(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 112154153 B
(45)授权公告日 2025.05.23

(21)申请号 201980033780.0
(22)申请日 2019.03.27
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112154153 A
(43)申请公布日 2020.12.29
(30)优先权数据
62/649,379 2018.03.28 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.11.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/024376 2019.03.27
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/191295 EN 2019.10.03

(73)专利权人 百时美施贵宝公司
地址 美国新泽西州
(72)发明人 M·斯特拉瑟斯 J·H·戴维斯
M·L·道尔 P·A·马迪亚
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51)Int.Cl.
C07K 14/55(2006.01)
C07K 14/715(2006.01)
A61K 38/20(2006.01)
(56)对比文件
WO 2016022671 A1,2016.02.11
审查员 吕丽珊

权利要求书3页 说明书94页
序列表166页 附图12页

(54)发明名称

白介素-2/白介素-2受体α融合蛋白以及使用方法

(57)摘要

本文公开了融合蛋白,其包含:(a)包含白介素-2(IL2)的第一多肽;和(b)与所述第一多肽框内融合的第二多肽,其中所述第二多肽包含白介素-2受体α(IL2Rα)的胞外结构域,其中IL2或IL2Rα与天然IL2或天然IL2Rα相比,包含至少少一个糖基化位点。还公开了所述融合蛋白的生产方法和治疗使用的方法。

CN 112154153 B

1.一种融合蛋白,其组成为:

(a) 包含白介素-2即IL2多肽的第一多肽,其中所述第一多肽由SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列组成;和

(b)包含白介素-2受体α即IL2Rα多肽的胞外结构域的第二多肽,其中所述第二多肽由SEQ ID NO: 12所示的氨基酸序列组成;

其中所述IL2Rα多肽的胞外结构域不包括如SEQ ID NO: 7所示的天然IL2Rα的胞外结构域的C末端部分的氨基酸192-219;

其中所述融合蛋白在所述第一多肽和第二多肽之间包含接头,其中所述第一多肽在所述第二多肽的N端侧;并且

其中所述融合蛋白具有IL2活性。

2.根据权利要求1所述的融合蛋白,其中将所述融合蛋白进行酶去糖基化或化学去糖基化。

3.根据权利要求2所述的融合蛋白,其中将所述融合蛋白通过碱、肼解、PNG酶F、Endo H、O-糖苷酶或其任何组合进行去糖基化。

4.根据权利要求1所述的融合蛋白,其中所述接头是甘氨酸/丝氨酸接头。

5.根据权利要求4所述的融合蛋白,其中所述甘氨酸/丝氨酸接头包含$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GGGS)_n$、$(GGGGS)_n$或$(GGGGS)_n$的氨基酸序列,其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

6.根据权利要求4所述的融合蛋白,其中所述甘氨酸/丝氨酸接头包含$(GGGS)_3$的氨基酸序列。

7.根据权利要求1所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白包含如SEQ ID NO: 16中所示的氨基酸序列。

8.根据权利要求7所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白由如SEQ ID NO: 16中所示的氨基酸序列组成。

9.一种融合蛋白,其包含权利要求1所述的融合蛋白和进一步包含与所述第一多肽和/或所述第二多肽融合的异源部分,其中所述异源部分包含异源多肽或非多肽部分。

10.根据权利要求9所述的融合蛋白,其中所述异源部分是半衰期延长部分。

11.根据权利要求9所述的融合蛋白,其中所述异源部分包含非多肽部分。

12.根据权利要求9所述的融合蛋白,其中所述异源部分包含多肽。

13.根据权利要求9所述的融合蛋白,其中所述异源部分包含白蛋白、免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G(IgG)、白蛋白结合多肽、PAS化(PASylation)部分、HES化(HESylation)部分、XTEN、PEG化部分、Fc区或其任何组合。

14.根据权利要求1所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白比由如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 13中所示的氨基酸序列组成的多肽更稳定。

15.根据权利要求14所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有一种或多种选自以下的特性:(i) 与参考蛋白相比,热力学稳定性增加;(ii) 与参考蛋白相比,TM增加;(iii) 与参考蛋白相比,抗降解性增强;(iv) 与参考蛋白相比,抗修饰性增强;(v) 与参考蛋白相比,体内稳定性增加;以及(vi) 其任何组合,其中所述参考蛋白包含 (a) 包含白介素-2(IL2)多肽的第一多肽;和 (b) 包含白介素-2受体α(IL2Rα)多肽的胞外结构域的第二多肽;并且所述参考蛋白与所述融合蛋白相比至少多一个糖基化。

16.根据权利要求1所述的融合蛋白,其为单体。

17.根据权利要求1所述的融合蛋白,其为二聚体。

18.根据权利要求17所述的融合蛋白,其中所述二聚体包含两个单体,并且所述单体经由共价键彼此缔合。

19.根据权利要求17所述的融合蛋白,其中所述二聚体包含两个单体,并且所述单体经由非共价键缔合。

20.根据权利要求1所述的融合蛋白,与由如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 13中所示的氨基酸序列组成的多肽的药代动力学特性相比,所述融合蛋白具有一种或多种选自以下的药代动力学特性:增加的半衰期、增加的C_{max}、增加的AUC、增加的C_{min}、减少的清除率、提高的生物利用度及其任何组合。

21.根据权利要求20所述的融合蛋白,其具有延长的半衰期。

22.根据权利要求21所述的融合蛋白,其中与由如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 13中所示的氨基酸序列组成的多肽的半衰期相比,所述延长的半衰期为至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍、至少20倍、至少21倍或至少22倍。

23.一种组合物,其包含根据权利要求16所述的融合蛋白和根据权利要求17所述的融合蛋白。

24.一种核酸,其编码根据权利要求1至22中任一项所述的融合蛋白。

25.一种载体,其包含根据权利要求24所述的核酸。

26.一种宿主细胞,其包含根据权利要求24所述的核酸。

27.根据权利要求26所述的宿主细胞,其是真核细胞。

28.根据权利要求26所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞选自哺乳动物细胞、昆虫细胞、和酵母细胞。

29.根据权利要求28所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞是哺乳动物细胞。

30.根据权利要求26所述的宿主细胞,其是原核细胞。

31.根据权利要求30所述的宿主细胞,其中所述原核细胞是细菌细胞。

32.一种药物组合物,其包含 (a) 根据权利要求1至22中任一项所述的融合蛋白;以及(b) 药学上可接受的赋形剂。

33.一种试剂盒,其包含根据权利要求1至22中任一项所述的融合蛋白,以及向有需要的受试者给予所述融合蛋白的说明书。

34.一种生产融合蛋白的方法,其包括:在合适的条件下培养根据权利要求26所述的宿主细胞,并且回收所述融合蛋白。

35.根据权利要求34所述的方法,其中所述宿主细胞是真核细胞或原核细胞。

36.根据权利要求34所述的方法,其中所述宿主细胞是哺乳动物细胞、昆虫细胞或真菌细胞。

37.根据权利要求34所述的方法,其中所述宿主细胞选自CHO细胞、HEK 293细胞、NSO细胞、Per C6细胞、BHK细胞和COS细胞。

38.根据权利要求34所述的方法,其中所述宿主细胞是细菌细胞。

39.根据权利要求38所述的宿主细胞,其中所述细菌细胞是大肠杆菌(*Escherichia coli*)。

40.根据权利要求36所述的方法,其中所述宿主细胞是转基因哺乳动物细胞。

41.根据权利要求29所述的细胞,其中所述宿主细胞是转基因哺乳动物细胞。

白介素-2/白介素-2受体α融合蛋白以及使用方法

[0001] 1.相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年3月28日提交的美国临时申请号62/649,379的权益,将其通过引用以其整体并入本文。

[0003] 2.经由EFS-WEB电子提交的序列表的引用

[0004] 与本申请一起提交的ASCII文本文件(名称:3338_100PC01_Seqlisting_ST25.txt;大小:354,542字节;以及创建日期:2019年3月27日)中电子提交的序列表的内容通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0005] 本文公开的主题总体上涉及采用白介素-2/白介素-2受体α融合蛋白来调节免疫应答的方法和组合物。

背景技术

[0006] 白介素-2(IL2或IL-2)是一种调节免疫系统的关键方面的生物细胞因子。IL2已经用于尝试增强患有癌症、炎性疾病或自身免疫疾病的患者的免疫应答。IL2是有效的T细胞生长因子,其促进免疫应答(包括抗原激活的T细胞的克隆扩增),驱动CD4+T辅助(Th)1和Th2细胞的发育,最终使得CD8+细胞毒性T淋巴细胞(CTL)分化,并且阻止CD4+Th17和T卵泡辅助细胞(Tfh)的发育。IL2还影响T细胞记忆的回忆应答。

[0007] 临床试验通过输注高剂量的IL2(通常>500,000单位/kg,反复多次)来增强T细胞和NK细胞,从而利用IL2在患有癌症和HIV/AIDS的患者中的T细胞激活特性。确实,IL2已经被FDA批准用于患有黑色素瘤和肾细胞癌的患者,因为其中一些患者(约5%)展现出完全缓解。然而,在这些和其他癌症中反应率很低,并且此疗法伴随着严重的毒性。同样,IL2被认为在HIV/AIDS患者中增强免疫力是无效的。在这些情况下,高剂量IL2的功效较差,部分是因为伴随着Treg的扩增。

[0008] 最近,已经将较低剂量的IL2用于选择性地增强耐受性,以抑制与自身组织的自身免疫样攻击相关的不需要的免疫应答。这些低剂量的IL2尚未显示出任何增强或重新激活自身反应性T细胞的迹象。临床前研究显示,低IL2R信号传导选择性地促进了Treg的关键活性,但是不能促进T效应(Teff)细胞的关键活性,并且显示用低水平IL2对小鼠的治疗防止了自身免疫。当前,已经用低剂量IL2(0.5-2百万单位,定期)治疗了许多具有过度免疫应答的患者。迄今为止的经验是,此疗法是安全的,没有迹象表明自身攻击性T细胞的重新激活,而几乎在所有患者中,Treg均升高,这通常伴随着临床改善。然而,IL2作为治疗剂具有重要的缺点,包括在体内的半衰期非常短(这限制了它的功效)以及高剂量时的毒性。由于这些原因,需要具有改善的药代动力学和应答持久性以便使用的新IL2生物制剂。

发明内容

[0009] 本公开文本包括融合蛋白,所述融合蛋白包含:(a)包含白介素-2(IL2)多肽的第

一多肽;和(b)包含白介素-2受体α(IL2Rα)多肽的胞外结构域的第二多肽;其中(i)与天然IL2Rα的胞外结构域(SEQ ID NO:7)相比,所述IL2Rα多肽的胞外结构域至少少一个糖基化;和/或(ii)与天然IL2(SEQ ID NO:2)相比,所述IL2多肽至少少一个糖基化;并且其中所述融合蛋白具有IL2活性。在一些实施方案中,与天然IL2Rα的胞外结构域(SEQ ID NO:7)相比,所述IL2Rα多肽的胞外结构域至少少一个糖基化、至少少两个糖基化、至少少三个糖基化、至少少四个糖基化、至少少五个糖基化、至少少六个糖基化、至少少七个糖基化、至少少八个糖基化或至少少九个糖基化。在一些实施方案中,与天然IL2(SEQ ID NO:2)相比,所述IL2多肽至少少一个糖基化。

[0010] 在一些实施方案中,所述融合蛋白包含第一多肽,其中所述第一多肽包含与SEQ ID NO:2至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述融合蛋白包含第二多肽,其中所述第二多肽包含与SEQ ID NO:12至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%相同的氨基酸序列。

[0011] 在一些实施方案中,至少少一个糖基化的IL2Rα多肽的胞外结构域包含去除糖基化的突变。在一些实施方案中,所述突变去除O-糖基化和/或N-糖基化。在一些实施方案中,所述突变去除O-糖基化。在一些实施方案中,所述突变去除N-糖基化。

