任一項之融合蛋白、如請求項16之核酸、如請求項17之載體或如請求項18之宿主細胞；及(b)醫藥學上可接受之賦形劑。

【請求項20】

一種套組，其包含如請求項1至15中任一項之融合蛋白、如請求項16之核酸、如請求項17之載體、如請求項18之宿主細胞或如請求項19之醫藥組合物，及向有需要之個體投與該融合蛋白之說明書。

【請求項21】

一種生產融合蛋白之方法，其包含：在合適的條件下培養如請求項18之宿主細胞；及回收該融合蛋白。

【請求項22】

一種如請求項1至15中任一項之融合蛋白、如請求項16之核酸、如請求項17之載體、如請求項18之宿主細胞或如請求項19之醫藥組合物之用途，其係用於製備治療由IL-2調節之疾病或病症之醫藥品。

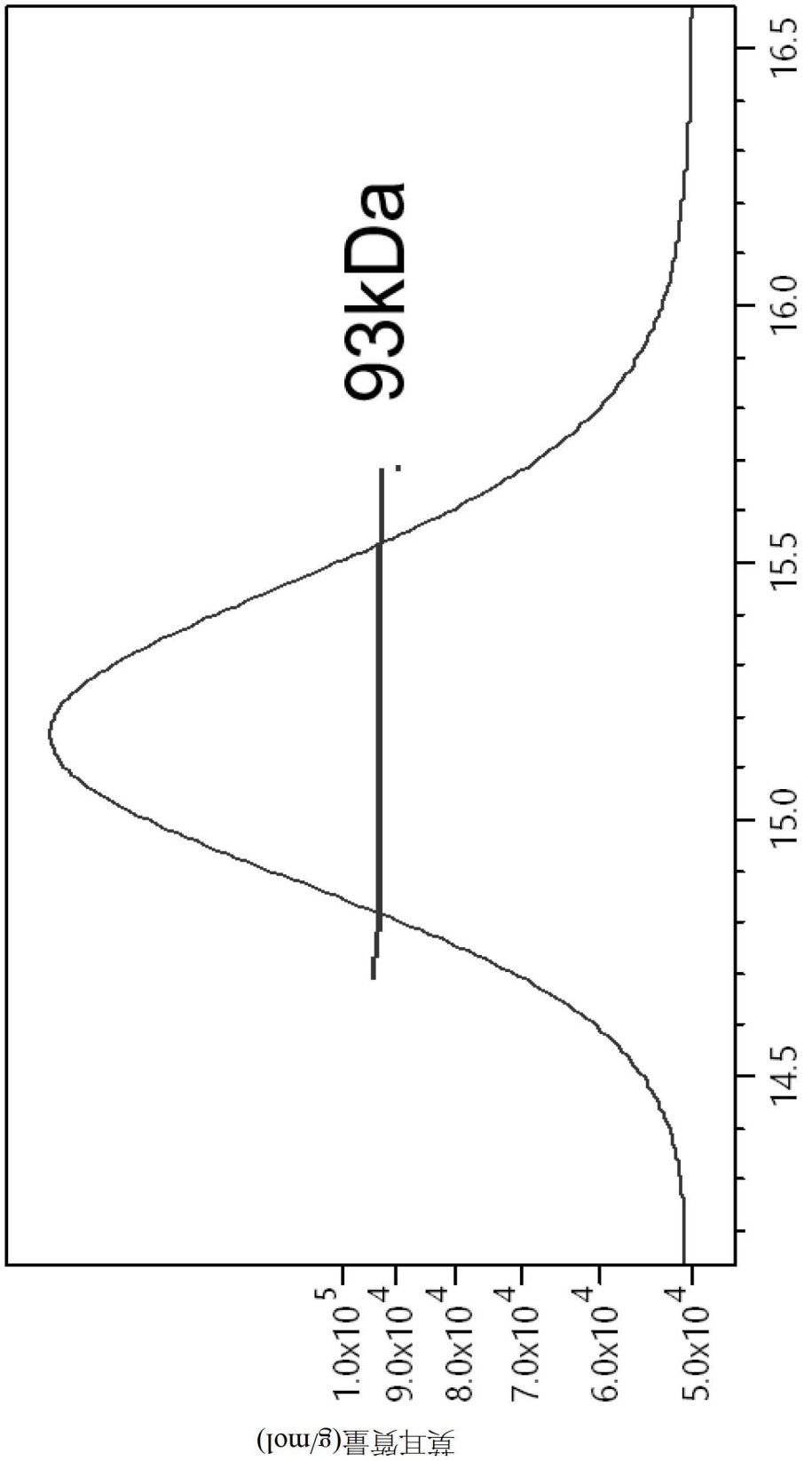
【請求項23】

如請求項22之用途，其中該疾病或病症為發炎性疾病、自體免疫疾病或傳染性疾病，其中該傳染性疾病係由病原性病毒、病原性細菌、病原性真菌或病原性寄生蟲引起。