[0012] 在一些实施方案中,IL2Rα多肽的胞外结构域中的突变是对应于SEQ ID NO:7的氨基酸167至219、氨基酸168至219、氨基酸169至219、氨基酸170至219、氨基酸171至219、氨基酸172至219、氨基酸173至219、氨基酸174至219、氨基酸175至219、氨基酸176至219、氨基酸177至219、氨基酸178至219、氨基酸179至219、氨基酸180至219、氨基酸181至219、氨基酸182至219、氨基酸183至219、氨基酸184至219、氨基酸185至219、氨基酸186至219、氨基酸187至219、氨基酸188至219、氨基酸189至219、氨基酸190至219、氨基酸191至219或氨基酸192至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是对应于SEQ ID NO:7的从167、169、171直到192至219的氨基酸的缺失。在一些实施方案中,所述突变不包括对应于SEQ ID NO:7的170至219的缺失。在一些实施方案中,所述第二多肽是SEQ ID NO:11。在一些实施方案中,所述第二多肽是SEQ ID NO:12。

[0013] 在一些实施方案中,所述突变是用未糖基化的氨基酸对糖基化的氨基酸的一个或多个取代。在一些实施方案中,所述突变是用在附近氨基酸处不允许糖基化的氨基酸对在附近氨基酸处允许糖基化的氨基酸的一个或多个取代。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是在氨基酸N49、氨基酸N68、氨基酸T74、氨基酸T85、氨基酸T197、氨基酸T203、氨基酸T208和氨基酸T216或其任何组合处,其中所述氨基酸位置对应于SEQ ID NO:7。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从天冬酰胺到选自以下的氨基酸:丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从苏氨酸到选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0014] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸N49。在一些实施方案中,N49突变

为选自以下的氨基酸:丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0015] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸N68。在一些实施方案中,N68突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0016] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T74。在一些实施方案中,T74突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0017] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T85。在一些实施方案中,T85突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0018] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T197。在一些实施方案中,T197突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0019] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T203。在一些实施方案中,T203突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0020] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T208。在一些实施方案中,T208突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0021] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T216。在一些实施方案中,T216突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0022] 在一些实施方案中,所述一个或多个取代是在氨基酸S50、氨基酸S51、氨基酸T69、氨基酸T70、氨基酸C192或其任何组合处,其中所述氨基酸位置对应于SEQ ID NO:7。

[0023] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是在氨基酸S50处。在一些实施方案中,S50突变为脯氨酸。

[0024] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸S51。在一些实施方案中,S51突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0025] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T69。在一些实施方案中,T69突变为脯氨酸。

[0026] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸T70。在一些实施方案中,T70突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0027] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是氨基酸C192。在一些实施方案中,C192突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0028] 在一些实施方案中,至少少一个糖基化的IL2多肽包含去除糖基化的突变。在一些实施方案中,所述突变是用未糖基化的氨基酸对糖基化的氨基酸的一个或多个取代。在一些实施方案中,所述突变是用在附近氨基酸处不允许糖基化的氨基酸对在附近氨基酸处允许糖基化的氨基酸的一个或多个取代。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从丙氨酸到选自以下的氨基酸:精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从苏氨酸到选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从半胱氨酸到选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从半胱氨酸到丝氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从半胱氨酸到丙氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从半胱氨酸到缬氨酸。

[0029] 在一些实施方案中,与对应于SEQ ID NO:2相比,所述一个或多个取代是在氨基酸T3处。在一些实施方案中,所述取代中的一个是在氨基酸C125处。在一些实施方案中,所述氨基酸C125处的取代选自C125S、C125A和C125V。

[0030] 在一些实施方案中,所述突变是缺失。在一些实施方案中,所述缺失是在氨基酸A1处。

[0031] 在一些实施方案中,将所述融合蛋白进行酶去糖基化或化学去糖基化。在一些实施方案中,将所述融合蛋白通过碱、肼解、PNG酶F、Endo H、O-糖苷酶或其任何组合进行去糖基化。

[0032] 在一些实施方案中,所述融合蛋白进一步包含在第一多肽与第二多肽之间的框内融合的接头。在一些实施方案中,所述接头是甘氨酸/丝氨酸接头。在一些实施方案中,所述甘氨酸/丝氨酸接头包含$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GGGS)_n$、$(GGGGS)_n$或$(GGGGS)_n$的氨基酸序列,其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。在一些实施方案中,所述甘氨酸/丝氨酸接头包含$(GGGS)_3$的氨基酸序列。

[0033] 在一些实施方案中,所述融合蛋白进一步包含与第一多肽和/或第二多肽融合的异源部分。在一些实施方案中,所述异源部分是半衰期延长部分。在一些实施方案中,所述

异源部分包含非多肽部分。在一些实施方案中,所述异源部分包含多肽。在一些实施方案中,所述异源部分包含白蛋白、免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G(IgG)、白蛋白结合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc区及其任何组合。

[0034] 在一些实施方案中,所述融合蛋白比由SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:13组成的多肽更稳定。在一些实施方案中,所述融合蛋白具有一种或多种选自以下的特性:(i)与参考蛋白相比,热力学稳定性增加;(ii)与参考蛋白相比,TM增加;(iii)与参考蛋白相比,抗降解性增强;(iv)与参考蛋白相比,抗修饰性增强;(v)与参考蛋白相比,体内稳定性增加;以及(vi)其任何组合,其中所述参考蛋白包含(i)包含白介素-2(IL2)多肽的第一多肽;和(b)包含白介素-2受体α(IL2Rα)多肽的胞外结构域的第二多肽;并且所述参考蛋白与所述融合蛋白相比至少少一个糖基化。

[0035] 在一些实施方案中,所述融合蛋白是单体。在一些实施方案中,所述融合蛋白是二聚体。在一些实施方案中,所述二聚体包含两个单体,并且所述单体经由共价键彼此缔合。在一些实施方案中,所述二聚体包含两个单体,并且所述单体经由非共价键缔合。

[0036] 在一些实施方案中,与由SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:13组成的多肽的药代动力学特性相比,所述融合蛋白具有一种或多种选自以下的药代动力学特性:增加的半衰期、增加的C_{max}、增加的AUC、增加的C_{min}、减少的清除率、提高的生物利用度及其任何组合。在一些实施方案中,所述融合蛋白具有延长的半衰期。在一些实施方案中,与由SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:13组成的多肽的半衰期相比,所述延长的半衰期为至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约11倍、至少约12倍、至少约13倍、至少约14倍、至少约15倍、至少约16倍、至少约17倍、至少约18倍、至少约19倍、至少约20倍、至少约21倍或至少约22倍。

[0037] 在一些实施方案中,本文公开了一种或多种融合蛋白。在一些实施方案中,本文提供了包含一种或多种本文公开的融合蛋白的组合物。

[0038] 在一些实施方案中,本文公开了编码本文公开的任何一种融合蛋白的核酸。在一些实施方案中,本文公开了包含编码本文公开的任何一种融合蛋白的核酸的载体。在一些实施方案中,本文公开了包含编码本文公开的任何一种融合蛋白的核酸的宿主细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞是真核细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞选自哺乳动物细胞、昆虫细胞、酵母细胞、转基因哺乳动物细胞和植物细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞是原核细胞。在一些实施方案中,所述原核细胞是细菌细胞。

[0039] 在一些实施方案中,本文提供了一种药物组合物,其包含(a)本文公开的融合蛋白、本文公开的组合物、本文公开的核酸、本文公开的载体或本文公开的宿主细胞;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0040] 在一些实施方案中,本文提供了一种试剂盒,其包含本文公开的融合蛋白、本文公开的组合物、本文公开的核酸、本文公开的载体或本文公开的宿主细胞,以及向有需要的受试者给予所述融合蛋白的说明书。

[0041] 在一些实施方案中,本文提供了一种生产本文公开的融合蛋白的方法,其包括:在合适的条件下培养本文公开的宿主细胞并且回收融合蛋白。在一些实施方案中,所述宿主

细胞是真核细胞或原核细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞是哺乳动物细胞、昆虫细胞、真菌细胞、植物细胞、转基因哺乳动物细胞或细菌细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞选自CHO细胞、HEK 293细胞、NS0细胞、Per C6细胞、BHK细胞和COS细胞。在一些实施方案中,所述细菌细胞是大肠杆菌(Escherichia coli)。

[0042] 在一些实施方案中,本文提供了一种治疗有需要的受试者的疾病或障碍的方法,其包括向所述受试者给予有效量的本文公开的融合蛋白、本文公开的组合物、本文公开的核酸、本文公开的载体、本文公开的宿主细胞或本文公开的药物组合物。在一些实施方案中,所述疾病或障碍是癌症。在一些实施方案中,所述癌症是膀胱癌、乳腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、卵巢癌、结直肠癌、结肠癌、头颈癌、肺癌、胃癌、生殖细胞癌、骨癌、鳞状细胞癌、皮肤癌、中枢神经系统肿瘤、淋巴瘤、白血病、肉瘤、病毒相关癌症、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠癌、霍奇金或非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、骨髓瘤、唾液腺癌、肾癌、基底细胞癌、黑色素瘤、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、睾丸癌、食道癌、或头颈癌及其任何组合。

[0043] 在一些实施方案中,所述疾病或障碍是炎性疾病或自身免疫疾病。在一些实施方案中,所述炎性疾病或自身免疫疾病选自:1型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、乳糜泻、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、皮肤狼疮、幼年特发性关节炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎或系统性硬化病、移植物抗宿主病、银屑病、斑秃、HCV诱导的血管炎、舍格伦综合征、天疱疮、强直性脊柱炎、白塞病、韦格纳肉芽肿病、高安病、自身免疫性肝炎、硬化性胆管炎、古-斯综合征(Gougerot-sjögren)和巨噬细胞激活综合征。

[0044] 在一些实施方案中,所述疾病或障碍是感染性疾病。在一些实施方案中,所述感染性疾病是由致病性病毒引起的。在一些实施方案中,所述致病性病毒选自人类免疫缺陷病毒(HIV)、甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、疱疹病毒、腺病毒、流感病毒、黄病毒、埃可病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒、冠状病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、痘苗病毒(vaccinia virus)、人类嗜T淋巴细胞病毒(HTL)、登革病毒、乳头瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病毒、约翰·坎宁安(JC)病毒和虫媒病毒性脑炎病毒。在一些实施方案中,所述感染性疾病是由致病性细菌引起的。在一些实施方案中,所述致病性细菌选自衣原体属(chlamydia)、立克次体属细菌(rickettsial bacteria)、分枝杆菌属(mycobacteria)、葡萄球菌属(staphylococci)、链球菌属(streptococci)、肺炎球菌(pneumonococci)、脑膜炎球菌(meningococci)和淋球菌(gonococci)、克雷伯菌属(klebsiella)、变形杆菌属(proteus)、沙雷菌属(serratia)、假单胞菌属(pseudomonas)、军团菌属(legionella)、白喉、沙门氏菌属(salmonella)、芽孢杆菌属(bacilli)、霍乱、破伤风、肉毒中毒、炭疽、鼠疫、钩端螺旋体病和莱姆病细菌。在一些实施方案中,所述感染性疾病是由致病性真菌引起的。在一些实施方案中,所述致病性细菌选自念珠菌属(Candida)(白色念珠菌(albicans)、克柔念珠菌(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、热带念珠菌(tropicalis)等)、新型隐球菌(Cryptococcus neoformans)、曲霉属(Aspergillus)(烟曲霉(fumigatus)、黑曲霉(niger)等)、属毛霉目(Genus Mucorales)(毛霉属(mucor)、犁头霉属(absidia)、根霉属(rhizopus))、申克孢子丝菌(Sporothrix schenkii)、皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、巴西副球孢子菌(Paracoccidioides brasiliensis)、粗球孢子菌(Coccidioidesimmitis)和荚膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)。在一些实

施方案中,所述感染性疾病是由致病性寄生虫引起的。在一些实施方案中,所述致病性寄生虫选自溶组织内阿米巴(Entamoeba histolytica)、结肠小袋纤毛虫(Balantidium coli)、福氏耐格里阿米巴(Naegleriafowleri)、棘阿米巴属物种(Acanthamoeba sp.)、蓝氏贾第虫(Giardia lambia)、隐孢子虫属物种(Cryptosporidium sp.)、卡氏肺孢子虫(Pneumocystis carinii)、间日疟原虫(Plasmodium vivax)、微小巴贝虫(Babesia microti)、布氏锥虫(Trypanosoma brucei)、克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)、杜氏利什曼原虫(Leishmania donovani)、刚地弓形虫(Toxoplasma gondii)和巴西日圆线虫(Nippostrongylus brasiliensis)。

[0045] 在一些实施方案中,本文公开的方法进一步包括向所述受试者给予第二药剂。在一些实施方案中,所述第二药剂是PD-1拮抗剂、CTLA-4拮抗剂、TIM3拮抗剂、GITR拮抗剂、KIR拮抗剂、LAG3拮抗剂或其任何组合。在一些实施方案中,所述第二药剂是抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIM3抗体、抗KIR抗体、抗GITR抗体、抗LAG3抗体或其任何组合。在一些实施方案中,所述第二药剂是细胞因子抑制剂。在一些实施方案中,所述细胞因子抑制剂靶向IL-6、IL-10、TGF-β、VEGF、IFN-γ或其任何组合中的一种或多种。

[0046] 在一些实施方案中,将所述融合蛋白经由局部、表皮粘膜、鼻内、口服、阴道、直肠、舌下、局部、静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴内、病灶内、囊内、眼眶内、心内、皮内、经气管、皮下、角质层下、关节内、囊下、蛛网膜下腔、脊柱内、硬膜外或胸骨内途径给予。

附图说明

[0047] 图1显示,如通过SEC/MALS静态光散射测量的,SEQ ID NO:16的分子量为93kDa。单独的多肽链的理论质量减少了37,812Da。观察到的溶液质量表明,由于糖基化,它以具有约质量的19%的均质同二聚体形式存在。

[0048] 图2示出了使用表面等离子体共振测量得到的IL2-CD25融合蛋白(SEQ ID NO:16)与人sCD25的原型结合。

[0049] 图3示出了在0.5mg/kg单次静脉内(IV)或皮下(SC)剂量后,Balb/C小鼠中所指示的融合蛋白的血清浓度-时间曲线。每个时间点代表来自3只小鼠的样品的平均值。误差条代表标准偏差。

[0050] 图4示出了在0.5mg/kg单次静脉内(IV)或皮下(SC)剂量后,Balb/C小鼠中所指示的融合蛋白的血清浓度-时间曲线。每个时间点代表来自3只小鼠的样品的平均值。误差条代表标准偏差。

[0051] 图5示出了在0.075mg/kg单次皮下(SC)剂量后,食蟹猴中hIL2-CD25(22-212)的血清浓度-时间曲线。每个时间点代表来自3只猴子的样品的平均值。误差条代表标准偏差。

[0052] 图6示出了在来自代表性供体的人PBMC中,IL2-CD25融合蛋白诱导STAT5磷酸化的活性。将细胞在Treg($CD4^+$、$foxp3^+$、$CD25^+$)或Tconv($CD4^+$、$foxp3^-$)、$CD8^+$和NK细胞($CD3^-$、$CD56^+$)上进行门控,并且对孵育后pSTAT5染色阳性的细胞的百分比进行定量。对于hIL2-CD25(22-240)、hIL2-CD25(22-212)和hIL2-CD25(22-187),从这些实验中确定的用于Treg中pSTAT5诱导的EC_{50}分别是10ng/ml、4.4ng/ml和4.6ng/ml。

[0053] 图7示出了在全血中截短的融合蛋白刺激IL2R导致在各种细胞类型中诱导磷酸化STAT5的能力。通过在针对pSTAT5进行细胞内染色后通过流式细胞术进行测量、并且通过确

定全血混合物中pSTAT5染色呈阳性的细胞百分比来检测IL2R信号传导。在代表性供体中，将hIL2-CD25(22-240)与hIL2-CD25(22-212)的效力进行了比较。在人全血中滴定蛋白质，并且通过流式细胞术测量细胞内pSTAT5染色的强度。对于hIL2-CD25(22-240)，Treg中pSTAT5诱导的EC50为22ng/ml，并且对于hIL2-CD25(22-212)为36ng/ml。

[0054] 图8A-图8C示出了在具有人源化免疫系统的小鼠中，hIL2-CD25(22-240)、hIL2-CD25(22-212)和hIL2-CD25(22-184)增加T细胞的相似能力。每三天向NSG-huCD34移植的小鼠给予(皮下)融合蛋白，持续三个剂量。通过流式细胞术确定来自给药小鼠脾脏的Treg(图8A)、CD8(图8B)和NK细胞(图8C)的分析。

[0055] 图9A和图9B示出了在包括PBMC(图9A)或全血浓度(图9B)的混合细胞群体中，采用hIL2-CD25(22-212)(SEQ ID NO:16)的情况下15min后STAT5的磷酸化。

[0056] 图10示出了在体外，在人或小鼠血清中，IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)中(G3S)3接头稳定性的基于LC-MS/MS的分析。使用抗IL2抗体捕获后，报告了使用LC-MS/MS得到的IL2和CD25的峰面积比。

[0057] 图11示出了在0.075mg/kg的单次皮下剂量后，猴血清中IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)中的(G3S)3接头稳定性的基于LC-MS/MS的分析。使用抗IL2抗体捕获后，报告了使用LC-MS/MS得到的IL2和CD25的峰面积比。

具体实施方式

[0058] 在下文中参考附图更充分地描述了本公开内容，在所述附图中示出了本公开内容的一些但不是全部的实施方案。实际上，这些公开内容可以以许多不同的形式来体现，并且不应被解释为限于在此阐述的实施方案；相反，提供这些实施例是为了使本公开文本满足适用的法律要求。贯穿全文，相同的数字是指相同的要素。

[0059] 这些公开文本所属领域的技术人员受益于前述描述和相关附图中呈现的传授内容将能想到本文列出的公开文本的许多修改和其他实施方案。因此，将理解的是本公开文本不限于所公开的具体实施方案并且修改和其他实施方案旨在包括在所附权利要求的范围内。尽管在本文采用了特定术语，但是它们仅在一般性和描述性的意义上使用而不是出于限制的目的使用。

[0060] 7.1概述

[0061] 提供了可用于调节免疫系统的各种方法和组合物。组合物包括融合蛋白，所述融合蛋白包含：(a)包含白介素-2(IL2)多肽的第一多肽；和(b)包含白介素-2受体α(IL2Rα)多肽的胞外结构域的第二多肽；其中(i)与天然IL2Rα的胞外结构域(SEQ ID NO:7)相比，所述IL2Rα多肽的胞外结构域至少少一个糖基化；和/或(ii)与天然IL2(SEQ ID NO:2)相比，所述IL2多肽至少少一个糖基化；并且其中所述融合蛋白具有IL2活性。

[0062] 本公开文本还描述了编码本文公开的融合蛋白的核苷酸、包含所述核苷酸的载体、包含所述核苷酸的宿主细胞和包含所述融合蛋白、所述核苷酸、所述载体或所述宿主细胞的组合物。本公开文本还涉及制备所述融合蛋白、所述核苷酸、所述载体、所述宿主细胞或所述组合物的方法，或使用所述融合蛋白、所述核苷酸、所述载体、所述宿主细胞或所述组合物的方法。

[0063] 7.2定义

[0064] 应注意,术语“一个/一种(a)”或“一个/一种(an)”实体是指一个/一种或多个/多种所述实体:例如,“一个核苷酸序列”应理解为代表一个或多个核苷酸序列。这样,术语“一个/一种(a或an)”、“一个/一种或多个/多种(one or more)”以及“至少一个/一种(at least one)”在本文中可以互换使用。

[0065] 此外,本文使用的“和/或”被视为两个指定特征或组分中的每一个与或不与其他特征或组分的特定公开。因此,如在本文中以短语如“A和/或B”使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”、“A或B”、“A”(单独)和“B”(单独)。同样地,如以短语如“A、B和/或C”使用的术语“和/或”旨在涵盖以下方面中的每一个:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);以及C(单独)。

[0066] 类似地,除非上下文另外明确指出,否则单词“或”旨在包括“和”。还应理解,针对核酸或多肽给出的所有碱基大小或氨基酸大小以及所有分子重量或分子质量值均为近似值,并且提供其用于描述。

[0067] 应当理解,本文中无论用语言“包括/包含(comprising)”描述任何方面,还提供了以“由……组成”和/或“本质上由……组成”描述的其他类似方面。

[0068] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术和科学术语均具有与本公开文本所属技术的本领域技术人员通常所理解的相同的含义。例如,Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology,Juo,Pei-Show,第2版,2002,CRC出版社;The Dictionary of Cell and Molecular Biology,第3版,1999,学术出版社;以及Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology,修订版,2000,牛津大学出版社,为本领域技术人员提供本公开文本中所使用的许多术语的一般解释。

[0069] 单位、前缀和符号均以其国际单位制(SI)可接受的形式表示。数值范围包括定义所述范围的数字。除非另有说明,否则氨基酸序列以氨基到羧基的方向从左到右书写。本文提供的标题不是对本公开文本的各个方面的限制,所述各个方面可以通过参考说明书作为整体而获得。因此,通过从整体上参考说明书,可以更全面地定义下面紧接着定义的术语。

[0070] 术语“约”在本文中用于表示大约、大致、大概或在……左右。当术语“约”与数值范围一起使用时,它通过扩展所述数值的上下边界来修改该范围。因此,“约10-20”意指“约10至约20”。通常,术语“约”可以通过方差(例如,10%,向上或向下)修改高于和低于所述值的数值(更高或更低)。

[0071] 如本文所用,“白介素-2”、“IL2”或“IL-2”是指来自任何脊椎动物来源的任何天然或重组IL2,所述脊椎动物来源包括哺乳动物,如灵长类动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠),以及驯养或农业哺乳动物,除非另有说明。所述术语涵盖未加工的IL2以及通过细胞中的加工产生的任何形式的IL2(即IL2的成熟形式)。所述术语还涵盖IL2的天然存在的变体和片段(例如剪接变体或等位基因变体),以及具有天然存在的IL2的IL2活性的非天然存在的变体。

[0072] IL2的其他核酸和氨基酸序列是已知的。参见,例如,GenBank登录号:Q7JFM2(鬼夜猴(Aotus lemurinus)(灰腹夜猴));Q7JFM5(秘鲁夜猴(Aotus nancymaae)(马夜猴));P05016(牛(Bas taurus)(牛));Q29416(家犬(犬)中华田园犬);P36835(山羊(Capra hircus)(山羊));和P37997(家马(Equus caballus)(马))。

[0073] IL2的生物学活性片段和变体保留IL2活性。短语“IL2的生物学活性”或“IL2活性”

是指IL2的一种或多种生物学活性,包括但不限于刺激带有IL2受体的淋巴细胞的能力。可以在体外和体内测量这种活性。IL2是免疫活性的整体调节剂,并且这里看到的效果是此类活性的总和。例如,其调节存活活性(Bcl-2)、诱导T效应活性(IFN-γ、颗粒酶B和穿孔素)和/或促进T调节活性(FoxP3)。