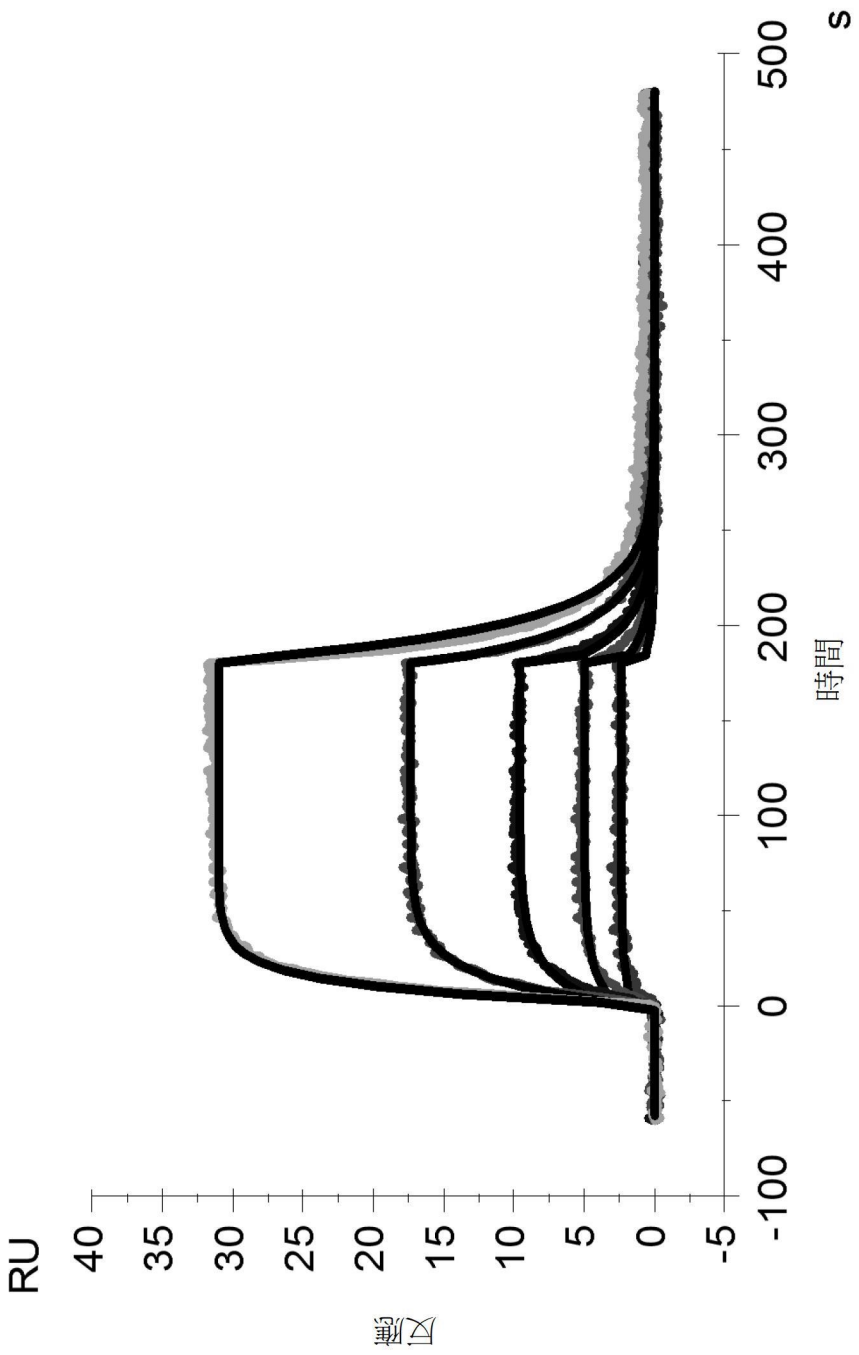
【請求項24】

如請求項23之用途，其中該發炎性疾病或自體免疫疾病係選自由以下組成之群：1型糖尿病、多發性硬化、類風濕性關節炎、乳糜瀉、全身性狼瘡紅斑、狼瘡性腎炎、皮膚狼瘡、幼年特發性關節炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎或全身性硬化症、移植物抗宿主疾病、牛皮癬、斑禿、HCV誘導性脈管炎、休格連氏(Sjogren's)症候群、天疱瘡、僵直性脊椎炎、白塞氏病(Behcet's Disease)、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's Granulomatosis)、高安氏病(Takayasu's Disease)、自體免疫肝炎、硬化性膽管炎、古-斯二氏(Gougerot-sjögren)症候群及巨噬細胞活化症候群。

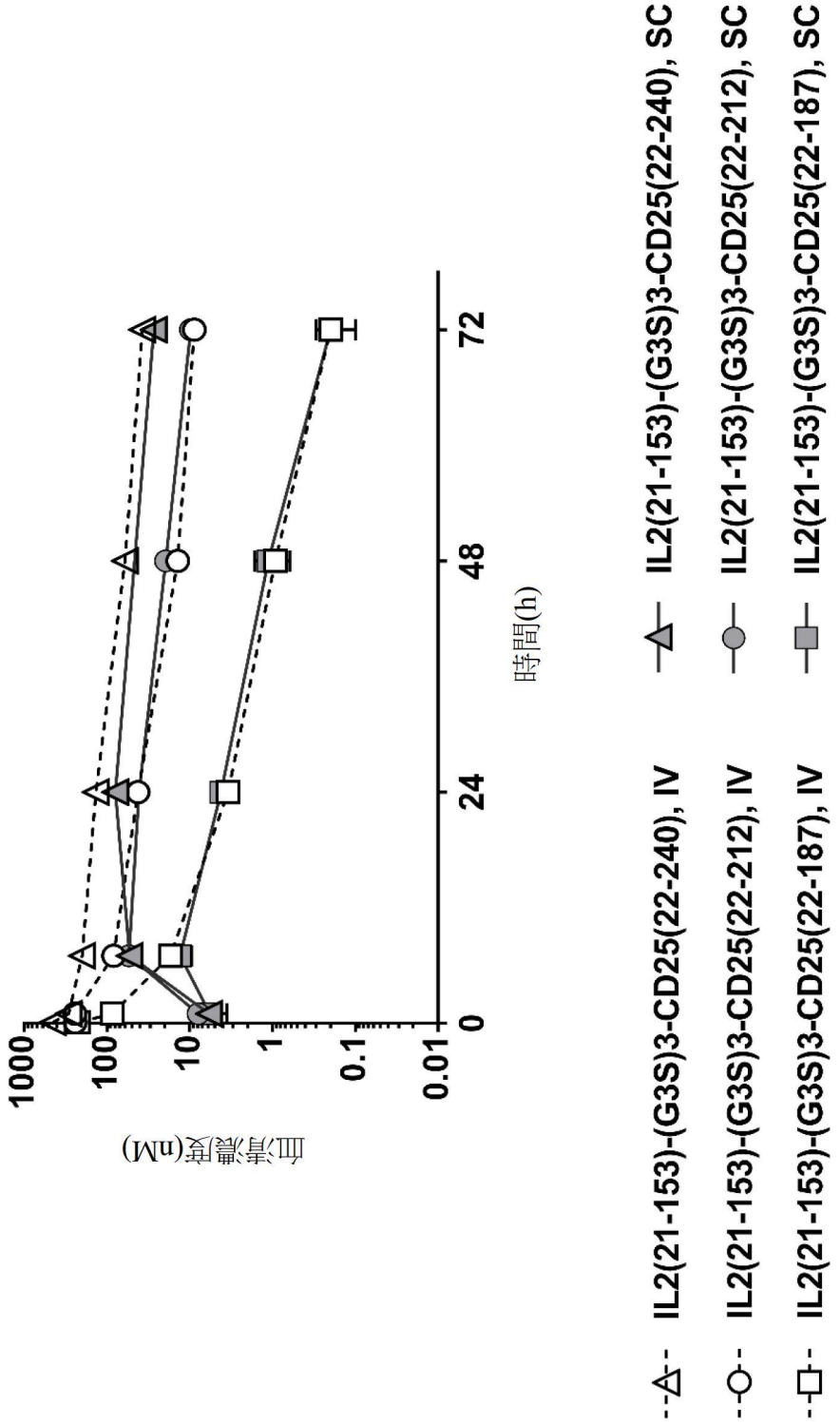
【發明圖式】


93kDa
莫耳質量(g/mol)
1.0x10^5
9.0x10^4
8.0x10^4
7.0x10^4
6.0x10^4
5.0x10^4
14.5
15.0
15.5
16.0
16.5
時間(min)