[0074] IL2的生物学活性变体是已知的。参见,例如美国申请公开案20060269515和20060160187以及WO 99/60128。

[0075] 如本文所用,术语"CD25"、"IL2受体α"、"IL2Rα"或"IL2Ra"是指来自任何脊椎动物来源的任何天然或重组IL2α,所述脊椎动物来源包括哺乳动物,如灵长类动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠),以及驯养或农业哺乳动物,除非另有说明。所述术语还涵盖IL2Rα的天然存在的变体(例如剪接变体或等位基因变体),或具有IL2Rα活性的非天然存在的变体。人IL2经由通过其受体系统IL2R的信号传导发挥其生物学作用。IL2及其受体(IL2R)是T细胞增殖和其他对免疫应答重要的基本功能所需要的。IL2R由3个非共价连接的I型跨膜蛋白组成:α(p55)、β(p75)和γ(p65)链。人IL2Rα链含有219个氨基酸的胞外结构域、19个氨基酸的跨膜结构域和13个氨基酸的胞内结构域。IL2Rα(IL2R-α)的分泌的胞外结构域可用于本文所述的融合蛋白中。

[0076] IL2Rα的核酸和氨基酸序列是已知的。参见,例如GenBank登录号:NP_001030597.1(黑猩猩(Pan troglodytes));NP_001028089.1(猕猴(Macaca mulatta));NM_001003211.1(狼(Canis lupus));NP_776783.1(牛(Bos taurus));NP_032393.3(小鼠(Mus musculus));和NP_037295.1(大鼠(Rattus norvegicus))。

[0077] 还提供了IL2Rα的胞外结构域的生物学活性片段和变体。此类IL2Rα胞外结构域活性变体或片段将保留IL2Rα胞外结构域活性。短语"IL2Rα胞外结构域的生物学活性"是指IL2Rα胞外结构域的一种或多种生物学活性,包括但不限于与IL2结合和/或增强IL2受体反应性细胞中细胞内信号传导的能力。IL2Rα的生物学活性片段和变体的非限制性例子披露于例如Robb等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,85:5654-5658,1988。在一些实施方案中,与天然IL2Rα的胞外结构域相比,本文公开的IL2Rα的生物学活性片段和变体包含至少少一个糖基化。

[0078] 如本文所用,应用于对象的术语"天然存在的"是指对象可以在自然界中发现的事实。例如,存在于生物(包括病毒)中的可以从天然来源分离且尚未经实验室的人员有意修饰的多肽或多核苷酸序列是天然存在的。

[0079] "多肽"是指包含至少两个连续连接的氨基酸残基的链,所述链的长度没有上限。蛋白质中的一个或多个氨基酸残基可以含有修饰,例如但不限于糖基化、磷酸化或二硫键形成。"蛋白质"或"融合蛋白"可以包含一种或多种多肽。

[0080] 本公开文本还包括多肽的片段或变体及其任何组合。当提及本公开文本的多肽结合结构域或结合分子时,术语"片段"或"变体"包括保留参考多肽的至少一些特性(例如IL2对于IL2Rα的结合活性)的任何多肽。多肽片段包括蛋白质水解片段以及缺失片段,但是不包括天然存在的全长多肽(或成熟多肽)。本公开文本的多肽结合结构域或结合分子的变体包括如上所述的片段,以及由于氨基酸取代、缺失或插入而具有改变的氨基酸序列的多肽。变体可以是天然存在的或非天然存在的。非天然存在的变体可以使用本领域中已知的诱变技术来产生。变体多肽可包含保守或非保守氨基酸取代、缺失或添加。

[0081] 如上所述,多肽变体包括例如修饰的多肽。修饰包括,例如乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、黄素的共价附接、血红素部分的共价附接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价附接、脂质或脂质衍生物的共价附接、磷脂酰肌醇的共价附接、交联、环化、二硫键形成、去甲基化、共价交联形成、半胱氨酸形成、焦谷氨酸形成、甲酰化、γ-羧化、糖基化、GPI锚定形成、羟基化、碘化、甲基化、肉豆蔻酰化、氧化、聚乙二醇化(Mei等人,Blood 116:270-79(2010))、蛋白水解加工、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、硒酰化(selenoylation)、硫酸化、转移RNA介导的氨基酸向蛋白质的添加(如精氨酰化和泛素化)。

[0082] 如本文所用,通过比对鉴定蛋白质或核苷酸序列中的"对应"、"对应氨基酸","对应位点"或"等效氨基酸",以最大化第一蛋白质序列(例如IL2序列)与第二蛋白质序列(例如第二IL2序列)之间的同一性或相似性。用于鉴定第二蛋白质序列中的等效氨基酸的数目基于用于鉴定第一蛋白质序列中的相应氨基酸的数目。在一些实施方案中,术语"对应"是指在多肽中一个或多个氨基酸或者多核苷酸中一个或多个核苷酸处的突变的关系。作为非限制性例子,如本文公开的,多核苷酸(例如SEQ ID NO:7)的特定氨基酸(例如S50)是指SEQ ID NO:7中的第50个氨基酸-丝氨酸。

[0083] 如本文所用,术语"与……缔合"是指在第一氨基酸链与第二氨基酸链之间形成的共价或非共价键。在一个实施方案中,术语"与……缔合"是指共价非肽键或非共价键。这种缔合可以用冒号表示,即(:)。在另一个实施方案中,它指除肽键外的共价键。例如,氨基酸半胱氨酸包含硫醇基,其可与第二个半胱氨酸残基上的硫醇基形成二硫键或二硫桥。在大多数天然存在的IgG分子中,CH1区域和CL区域通过二硫键缔合,并且这两个重链通过在对应于使用Kabat编号系统的239和242的位置(位置226或229,EU编号系统)处的两个二硫键缔合。共价键的例子包括但不限于肽键、金属键、氢键、二硫键、σ键、π键、δ键、糖苷键、抓氢键、弯曲键、偶极键、反馈π键、双键、三键、四键、五键、六键、共轭、超共轭、芳香、哈普托数或反键。非共价键的非限制性例子包括离子键(例如阳离子-π键或盐键)、金属键、氢键(例如二氢键、分子氢配合物、低势垒氢键或对称氢键)、范德华力、伦敦分散力、机械键、卤键、亲金作用、嵌入、堆积、熵力或化学极性。

[0084] 如本文所用,术语"可比较的"意指使用例如融合蛋白产生的比较率或水平等于、基本上等于或相似于参考率或水平。如本文所用,术语"相似"意指比较率或水平与参考率或水平的差异不超过10%或不超过15%。术语"基本上等于"意指比较率或水平与参考率或水平的差异不超过0.01%、0.5%或1%。

[0085] 如本文所用,术语"表达"是指多核苷酸产生基因产物(例如RNA或多肽)的过程。

[0086] "融合"或"融合"蛋白包含框内连接至第二氨基酸序列的第一氨基酸序列,所述第一氨基酸序列在自然界中并非天然地与所述第二氨基酸序列连接。通常存在于分开的蛋白质中的氨基酸序列可以在融合多肽中聚在一起,或者通常存在于相同蛋白质中的氨基酸序列可以以新的排列方式置于融合多肽中,例如,IL2蛋白与IL2-Rα蛋白的融合。例如,通过化学合成,或通过产生和翻译多核苷酸来产生融合蛋白,所述多核苷酸中肽区域以理想的关系被编码。融合蛋白可以进一步包含通过共价非肽键或非共价键与第一氨基酸序列缔合的第二氨基酸序列。转录/翻译后,完成了一种蛋白质。以此方式,可以将多种蛋白质或其片段掺入单个多肽中。"可操作地连接"旨在意指两个或更多个元件之间的功能性连接。例如,两个多肽之间的可操作的连接将两个多肽框内融合在一起以产生单个多肽融合蛋白。在特定

方面,所述融合蛋白进一步包含第三多肽,如以下进一步详细讨论的,所述第三多肽可以包括接头序列。

[0087] “Fc区”(片段可结晶区)、“Fc结构域”或“Fc”是指抗体的重链的C末端区,其介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括与位于免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)上的Fc受体的结合,或与经典补体系统的第一成分(C1q)的结合。因此,Fc区包含抗体的除了第一恒定区免疫球蛋白结构域(例如CH1或CL)之外的恒定区。在IgG、IgA和IgD抗体同种型中,Fc区包含两个相同的蛋白质片段,分别衍生自抗体两条重链的第二(CH2)和第三(CH3)恒定结构域;IgM和IgE Fc区在每个多肽链中包含三个重链恒定结构域(CH结构域2-4)。IgG同种型在某些物种中分为亚类:人中的IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,和小鼠中的IgG1、IgG2a、IgG2b和IgG3。对于IgG,Fc区包含免疫球蛋白结构域CH2和CH3以及CH1和CH2结构域之间的铰链。如本文所定义的,尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界的定义可能会发生变化,但是人IgG重链的Fc区被定义为从IgG1的D221、IgG2的V222、IgG3的L221和IgG4的P224的氨基酸残基延伸到重链的羧基末端,其中编号是根据如在Kabat中的EU索引。人IgG Fc区的CH2结构域从氨基酸237延伸至氨基酸340,并且CH3结构域位于Fc区中的CH2结构域的C末端侧,即,其从IgG的氨基酸341延伸至氨基酸447或446(如果不存在C末端赖氨酸残基)或445(如果不存在C末端甘氨酸和赖氨酸残基)。如本文所用,Fc区可以是天然序列Fc,包括任何同种异型变体或变体Fc(例如,非天然存在的Fc)。

[0088] “Fc受体”或“FcR”是与免疫球蛋白的Fc区结合的受体。与IgG抗体结合的FcR包含FcγR家族的受体,包括这些受体的等位基因变体并且可替代地包括剪接形式。FcγR家族由三种激活性受体(小鼠中的FcγRI、FcγRIII和FcγRIV;人中的FcγRIA、FcγRIIA和FcγRIIIA)和一种抑制性受体(FcγRIIB)组成。人FcγR的各种特性是本领域已知的。大多数先天性效应细胞类型共表达一种或多种激活性FcγR和抑制性FcγRIIB,而自然杀伤(NK)细胞选择性地表达一种激活性Fc受体(小鼠中的FcγRIII和人中的FcγRIIIA),但在小鼠和人中不表达抑制性FcγRIIB。人IgG1与大多数人Fc受体结合,就其所结合的激活性Fc受体的类型而言,所述人IgG1被认为等同于鼠IgG2a。

[0089] 如本文所用,术语“插入”(“inserted”、“is inserted”、“inserted into”)或语法相关术语是指融合多肽中异源部分(例如,半衰期延长部分)相对于特定蛋白质中类似位置而言的位置。如本文所用,所述术语是指本文公开的重组多肽的特征,并且并非指示、暗示或意味着制备融合多肽的任何方法或过程。

[0090] 涉及多肽或多核苷酸的“异源”和“异源部分”是源自不同蛋白质或多核苷酸的多肽或多核苷酸。融合蛋白的另外的组分可以与融合蛋白的其他多肽组分源自相同生物,或者另外的组分可以与融合蛋白的其他多肽组分来自不同的生物。例如,异源多肽可以是合成的,或衍生自个体的不同物质种类、不同细胞类型,或不同个体的相同或不同的细胞类型。在一方面,异源部分是与另一多肽融合以产生融合多肽或蛋白质的多肽。在另一方面,异源部分是与多肽或蛋白质缀合的非多肽,如PEG。本文公开的异源部分的非限制性例子是甘氨酸/丝氨酸接头(例如GGGSGGGSGGGS(SEQ ID NO:71)(也称为$(Gly_3Ser)_3$))。

[0091] “天然序列Fc区”或“天然序列Fc”包含与自然界中发现的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区;天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区及其天然存在的变体。天然序列Fc包括Fc的各种