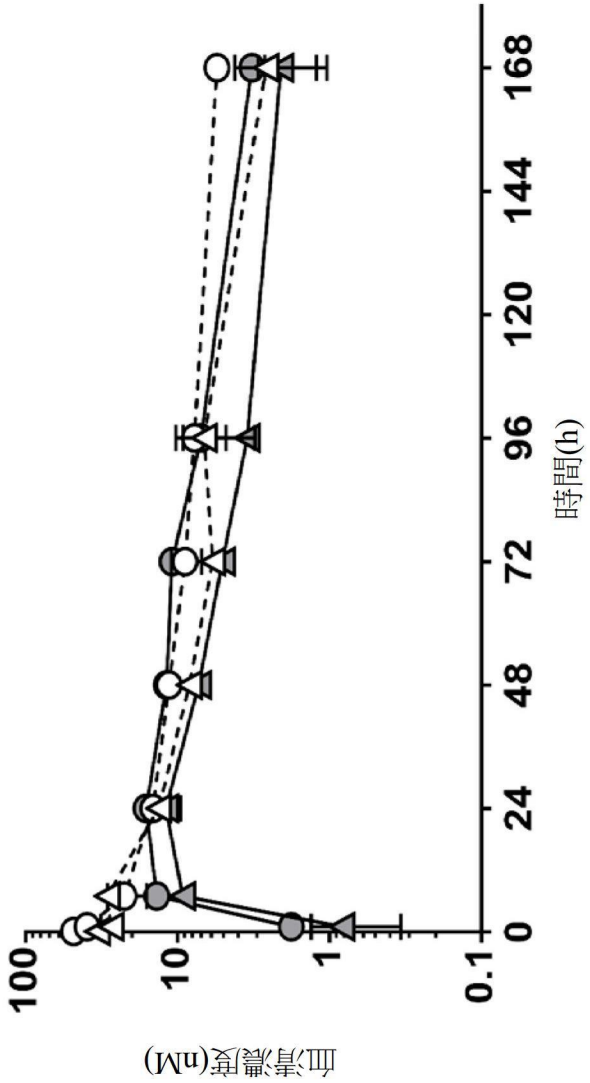
【圖1】



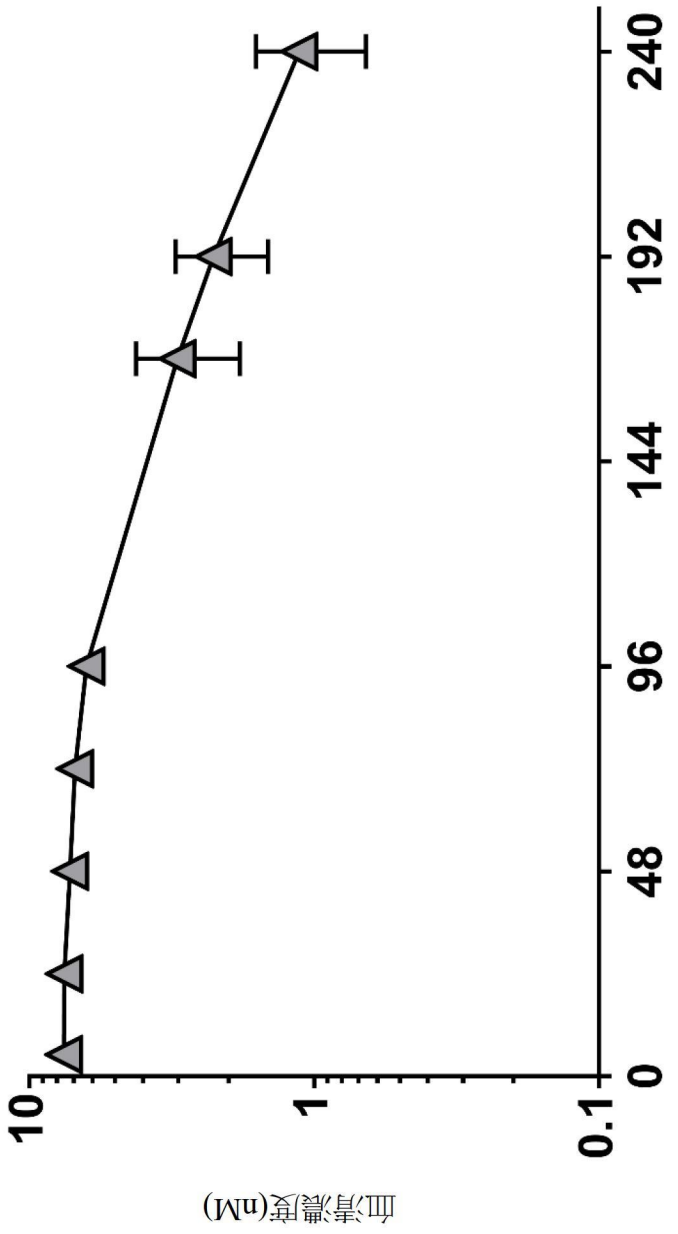
【圖2】


血清濃度(nM)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
24
48
72
時間(h)
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187), SC