同种异型(参见,例如,Jefferis等人(2009)mAbs 1:1)。

[0092] 在使用融合蛋白的体外或体内测定的上下文中,术语“EC_{50}”是指诱导最大反应的50%(即,最大反应和基线之间的一半)的反应时的融合蛋白的浓度。

[0093] “保守氨基酸取代”是指将氨基酸残基用具有相似侧链的氨基酸残基取代。本领域已经定义了具有相似侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括具有以下项的氨基酸:碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、β-分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)、以及芳香族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。在一些实施方案中,将IL2/IL2Rα融合蛋白中的预测的非必需氨基酸残基用来自相同侧链家族的另一个氨基酸残基置换。鉴定不消除抗原结合的核苷酸和氨基酸保守取代的方法是本领域熟知的(参见,例如,Brummell等人,Biochem.32:1180-1187(1993);Kobayashi等人Protein Eng.12(10):879-884(1999);和Burks等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:412-417(1997))。

[0094] 如本文所用,术语“核酸分子”旨在包括DNA分子和RNA分子。核酸分子可以是单链的或双链的,并且可以是cDNA。

[0095] 如本文所用,术语“调节区”是指位于编码区上游(5'非编码序列)、内部或下游(3'非编码序列)的核苷酸序列,其影响转录、RNA加工、稳定性或相关编码区的翻译。调节区可包括启动子、翻译前导序列、内含子、聚腺苷酸化识别序列、RNA加工位点、效应子结合位点和茎-环结构。如果预期编码区在真核细胞中表达,聚腺苷酸化信号和转录终止序列通常将位于编码系列的3'方向。

[0096] 编码基因产物(例如多肽)的多核苷酸可包括与一个或多个编码区可操作地关联的启动子和/或其他转录或翻译控制元件。除启动子外,其他转录控制元件例如增强子、操纵子、阻遏物和转录终止信号也可与编码区可操作地关联,以指导基因产物表达。

[0097] 多种转录控制区是本领域技术人员已知的。这些包括但不限于在脊椎动物细胞中起作用的转录控制区,诸如但不限于来自巨细胞病毒的启动子和增强子区段(立即早期启动子,与内含子A一起)、猿猴病毒40(早期启动子)和逆转录病毒(诸如劳氏肉瘤病毒)。其他转录控制区包括衍生自脊椎动物基因的那些,诸如肌动蛋白、热休克蛋白、牛生长激素和兔β珠蛋白,以及能够控制真核细胞中基因表达的其他序列。另外的合适的转录控制区包括组织特异性启动子和增强子以及淋巴因子诱导型启动子(例如可由干扰素或白介素诱导的启动子)。

[0098] 类似地,多种翻译控制元件是本领域普通技术人员已知的。这些包括但不限于核糖体结合位点、翻译起始和终止密码子,以及衍生自小核糖核酸病毒的元件(特别是内部核糖体进入位点,或IRES,也称为CITE序列)。

[0099] 术语“序列同一性百分比”、“同一性百分比”、“序列同一性”或“同一性”可互换使用,并且是指在比较窗口中两个多核苷酸或多肽序列之间共享的相同匹配位置的数目,其中考虑为实现两个序列的最佳比对必须引入的添加或缺失(即,缺口)。匹配位置是在靶序列和参考序列中存在相同核苷酸或氨基酸的任何位置。由于缺口不是核苷酸或氨基酸,因此靶序列中存在的缺口不计算在内。同样地,由于靶序列核苷酸或氨基酸计算在内而参考

序列中的核苷酸或氨基酸不计算在内,因此参考序列中存在的缺口不计算在内。

[0100] 序列的比较和两个序列之间的同一性百分比的确定可以使用数学算法来完成,如以下非限制性例子中所描述的。

[0101] 通过以下方式计算序列同一性的百分比:确定在两个序列中出现相同氨基酸残基或核酸碱基的位置的数目以得到匹配的位置的数目,将匹配的位置的数目除以比较窗口中位置的总数目,然后将结果乘以100以得到序列同一性百分比。序列的比较和两个序列之间的序列同一性百分比的确定可以使用容易获得的软件在线使用和下载来完成。合适的软件程序可自各种来源获得,并且可用于比对蛋白质和核苷酸序列。确定序列同一性百分比的一个合适程序是bl2seq,它是可从美国政府的国家生物技术信息中心BLAST网站(blast.ncbi.nlm.nih.gov)获得的BLAST程序套件的一部分。Bl2seq使用BLASTN或BLASTP算法进行两个序列之间的比较。BLASTN用于比较核酸序列,而BLASTP用于比较氨基酸序列。其他合适的程序是,例如Needle、Stretcher、Water或Matcher(EMBOSS生物信息学程序套件的一部分),也可从欧洲生物信息学研究所(EBI)网站www.ebi.ac.uk/Tools/psa上获得。

[0102] 与多核苷酸或多肽参考序列比对的单个多核苷酸或多肽靶序列内的不同区可各自具有其自身的序列同一性百分比。应注意,将序列同一性百分比值舍入至最接近的十分位。例如,80.11、80.12、80.13和80.14向下舍入到80.1,而80.15、80.16、80.17、80.18和80.19向上舍入到80.2。还应注意,长度值将始终是整数。

[0103] 可以使用GCG软件包(可以在worldwideweb.gcg.com上获得)中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵和空位权重40、50、60、70或80和长度权重1、2、3、4、5或6来确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。也可以使用已并入ALIGN程序(2.0版)的E.Meyers和W.Miller(CABIOS,4:11-17(1989))的算法,使用PAM120权重残基表、空位长度罚分12和空位罚分4来确定两个核苷酸或氨基酸序列之间的同一性百分比。此外,可以使用已并入GCG软件包(可以在http://www.gcg.com上获得)中的GAP程序中的Needleman和Wunsch(J.Mol.Biol.(48):444-453(1970))的算法,使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及空位权重16、14、12、10、8、6或4和长度权重1、2、3、4、5或6来确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比。

[0104] 本文描述的核酸和蛋白质序列还可以用作“查询序列”,以在公共数据库中进行搜索从而例如鉴定相关序列。可以使用Altschul等人(1990)J.Mol.Biol.215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)进行此类搜索。BLAST核苷酸搜索可用NBLAST程序来进行,得分=100,字长=12,以获得与本文描述的核酸分子同源的核苷酸序列。BLAST蛋白质搜索可用XBLAST程序来进行,得分=50,字长=3,以获得与本文描述的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以如Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402中所描述的使用空位BLAST(Gapped BLAST)。当使用BLAST和空位BLAST程序时,可以使用各程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov。

[0105] 核酸可以以完整细胞、细胞裂解物或部分纯化的或基本上纯的形式存在。通过标准技术,包括碱/SDS处理、CsCl显带、柱色谱、琼脂糖凝胶电泳和其他本领域熟知的方法,当将核酸从其他细胞组分或其他污染物(例如其他细胞核酸(例如,染色体的其他部分))或蛋白质中纯化出来时,所述核酸是“分离的”或变得“基本上纯的”。参见F.Ausubel,等人,编辑

Current Protocols in Molecular Biology,Greene Publishing and Wiley Interscience,纽约(1987)。

[0106] 如本文所用,术语“载体”旨在指能转运其所连接的另一核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”,它是指可以将另外的DNA区段连接至其中的环状双链DNA环。另一种类型的载体是病毒载体,其中可以将另外的DNA区段连接至病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)。其他载体(例如,非附加型哺乳动物载体)可以在被引入宿主细胞中之后整合至宿主细胞的基因组中,并由此与宿主基因组一起复制。另外,某些载体能够指导与其可操作连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简称为“表达载体”)。通常,在重组DNA技术中有用的表达载体通常为质粒形式。在本说明书中,“质粒”和“载体”可互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。然而,还包括发挥同等功能的其他形式的表达载体,如病毒载体(例如,复制缺陷性逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0107] 如本文所用,术语“体外宿主细胞”(或简称为“宿主细胞”)旨在指包含非天然存在于细胞中的核酸的细胞,并且可以是其中已经引入了重组表达载体的细胞。应当理解,此类术语不仅旨在指特定的受试者细胞,而且指这种细胞的子代。因为后代中可能由于突变或环境影响而发生某些修饰,所以这种子代可能实际上与亲代细胞不同,但是仍包括在如本文所用术语“宿主细胞”的范围内。示例性宿主细胞包括但不限于原核细胞(例如,大肠杆菌(E.coli)),或者可替代地,真核细胞,例如真菌细胞(例如,酵母细胞如酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)、毕赤酵母(Pichia pastoris)或粟酒裂殖酵母(Schizosaccharomyces pombe)),以及各种动物细胞,如昆虫细胞(例如Sf-9)或哺乳动物细胞(例如HEK293F、CHO、COS-7、NIH-3T3)。

[0108] 如本文所用,短语“紧邻氨基酸的下游”是指与氨基酸的末端羧基紧紧相邻的位置。类似地,短语“紧邻氨基酸上游”是指紧邻氨基酸的末端胺基的位置。因此,如本文所用,短语“插入位点的两个氨基酸之间”是指异源部分(例如,半衰期延长部分)在两个相邻氨基酸之间插入的位置。

[0109] 如本文所用,术语“给予”是指使用本领域技术人员已知的任何不同方法和递送系统将包含治疗剂的组合物物理引入受试者。本文描述的IL2/IL2Rα融合蛋白的不同给予途径包括静脉内、腹膜内、肌内、皮下、脊髓或其他肠胃外给予途径,例如通过注射或输注。如本文所用,短语“肠胃外给予”意指除了肠给予和局部给予之外,通常通过注射的给予方式,并且包括而不限于静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眼眶内、心脏内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外以及胸骨内注射和输注以及体内电穿孔。可替代地,本文描述的抗体可以经由非肠胃外途径(如局部、表皮或粘膜给予途径)给予,例如鼻内、口服、阴道、直肠、舌下或局部给予。给予还可以例如进行一次、多次和/或经一个或多个延长的时间段。

[0110] “免疫应答”是如本领域所理解的,并且通常是指脊椎动物内针对外来因子(agent)或异常例如癌细胞的生物学应答,所述应答保护生物免受这些因子和由其引起的疾病的侵害。免疫应答是由免疫系统的一种或多种细胞(例如,T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、树突细胞或嗜中性粒细胞)和通过这些细胞或肝脏中的任何一种产生的可溶性大分子(包括抗体、细胞因子和补体)的作用介导

的,所述作用导致选择性靶向、结合、损伤、破坏和/或消除脊椎动物体中侵入的病原体、感染病原体的细胞或组织、癌性或其他异常细胞,或者在自身免疫性或病理性炎症的情况下导致选择性靶向、结合、损伤、破坏和/或消除正常的人细胞或组织。免疫反应包括例如T细胞(例如效应T细胞、Th细胞、$CD4^+$细胞、$CD8^+$T细胞或Treg细胞)的激活或抑制,或免疫系统的任何其他细胞(例如NK细胞)的激活或抑制。

[0111] “免疫调节剂”(“immunomodulator”或“immunoregulator”)是指一种药剂,例如靶向信号传导途径的组分的药剂,所述药剂可以参与调制、调节或修饰免疫应答。“调制”、“调节”或“修饰”免疫应答是指免疫系统的细胞或这种细胞(例如,效应T细胞,如Th1细胞)的活性的任何改变。更特别地,如本文所用,术语“调制”包括诱导、抑制、增强、升高、增加或降低给定的活性或应答。这种调制包括对免疫系统的刺激或抑制,这可以通过各种细胞类型数量的增加或减少、这些细胞的活性的增加或降低或免疫系统内可能发生的任何其他变化来表现。已经鉴定了抑制性和刺激性免疫调节剂,其中一些在肿瘤微环境中可能具有增强的功能。在一些实施方案中,所述免疫调节剂靶向T细胞的表面上的分子。“免疫调节靶标”(“immunomodulatory target”或“immunoregulatory target”)是如下一种分子(例如细胞表面分子),其被靶向用于与物质、药剂、部分、化合物或分子结合,并且所述免疫调节靶标的活性通过物质、药剂、部分、化合物或分子的结合而改变。免疫调节靶标包括例如细胞表面上的受体(“免疫调节受体”)和受体配体(“免疫调节配体”)。

[0112] “免疫疗法”是指通过包括诱导、增强、抑制或以其他方式修饰免疫系统或免疫应答的方法治疗患有疾病或者有感染疾病或遭受疾病复发风险的受试者。

[0113] “免疫刺激疗法”或“免疫刺激性疗法”是指导致增加(诱导或增强)受试者中的免疫应答从而例如治疗癌症的疗法。

[0114] “增强内源性免疫应答”意指增加受试者中现有免疫应答的有效性或效力。有效性和效力的这种增加可以例如通过以下方式来实现:克服抑制内源宿主免疫应答的机制或者刺激增强内源宿主免疫应答的机制。

[0115] “T效应”(“T_{eff}”)细胞是指具有细胞溶解活性的T细胞(例如$CD4^+$和$CD8^+$T细胞)以及分泌细胞因子并激活和引导其他免疫细胞的T辅助(Th)细胞,例如Th1细胞,但不包括调节性T细胞(Treg细胞)。本文所述的某些IL2/IL2Rα融合蛋白激活T_{eff}细胞,例如$CD4^+$和$CD8^+$$T_{eff}$细胞和Th1细胞。

[0116] 增加的刺激免疫应答或免疫系统的能力可能是由于增强的T细胞共刺激受体的激动剂活性和/或增强的抑制性受体的拮抗剂活性导致的。增加的刺激免疫应答或免疫系统的能力可以在测量免疫应答的测定,例如测量细胞因子或趋化因子释放、细胞溶解活性(在靶细胞上直接测定的或经由检测CD107a或颗粒酶间接测定的)和增殖的变化的测定中通过EC_{50}或最大活性水平的倍数增加来反映。刺激免疫应答或免疫系统活性的能力可以增强至少10%、30%、50%、75%、2倍、3倍、5倍或更多。

[0117] 如本文所用,术语“连接”和“融合”是指第一氨基酸序列或核苷酸序列分别与第二氨基酸序列或核苷酸序列共价或非共价地连接。第一氨基酸或核苷酸序列可以与第二氨基酸或核苷酸序列直接连接或并置,或者可替代地,间插序列可以将第一序列与第二序列共价连接。术语“连接”不仅意指第一氨基酸序列与第二氨基酸序列在C末端或N末端融合,还包括将完整的第一氨基酸序列(或第二氨基酸序列)插入第二氨基酸序列(或对应地,第一

氨基酸序列)中的任两个氨基酸之间。在一个实施方案中,所述第一氨基酸序列通过肽键或接头与第二氨基酸序列连接。第一核苷酸序列可以通过磷酸二酯键或接头连接至第二核苷酸序列。接头可以是肽或多肽(对于多肽链)或者核苷酸或核苷酸链(对于核苷酸链)或任何化学部分(对于多肽和多核苷酸链二者)。术语"连接"也用连字符(-)表示。

[0118] 如本文所用,术语"T细胞介导的应答"是指由T细胞介导的应答,所述T细胞包括效应T细胞(例如$CD8^+$细胞)和辅助T细胞(例如$CD4^+$细胞)。T细胞介导的应答包括例如T细胞细胞毒性和增殖。

[0119] 如本文所用,术语"细胞毒性T淋巴细胞(CTL)应答"是指由细胞毒性T细胞诱导的免疫应答。CTL应答主要由$CD8^+$T细胞介导。

[0120] 如本文所用,术语"抑制"或"阻断("例如,指在细胞上IL2与IL2Rα的结合的抑制/阻断)可互换使用,并且涵盖部分和完全抑制/阻断。在一些实施方案中,所述IL2/IL2Rα融合蛋白抑制IL2与IL2Rα的结合至少约50%,例如约60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%,例如,如本文进一步描述所确定的。在一些实施方案中,所述IL2/IL2Rα融合蛋白抑制IL2与IL2Rα的结合不超过50%,例如约40%、30%、20%、10%、5%或1%,例如,如本文进一步描述所确定的。

[0121] 如本文所用,短语"抑制肿瘤的生长"包括肿瘤的生长的任何可测量的降低,例如,抑制肿瘤的生长至少约10%,例如至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约99%或100%。

[0122] 如本文所用,"癌症"是指广泛的一组疾病,其特征在于体内异常细胞的不受控制的生长。不受调节的细胞分裂可导致恶性肿瘤或细胞的形成,所述恶性肿瘤或细胞侵入邻近组织并且可以通过淋巴系统或血流转移到身体的远端部分。

[0123] 如本文所用,术语"治疗"("treat"、"treating"和"treatment")是指对受试者进行的任何类型的干预或过程,目的是逆转、减轻、缓解、抑制或减缓或防止症状、并发症、病症或与疾病有关的生化指标的进展、发展、严重程度或复发,或提高总体存活期。治疗可以是对患有疾病的受试者或没有疾病的受试者(例如,用于预防)。当预防性地提供时,在任何症状之前提供本文公开的融合蛋白。所述物质的预防性给予用于预防或减轻任何随后的症状。

[0124] 关于融合蛋白、药物组合物或疫苗而言的"增强功效"或"增强免疫原性"旨在改善结果,例如,如通过特定值的变化(如与保护性免疫相关的融合蛋白、药物组合物或疫苗的活性的具体参数的增加或减少)所测量的。在一个实施方案中,增强是指特定参数增加至少5%、10%、25%、50%、100%或大于100%。在另一个实施方案中,增强是指特定参数降低至少5%、10%、25%、50%、100%或大于100%。在一个例子中,疫苗功效/免疫原性的增强是指疫苗抑制或治疗疾病进展的能力提高,如出于此目的,疫苗的有效性增加至少5%、10%、25%、50%、100%、或大于100%。在进一步的例子中,疫苗功效/免疫原性的增强是指疫苗招募受试者的对已经发展的癌症的天然防御的能力提高,如出于此目的,融合蛋白、药物组合物或疫苗的有效性增加至少5%、10%、25%、50%、100%或大于100%。

[0125] 类似地,关于融合蛋白、药物组合物或疫苗而言的"克服抑制的免疫应答"旨在改善结果,例如,如通过特定值的变化(如与保护性免疫相关的疫苗活性的特定参数恢复为先前的正值)所测量的。在一个实施方案中,克服是指特定参数增加至少5%、10%、25%、

50％、100％或大于100％。在一个例子中，克服对融合蛋白、药物组合物或疫苗的受抑制免疫应答是指融合蛋白、药物组合物或疫苗抑制或治疗疾病进展的复兴能力，如出于此目的，疫苗有效性复兴至少5％、10％、25％、50％、100％或大于100％。

[0126] 如本文所用(可互换)，“治疗有效量”、“治疗剂量”、“剂量”、“有效剂量”(“effective dose”、“effective dosage”)或“给药量”意指达到如本文所述治疗目标的剂量。在一些实施方案中，“治疗剂量”意指在受试者中诱导免疫耐受的剂量。在某些实施方案中，“治疗剂量”意指在指定的耐受时间段内，例如在给予第一剂量的12周内，在受试者中诱导免疫耐受的剂量。IL2/IL2Rα融合蛋白的“治疗有效量”是指足以引起期望的生物学应答的IL2/IL2Rα融合蛋白的量。如本领域普通技术人员将理解的，有效的特定IL2/IL2Rα融合蛋白的绝对量可以根据诸如期望的生物学终点、待递送的IL2/IL2Rα融合蛋白、靶细胞或组织等因素变化。本领域普通技术人员将进一步理解，可以将有效量以单剂量给予，或有效量可以通过给予多剂量(即1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个剂量)来实现。可以使用本领域技术人员已知的各种方法评价治疗剂促进疾病消退或抑制疾病发展或复发的能力，如在临床试验期间的人类受试者中、在预测人类中的功效的动物模型系统中、或通过测定药剂在体外测定中的活性来评价。

[0127] 如本文所用，“治疗”(“treat”、“treatment”或“treating”)是指例如疾病或病症的严重程度的降低；病程持续时间的减少；与疾病或病症相关的一种或多种症状的改善或消除；向患有疾病或病症的受试者提供有益作用，但不一定治愈疾病或病症。

[0128] 举例来说，抗癌剂是在受试者中促进癌症消退的药物。在一些实施方案中，治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的程度。“促进癌症消退”意指单独地或与抗肿瘤剂组合给予有效量的药物导致肿瘤生长或尺寸的减小、肿瘤坏死、至少一种疾病症状的严重程度降低、无疾病症状时期的频率和持续时间的增加、由于疾病困扰引起的损伤或伤残的预防、或者患者中疾病症状以其他方式的改善。另外，关于治疗的术语“有效的”和“有效性”包括药理学有效性和生理学安全性。药理学有效性是指药物促进患者中癌症消退的能力。生理学安全性是指由药物的给予引起的在细胞、器官和/或生物水平的毒性水平或其他不利生理效应(不利效应)。

[0129] 对于肿瘤的治疗，举例来说，相对于未治疗的受试者，治疗有效量或剂量的药物抑制细胞生长或肿瘤生长至少约20％、至少约40％、至少约60％或至少约80％。在一些实施方案中，治疗有效量或剂量的药物完全抑制细胞生长或肿瘤生长，即，100％抑制细胞生长或肿瘤生长。可以使用下文描述的测定来评价化合物抑制肿瘤生长的能力。可替代地，可以通过检查化合物抑制细胞生长的能力来评价组合物的这种特性，可以通过熟练从业者已知的测定在体外测量这种抑制。在本文所述的一些实施方案中，可以观察到肿瘤消退并持续至少约20天、至少约40天或至少约60天的时间段。

[0130] 术语“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人和其他哺乳动物受试者。

[0131] 如本文所用，术语“受试者”包括任何人类或非人类动物。例如，本文描述的方法和组合物可用于治疗患有癌症的受试者。术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如哺乳动物和非哺乳动物，如非人灵长类动物、绵羊、狗、母牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。

[0132] 如本文提及的术语“基于体重的”剂量或给药意指基于患者的体重计算向患者给予的剂量。例如，当60kg体重的患者需要3mg/kg的抗IL2抗体时，可以计算出并且使用适当

量的IL2/IL2Rα融合蛋白(即180mg)进行给予。

[0133] 关于本文所述的方法和剂量,术语“平剂量”的使用意指不考虑患者的体重或体表面积(BSA)向患者给予的剂量。因此,平剂量不以mg/kg剂量提供,而是以药剂(例如IL2/IL2Rα融合蛋白)的绝对量提供。例如,60kg的人和100kg的人将接受相同剂量的抗体(例如,480mg的IL2/IL2Rα融合蛋白)。

[0134] 如本文所用,术语“ug”和“uM”分别可与“μg”和“μM”互换使用。

[0135] 在以下小节中将进一步详细描述本文所述的各个方面。

[0136] 对于免疫球蛋白或免疫球蛋白片段或区域的氨基酸编号的提及均基于Kabat等人1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest,U.S.Department of Public Health,贝塞斯达;马里兰州。(已经从包括人类在内的若干哺乳动物物种分离出FcRn受体。人FcRn、大鼠FcRn和小鼠FcRn的序列是已知的(Story等人,J.Exp.Med.180:2377(1994))。Fc可以包含免疫球蛋白的CH2和CH3结构域,其含有或不含有免疫球蛋白的铰链区。WO 2004/101740和WO 2006/074199中提供了示例性Fc变体。

[0137] 7.3白介素-2/白介素-2受体α融合蛋白

[0138] 本文公开了包含至少两种组分的融合蛋白:(a)包含白介素-2(IL2)多肽的第一多肽;和(b)包含白介素-2受体α(IL2Rα)多肽的胞外结构域的第二多肽。在一些实施方案中,与天然IL2Rα的胞外结构域(SEQ ID NO:7)相比,所述IL2Rα多肽的胞外结构域至少少一个糖基化;和/或(ii)与天然IL2(SEQ ID NO:2)相比,所述IL2多肽至少少一个糖基化。在一些实施方案中,所述融合蛋白具有IL2活性。