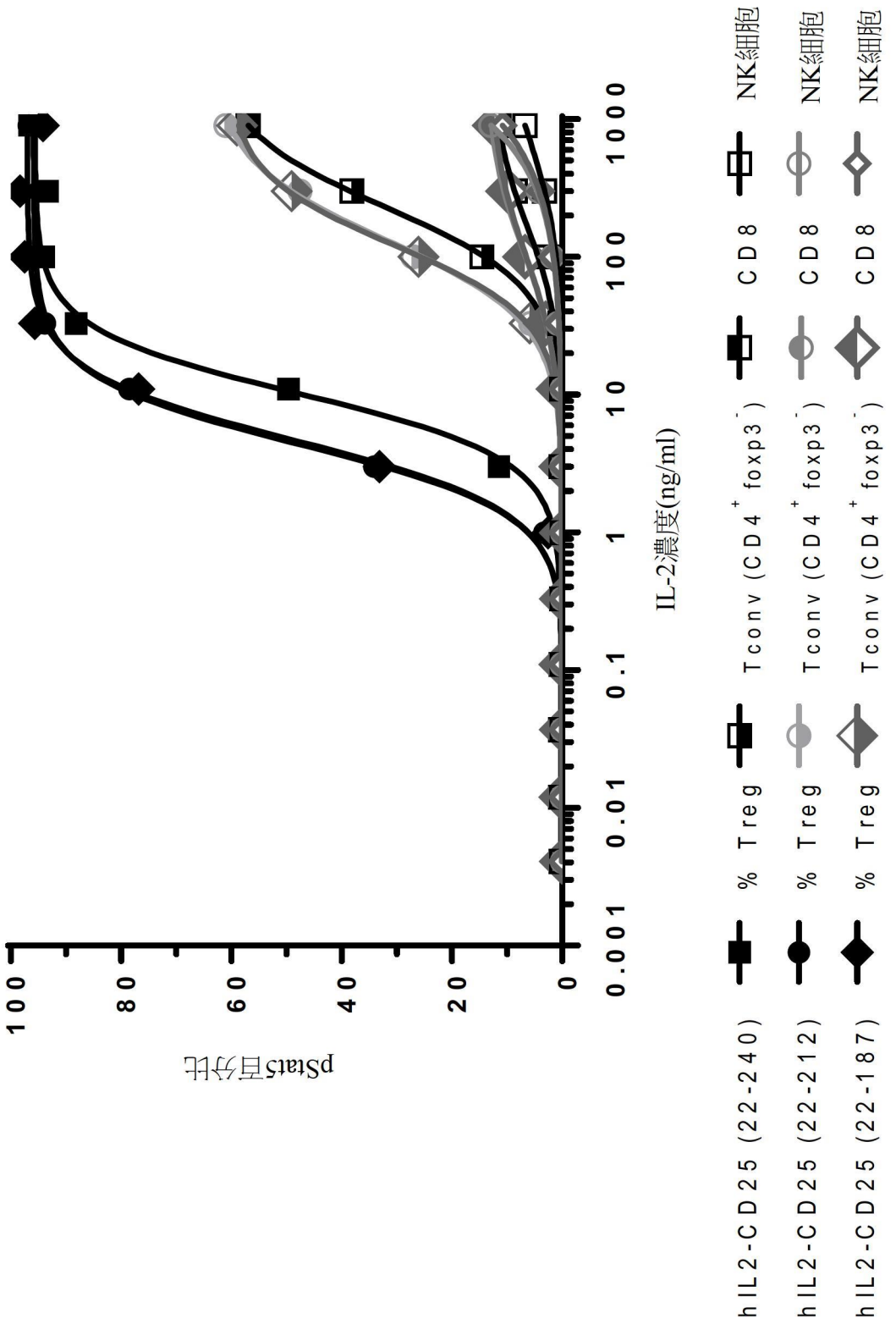
【圖3】


血清濃度(nM)
100
10
1
0.1
0
24
48
72
96
120
144
168
時間(h)
Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1, IV
Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1, SC