[0139] 7.3.1白介素-2

[0140] 在一些实施方案中,提供了一种融合蛋白,其包含与第二多肽框内融合的第一多肽,所述第一多肽包含白介素-2(IL2),所述第二多肽包含白介素-2受体α(IL2Rα)多肽的胞外结构域或由其组成。在一些实施方案中,所述融合蛋白包含第一多肽,所述第一多肽包含具有SEQ ID NO:2的IL2。在一些实施方案中,所述第一多肽包含与SEQ ID NO:2至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%相同的氨基酸序列。

[0141] 在一个实施方案中,所述IL2多肽是来自任何脊椎动物来源的天然或重组IL2,所述脊椎动物来源包括哺乳动物,如灵长类动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠),以及驯养或农业哺乳动物,除非另有说明。

[0142] 可用于本公开的IL2多肽在融合蛋白中表达。本文所述的融合蛋白特异性结合人IL2R,更具体地,人IL2Rα的胞外结构域内的特定结构域(例如,功能结构域)。在一些实施方案中,包含IL2的融合蛋白是拮抗剂。在一些实施方案中,包含IL2的融合蛋白以高亲和力与人IL2Rα结合。

[0143] 术语IL2涵盖未加工的IL2以及通过细胞中的加工产生的任何形式的IL2(即IL2的成熟形式)。所述术语还涵盖IL2的天然存在的变体和片段(例如剪接变体或等位基因变体),以及非天然存在的变体。人IL2的示例性成熟形式的氨基酸序列(具有20个氨基酸的信号序列)在SEQ ID NO:2中示出。未加工的人IL2还包含在成熟IL2分子中不存在的N末端20个氨基酸的信号肽(SEQ ID NO:1)。小鼠IL2的示例性成熟形式的氨基酸序列(具有20个氨基酸的信号序列)在SEQ ID NO:4中示出。未加工的小鼠IL2还包含在成熟IL2分子中不存在

的N末端20个氨基酸的信号肽(SEQ ID NO:3)。“天然IL2”也称为“野生型IL2”,意指天然存在的或重组的IL2。

[0144] IL2的其他核酸和氨基酸序列是已知的。参见,例如,GenBank登录号:Q7JFM2(鬼夜猴(Aotus lemurinus)(灰腹夜猴));Q7JFM5(秘鲁夜猴(Aotus nancymaae)(马夜猴));P05016(牛(Bas taurus)(牛));Q29416(家犬(犬)中华田园犬);P36835(山羊(Capra hircus)(山羊));和P37997(家马(Equus caballus)(马))。

[0145] 还提供了IL2的生物学活性片段和变体。此类IL2活性变体或片段将保留IL2活性。IL2的生物学活性可以指刺激带有IL2受体的淋巴细胞的能力。可以在体外和体内测量这种活性。IL2是免疫活性的整体调节剂,并且这里看到的效果是此类活性的总和。例如,其调节存活活性(Bcl-2)、诱导T效应活性(IFN-γ、颗粒酶B和穿孔素)和促进T调节活性(FoxP3)。参见,例如,Malek等人(2010)Immunity 33(2):153-65。

[0146] IL2的生物学活性变体是已知的。参见,例如,美国申请公开案2006/0269515和2006/0160187以及WO 99/60128。

[0147] IL2的生物学活性片段和变体可以用于本文公开的融合蛋白中。这种功能片段可以包含SEQ ID NO:2的至少10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、30个、40个、50个、75个、100个、125个、150个或更多个连续氨基酸。可替代地,功能变体可以包含与SEQ ID NO:2所示的序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。

[0148] 进一步提供了编码IL2蛋白质的多核苷酸的活性变体和片段。此类多核苷酸可以包含编码SEQ ID NO:2的多肽的至少100个、200个、300个、400个、500个、600个、700个连续核苷酸,并且继续编码具有IL2活性的蛋白质。可替代地,功能性多核苷酸可以包含与编码SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性,并且继续编码功能性IL2多肽。

[0149] IL2的示例性多肽序列在下表1中列出。

[0150] 表1

[0151]

SEQ ID NO	描述	序列
1	IL2(人,未加工)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNL AQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT
2	IL2(人,成熟形式)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYM PKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
3	IL2(小鼠,未加工)	MYSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQ HLEQLLMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQC LEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTF ECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ
4	IL2(小鼠,成熟形式)	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYR NLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSF QLEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRWIA FCQSIISTSPQ

[0152] 在一些实施方案中,本文提供的融合蛋白可以在IL2Rα的胞外结构域内包含至少

一个突变。在一些实施方案中,与天然IL2(SEQ ID NO:2)相比,IL2多肽至少少一个糖基化位点。在一些实施方案中,所述至少少一个糖基化位点是由于去除糖基化的一种或多种突变。

[0153] 在其他实施方案中,所述融合蛋白包含突变,所述突变是用不具有糖基化位点的氨基酸对具有糖基化位点的氨基酸的取代。在一些实施方案中,所述突变去除O-糖基化和/或N-糖基化。在一个实施方案中,所述突变去除了SEQ ID NO:2的氨基酸3处例如苏氨酸的O-糖基化。在另一个实施方案中,所述突变去除N-糖基化。

[0154] 在一些实施方案中,所述突变是用未糖基化的氨基酸对IL2的糖基化的氨基酸的一个或多个取代。在一些实施方案中,所述突变是用在附近氨基酸处不允许糖基化的氨基酸对IL2的在附近氨基酸处允许糖基化的氨基酸的一个或多个取代。

[0155] 在一些实施方案中,所述IL2的氨基酸的一个或多个取代是从丙氨酸到选自以下的氨基酸:精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0156] 在一些实施方案中,所述IL2的氨基酸的一个或多个取代是从苏氨酸到选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0157] 在一些实施方案中,所述IL2的氨基酸的一个或多个取代是从反应氨基酸例如半胱氨酸到选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从半胱氨酸到丝氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从半胱氨酸到丙氨酸。在一些实施方案中,所述一个或多个取代是从半胱氨酸到缬氨酸。

[0158] 在一些实施方案中,与对应于SEQ ID NO:2相比,所述一个或多个取代是在IL2的氨基酸T3处。

[0159] 在一些实施方案中,所述取代中的一个是在SEQ ID NO:2的氨基酸C125处。在特定实施方案中,所述氨基酸C125处的取代选自C125S、C125A和C125V。

[0160] 在一些实施方案中,所述突变是缺失。在特定实施方案中,所述缺失是在SEQ ID NO:2的氨基酸A1处。

[0161] 本公开文本还包括IL2多肽的任何其他突变。在其他实施方案中,所述突变还包括一个或多个取代,所述取代改善IL2的特性,例如,改善IL2活性、改善IL2的半衰期、改善稳定性等。

[0162] 如本节下面所公开的,本文列举的突变是相对于SEQ ID NO:2的氨基酸位置的突变。根据本发明,下文所述的任何单独的突变或与其他公开的突变或本领域中已知的任何突变的组合均可用于本文所述的一种或多种IL2融合蛋白中。

[0163] 在一些实施方案中,IL2包含在Carmenate等人,J Immunol,200(10)3475-3484(2018)和/或US 8,759,486中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基Q22、Q126、I129、S130或其任何组合处,例如,Q22V、Q126A、I129D、S130G或其任何组合。在一些实施方案中,IL2包含如在US 8,759,486 B2中公开的L18N、Q126Y和S130R中的一种或多种突变。在一些

实施方案中,IL2包含如在US 8,759,486B2中公开的Q13Y、Q126Y、I129D和S130R中的一种或多种突变。在一些实施方案中,IL2包含如在WO 2018/091003A1中公开的K35E、K35D和K35Q中的一种或多种突变。

[0164] 在一些实施方案中,IL2包含在Epstein等人Blood,101(12):4853-61](2003)和/或US 7,371,371中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基R38处,例如,R38W。在一些实施方案中,IL2包含如在US 7,371,371 B2中公开的R38W突变和IL2的氨基酸位置22至58之外的一种或多种突变。

[0165] 在一些实施方案中,IL2包含在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)和/或US 8,906,356中公开的一种或多种突变:例如,氨基酸残基91、126或二者,例如,V91R、Q126T或二者。在一些实施方案中,IL2包含如在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)中并且也在US 8,906,356中公开的E15W突变。在一些实施方案中,IL2包含如在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)中并且也在US 8,906,356中公开的N88R和V91R中的一种或两种突变。在一些实施方案中,IL2包含如在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)和/或US 8,906,356中公开的Q126T或Q126I突变。

[0166] 在一些实施方案中,IL2包含在US 8,906,356B2中公开的一种或多种突变:例如在氨基酸69、74、91、126或其任何组合处。在一些实施方案中,所述突变是如在US 8,906,356B2中公开的V91R、Q126T、Q126L、Q127T或其任何组合。

[0167] 在一些实施方案中,IL2包含在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)和/或US 7,569,215B2中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基E15、N30、E68、V69、N71、S75、N90或其任何组合处,例如,N30S、E68D、V69A、N71A、S75P、N90H或其任何组合。在一些实施方案中,IL2包含如在Wittrup等人Biochemistry,卷44,第31期(2005)中公开的E15W突变。在一些实施方案中,所述突变是如在US 7,569,215B2中公开的V69A。

[0168] 在一些实施方案中,IL2包含在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)和/或US 7,951,360B2中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基N29、Y31、K35、T37、K48、V69、N71、N88或其任何组合处,例如,N29S、Y31H、K35R、T37A、K48E、V69A、N71R、N88D或其任何组合。在一些实施方案中,IL2包含如在Wittrup等人Biochemistry,卷44,第31期(2005)中公开的E15W突变。

[0169] 在一些实施方案中,IL2包含在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)和/或US 8,349,311B2中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基69、74、128或其任何组合处,例如,V69A、I128P或其任何组合。

[0170] 在一些实施方案中,IL2包含在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基S4、T10、Q11、V69、N88、T133或其任何组合处,例如,S4P、T10A、Q11R、V69A、N88D、T133A或其任何组合。

[0171] 在一些实施方案中,IL2包含在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基N30、V69、I128或其任何组合处,例如,N30S、V69A、I128T或其任何组合。

[0172] 在一些实施方案中,IL2包含在Wittrup等人J Immunother.32(9):887-94(2009)中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基K8、Q13、N26、N30、K35、T37、V69或其任何组合处,例如,K8R、Q13R、N26D、N30T、K35R、T37R、V69A或其任何组合。

[0173] 在一些实施方案中,IL2包含在Shanafelt等人,Nat Biotechnol.,18(11):1197-202(2000)中公开的一种或多种突变,例如,在氨基酸残基N88处,例如,N88R。

[0174] 在一些实施方案中,IL2包含在US 9,616,105B2中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基20、88、126或其任何组合处,例如,N88R、N88G或N88I。在一些实施方案中,IL2包含如在US 9,616,105B2中公开的N88R、N88G或N88I突变。在一些实施方案中,IL2包含如在US 9,616,105 B2中公开的D20H、D20I或D20Y突变。在一些实施方案中,IL2包含如在US 9,616,105 B2中公开的Q126L突变。

[0175] 在一些实施方案中,IL2包含在US 2018/0125941 A1中公开的一种或多种突变:例如D20H、N88I、N88G、N88R、Q126L、Q126F或其任何组合。在一些实施方案中,IL2包含如在US 2018/0037624 A1中公开的T3A、N88G、N88R、D20H、C125S、Q126L和Q126F中的一种或多种突变。

[0176] 在一些实施方案中,IL2包含在US 2017/0327555 A1中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基N88、D20、C125、Q126或其任何组合处,例如,N88G、N88R、D20H、C125S、Q126L、Q126F或其任何组合。