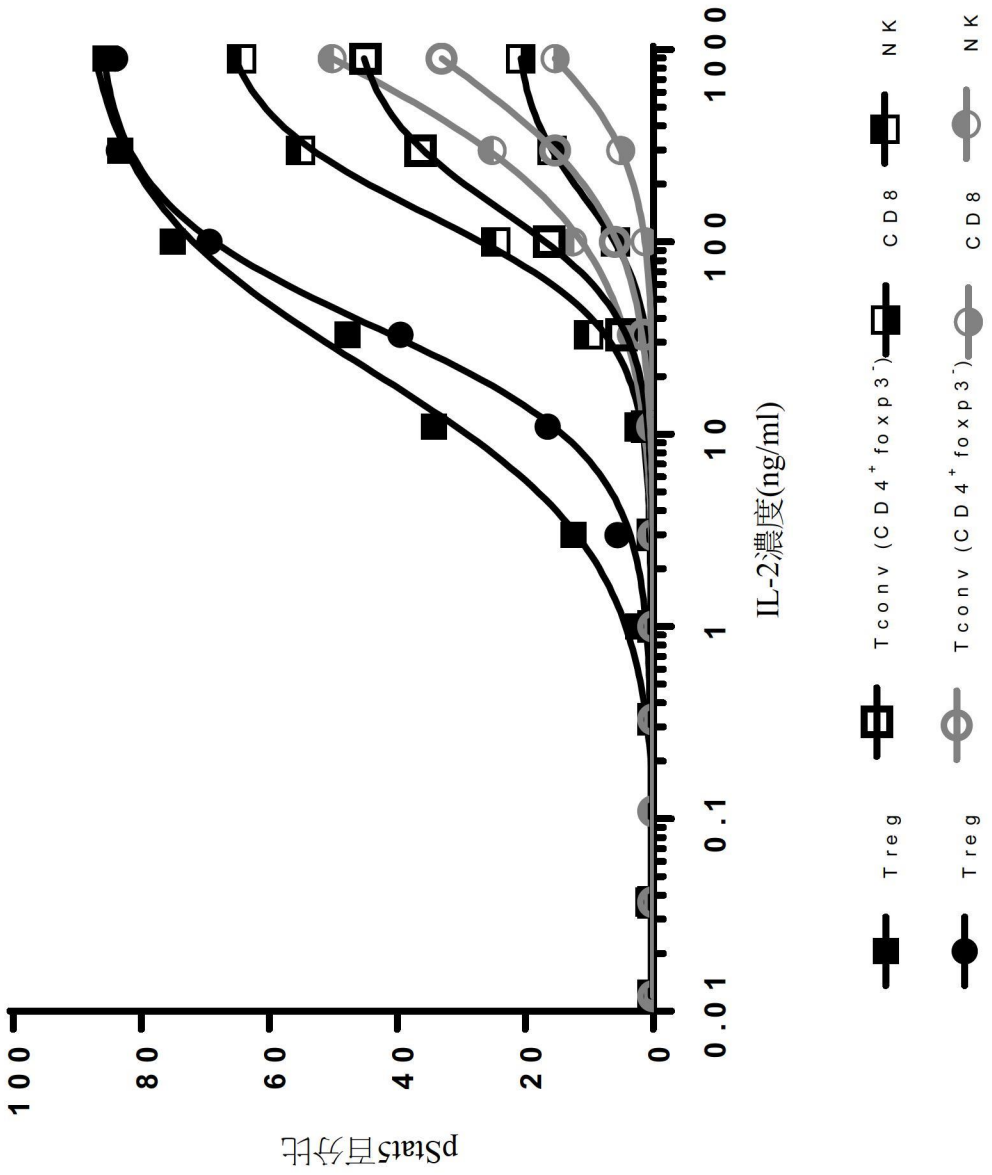
【圖4】


血清濃度(nM)
10
1
0.1
0
48
96
144
192
240
時間(h)
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC

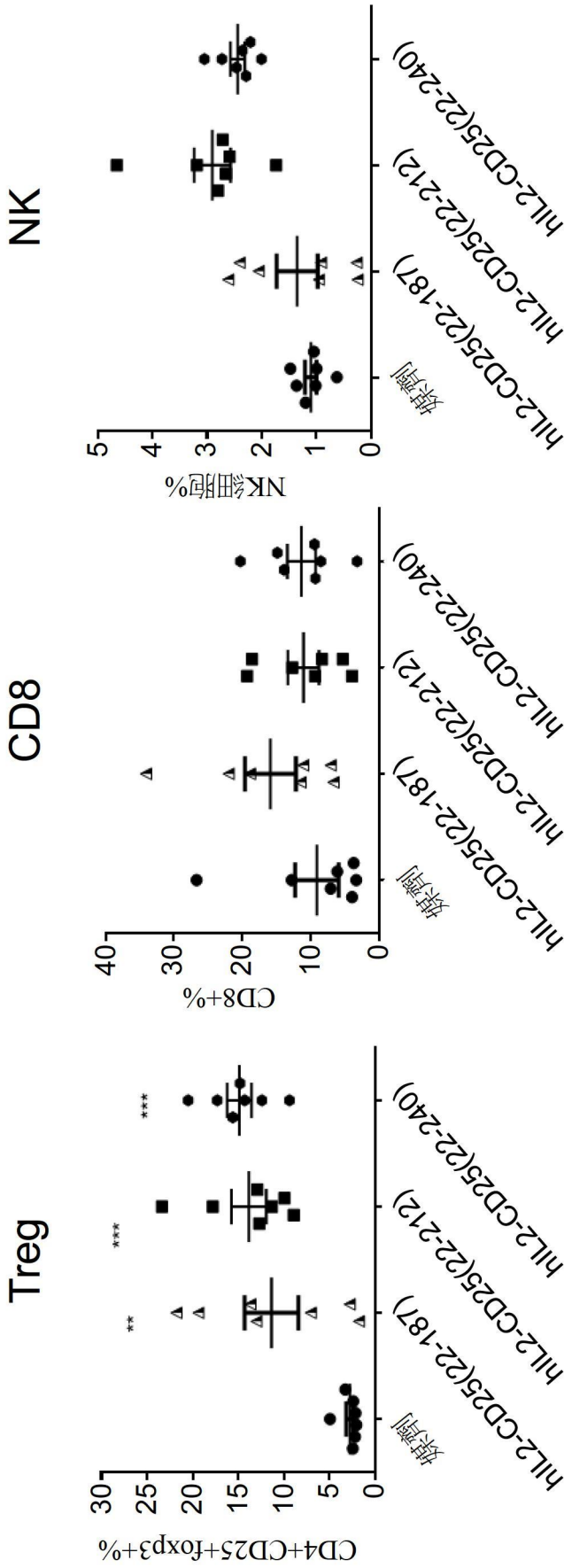
【圖5】


pStat5百分比
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2濃度(ng/ml)
hIL2-CD25 (22-240)
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK細胞
hIL2-CD25 (22-212)
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK細胞
hIL2-CD25 (22-187)
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK細胞

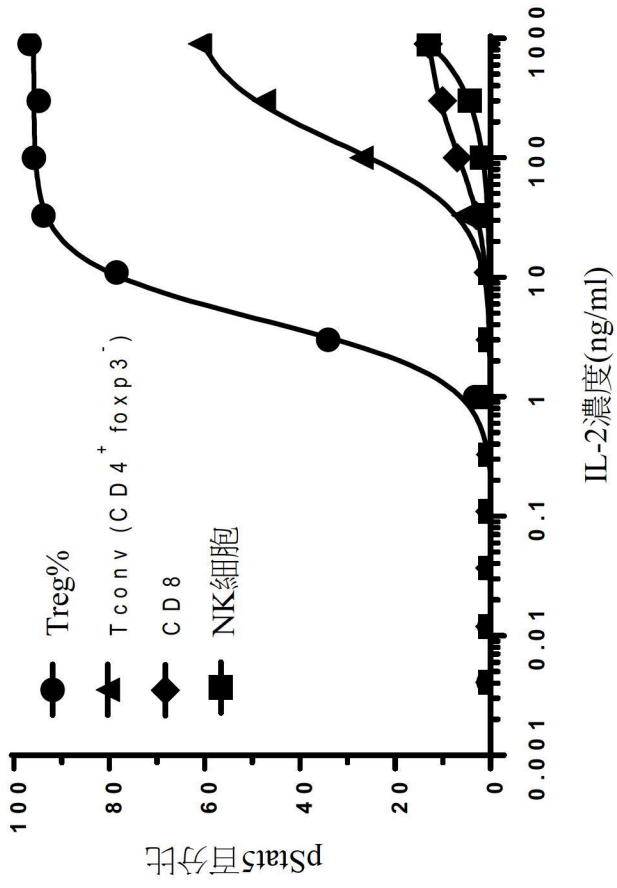
【圖6】


pStat5百分比
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2濃度(ng/ml)
Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK
Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK

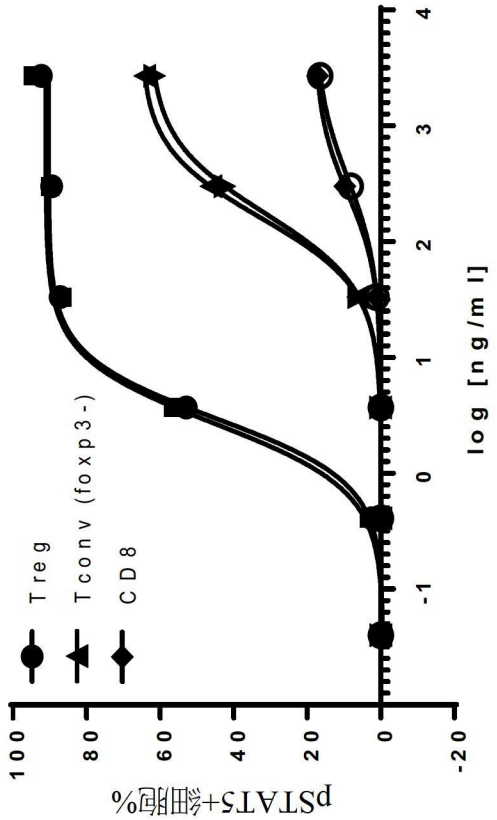
【圖7】


Treg
CD4+CD25+foxp3+%
0
5
10
15
20
25
30
**
***
***
媒劑
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)
CD8
CD8+%
0
10
20
30
40
媒劑
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)
NK
NK細胞%
0
1
2
3
4
5
媒劑
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)

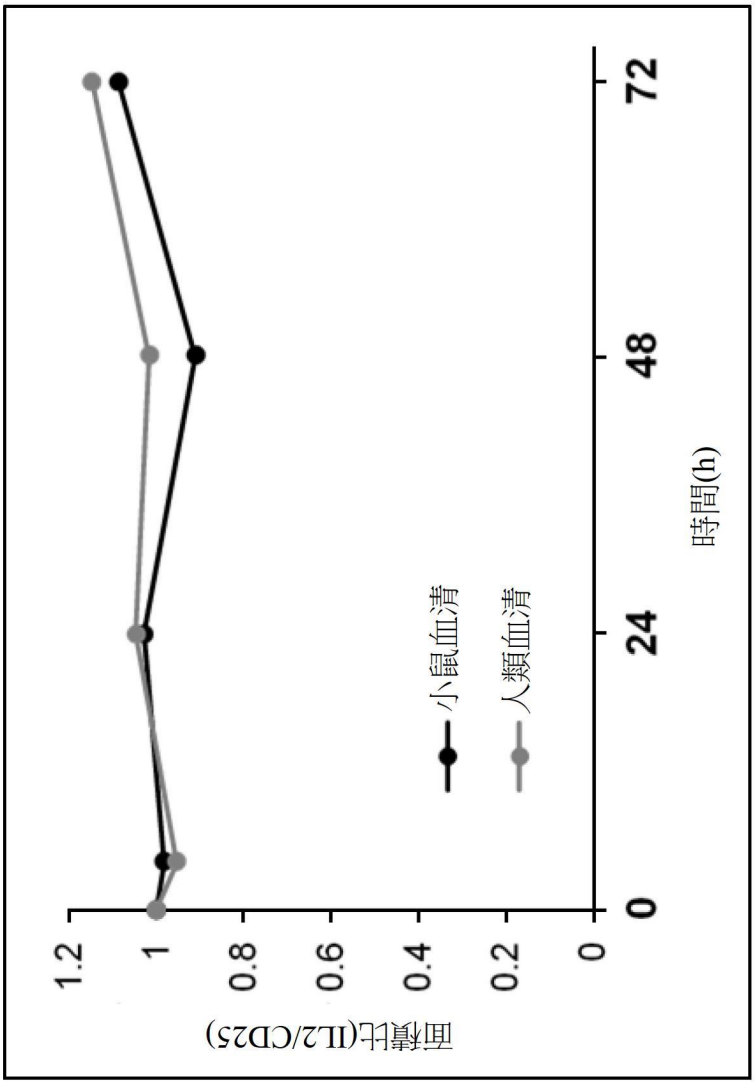
【圖8A】 【圖8B】 【圖8C】


pStat5百分比
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2濃度(ng/ml)
Treg%
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK細胞

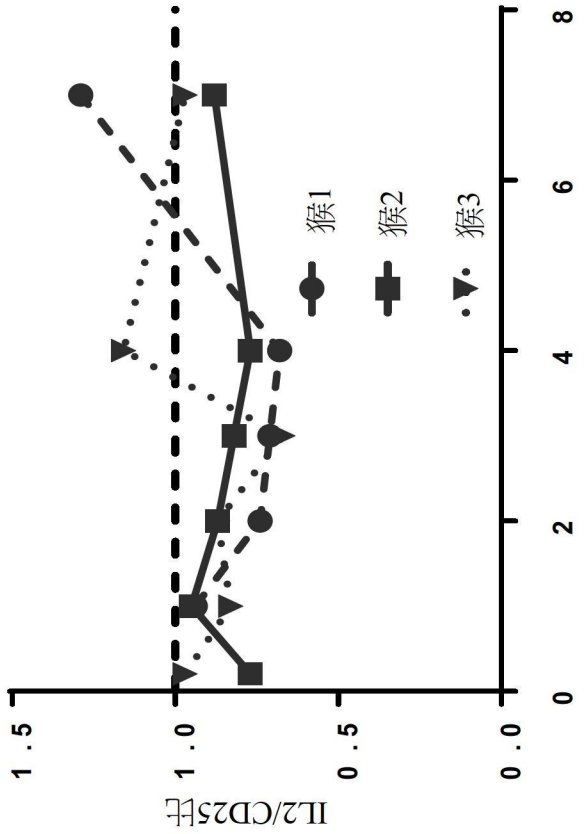
【圖9A】


pSTAT5+細胞%
100
80
60
40
20
0
-20
-1
0
1
2
3
4
log [ng/ml]
Treg
Tconv (foxp3-)
CD8

【圖9B】



【圖10】



【圖11】