[0177] 在一些实施方案中,IL2包含在WO 2016/025385 A1中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基D109、C125或二者处,例如,D109C、C125S或二者。在一些实施方案中,IL2包含在WO 2016/025385 A1中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基D20、N88、Q126、C125、Q126或其任何组合处,例如,D20H、N88I、N88G、N88R、Q126L、C125S、Q126F或其任何组合。

[0178] 在一些实施方案中,IL2包含在WO 2016/164937A1中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基L12、Q13、E15、H16、L19、D20、M23、D84、S87、N88、V91、E95或其任何组合处,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或其任何组合。

[0179] 在一些实施方案中,IL2包含在US 9,932,380 B2或US 9,580,486中公开的一种或多种突变:例如,在氨基酸残基V91处,例如,V91K。在一些实施方案中,IL2进一步包含C125A或C125S突变。在一些实施方案中,IL2进一步包含在T3处的突变。在一些实施方案中,在T3处的突变是T3A或T3N中的一种。在一些实施方案中,IL2包含在S5处的突变。在一些实施方案中,所述突变是S5T。

[0180] 在一些实施方案中,IL2包含在US 9,732,134 B2中公开的一种或多种突变:例如E15、H16、Q22、D84、N88、E95或其任何组合。

[0181] 在一些实施方案中,IL2包含在US 2015/0218260 A1中公开的一种或多种突变:例如,N88D。在一些实施方案中,IL2包含在US 9,266,938 B2中公开的突变:例如,在氨基酸残基42、45、72或其任何组合处,例如,L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R或L72K。在一些实施方案中,IL2包含F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R和F42K突变。在一些实施方案中,IL2包含Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R和Y45K突变。

[0182] 在一些实施方案中,IL2包含一至四种突变:第一种突变:L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R或L72K;第二种突变:F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R或F42K、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R或Y45K;第三种突变:T3A、T3G、T3Q、T3E、T3N、T3D、T3R、T3K或T3P;和/或第四种突变:C125A、C125S、C125T或C125V。本文列出的或在专利/专利出版物或本文引用的任何其他参考文件中披露的突变通过引用以其整体并入本文。

[0183] 7.3.2白介素-2受体α

[0184] 所述融合蛋白包含含有白介素-2受体α(IL2Rα)的胞外结构域的第二多肽。在一些实施方案中,IL2Rα的胞外结构域包含如SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述第二多肽包含与SEQ ID NO:7至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%相同的氨基酸序列。

[0185] 如本文所用,术语“CD25”或“IL2受体a”、“IL2Rα”“IL2Ra”、“IL2-Rα”和“IL2-Ra”是指来自任何脊椎动物来源的任何天然或重组IL2α,所述脊椎动物来源包括哺乳动物,如灵长类动物(例如,人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠),以及驯养或农业哺乳动物,除非另有说明。所述术语还涵盖IL2Rα的天然存在的变体(例如剪接变体或等位基因变体),或非天然存在的变体。人IL2经由通过其受体系统IL2R的信号传导发挥其生物学作用。IL2及其受体(IL2R)是T细胞增殖和其他对免疫应答重要的基本功能所需要的。IL2R由3个非共价连接的I型跨膜蛋白组成:α(p55)、β(p75)和γ(p65)链。人IL2Rα链含有219个氨基酸的胞外结构域、19个氨基酸的跨膜结构域和13个氨基酸的胞内结构域。IL2Rα(IL2Rα)的分泌的胞外结构域可用于本文所述的融合蛋白中。

[0186] 人IL2Rα的示例性成熟形式的氨基酸序列示于SEQ ID NO:6中。未加工的人IL2Rα示于SEQ ID NO:5中。SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:6的胞外结构域示于SEQ ID NO:7中。小鼠IL2Rα的示例性成熟形式的氨基酸序列示于SEQ ID NO:9中。未加工的小鼠IL2Rα示于SEQ ID NO:8中。SEQ ID NO:8和/或SEQ ID NO:9的胞外结构域示于SEQ ID NO:10中。“天然IL2Rα”也称为“野生型IL2Rα”,意指天然存在的或重组的IL2Rα。

[0187] IL2Rα的核酸和氨基酸序列是已知的。参见,例如GenBank登录号:NP_001030597.1(黑猩猩(P.troglodytes));NP_001028089.1(猕猴(M.mulatta));NM_001003211.1(狼(C.lupus));NP_776783.1(牛(B.taurus));NP_032393.3(小鼠(M.musculus));和NP_037295.1(大鼠(R.norvegicus))。

[0188] 除非另有说明,否则如本文所用的IL2Rα的胞外结构域意指发挥其与IL2结合的正常作用的功能性IL2Rα胞外结构域。术语IL2RαEC结构域包括保留全长野生型IL2RαEC在IL2结合方面的功能的功能片段、其变体、类似物或衍生物。IL2RαEC结构域可以是人、猪、犬、大鼠或小鼠IL2RαEC结构域。短语“IL2RαEC结构域的生物学活性”是指IL2Rα的EC结构域的一种或多种生物学活性,包括但不限于增强IL2受体反应性细胞中细胞内信号传导的能力。IL2RαEC结构域的生物学活性片段和变体的非限制性例子披露于例如Robb等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,85:5654-5658,1988。在一些实施方案中,与天然IL2Rα的胞外结构域相比,本文公开的IL2RαEC结构域的生物学活性片段和变体包含至少少一个糖基化。

[0189] IL2Rα的胞外结构域的生物学活性片段和变体可以用于本文公开的融合蛋白中。

这种功能片段可以包含SEQ ID NO:7的任何一个的胞外结构域的至少10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、30个、40个、50个、75个、100个、125个、150个、175个、200个、215个或更多个连续氨基酸。可替代地,功能变体可以包含与SEQ ID NO:7所示的序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。

[0190] 进一步提供了编码IL2Rα的胞外结构域的多核苷酸的活性变体和片段。此类多核苷酸可以包含编码SEQ ID NO:7的多肽的至少100个、200个、300个、400个、500个、600个或更多个连续核苷酸,并且继续编码具有IL2Rα的胞外结构域活性的蛋白质。可替代地,功能性多核苷酸可以包含与编码SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列的多核苷酸至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性,并且继续编码具有IL2Rα的胞外结构域活性的蛋白质。

[0191] IL2Rα的多肽序列在表2中列出。

[0192] 表2.

[0193]

SEQ ID NO	描述	序列
5	IL2Rα(人,未加工形式)	MDSYLLMWGLLTFIMVPGCQAELCDDDPPEIPHATFKAMA YKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQC QCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQAS LPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALH RGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQ ASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ VAVAGCVFLLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI
6	IL2Rα(人,成熟形式)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSG SLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQ KERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQ IQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGCVFLLISVLLLSGLTW QRRQRKSRRTI

[0194]

7	IL2Rα(人,IL2Rα胞外结构域的成熟形式)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSG SLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQ KERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQ IQTEMAATMETSIFTTEYQ
8	IL2Rα(小鼠,未加工形式)	MEPRLLMLGFLSLTIVPSCRAELCLYDPPEVPNATFKALS YKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSN SHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGH CREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPA ISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGSRN SSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETFVLTMEYKVAVA SCLFLLISILLLSGLTWQHRWRKSRRTI
9	IL2Rα(小鼠,成熟形式)	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKEL VYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQT TTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEG QSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCV DEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTE TTAMTETFVLTMEYKVAVASCLFLLISILLLSGLTWQHRW RKSRRTI
10	IL2Rα(小鼠,IL2Rα胞外结构域的成熟形式)	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKEL VYMRCLGNSWSSNCQCTSNILRASHDKSRKQVTAQLEHQK EQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYH FVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQ LTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYK
11	IL2Rα(人,IL2Rα胞外结构域的成熟形式)-全截短	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSG SLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQ KERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGE
12	IL2Rα(人,IL2Rα胞外结构域的成熟形式)-半截短	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSG SLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQ KERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS

[0195] 在一些实施方案中,本文提供的融合蛋白可以在IL2Rα的EC结构域内包含至少一个突变。

[0196] 在一些实施方案中,与天然IL2Rα的胞外结构域(SEQ ID NO:7)相比,IL2Rα多肽的EC结构域至少少一个糖基化、至少少两个糖基化、至少少三个糖基化、至少少四个糖基化、至少少五个糖基化、至少少六个糖基化、至少少七个糖基化、至少少八个糖基化或至少少九个糖基化。

[0197] 在一些实施方案中,至少少一个糖基化的IL2Rα多肽的EC结构域包含去除糖基化的突变。在其他实施方案中,所述融合蛋白包含突变,所述突变是用不具有糖基化位点的氨基酸对具有糖基化位点的氨基酸的取代。在一些实施方案中,所述突变去除O-糖基化和/或N-糖基化。在一个实施方案中,所述突变去除O-糖基化。在另一个实施方案中,所述突变去除N-糖基化。

[0198] 在一些实施方案中,融合蛋白中的突变包含IL2Rα的C末端的缺失。在一些实施方

案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸167至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸168至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸169至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸170至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸171至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸172至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸173至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸174至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸175至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸176至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸177至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸178至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸179至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸180至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸181至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸182至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸183至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸184至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸185至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸186至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸187至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸188至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸189至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸190至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸191至219的缺失。在一些实施方案中,所述突变是SEQ ID NO:7的氨基酸192至219的缺失。

[0199] 在一些实施方案中,所述突变是对应于SEQ ID NO:7的从167、168、169或171直到192至219的氨基酸的缺失。在一些实施方案中,所述突变不包括对应于SEQ ID NO:7的170至219的缺失。

[0200] 在一些实施方案中,所述第二多肽包含以下项,本质上由以下项组成或由以下项组成:与SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%相同的氨基酸序列。在其他实施方案中,所述第二多肽包含以下项,本质上由以下项组成或由以下项组成:SEQ ID NO:11和+1个、+2个、+3个、+4个、+5个、+6个、+7个、+8个、+9个、+10个、+11个、+12个、+13个、+14个、+15个、+16个、+17个、+18个、+19个、+20个、+21个、+22个、+23个、+24或+25个氨基酸。在一些实施方案中,所述第二多肽包含以下项,本质上由以下项组成或由以下项组成:SEQ ID NO:11以及不超过25个、24个、23个、22个、21个、20个、19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2或1个氨基酸。在一些实施方案中,所述第二多肽包含以下项,本质上由以下项组成或由以下项组成:与SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%相同的氨基酸序列。

[0201] 在一些实施方案中,所述融合蛋白包含一种或多种突变。在一些实施方案中,所述一种或多种突变是用未糖基化的氨基酸对IL2Rα的糖基化的氨基酸的一个或多个取代。

[0202] 在一些实施方案中,所述IL2Rα的氨基酸的一个或多个取代是在氨基酸N49、氨基

酸N68、氨基酸T74、氨基酸T85、氨基酸T197、氨基酸T203、氨基酸T208和氨基酸T216或其任何组合处，其中所述氨基酸位置对应于SEQ ID NO:7。

[0203] 在一些实施方案中，所述一个或多个取代是从天冬酰胺到另一个氨基酸。在一些实施方案中，所述一个或多个取代是从天冬酰胺到选自以下的氨基酸：丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0204] 在一些实施方案中，所述一个或多个取代是从苏氨酸到另一个氨基酸。在一些实施方案中，所述一个或多个取代是从苏氨酸到选自以下的氨基酸：丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0205] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸N49。在一些实施方案中，SEQ ID NO:7的氨基酸N49突变为选自以下的氨基酸：丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0206] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸N68。在一些实施方案中，SEQ ID NO:7的氨基酸N68突变为选自以下的氨基酸：丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0207] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸T74。在一些实施方案中，SEQ ID NO:7的氨基酸T74突变为选自以下的氨基酸：丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0208] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸T85。在一些实施方案中，SEQ ID NO:7的氨基酸T85突变为选自以下的氨基酸：丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0209] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸T197。在一些实施方案中，SEQ ID NO:7的氨基酸T197突变为选自以下的氨基酸：丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0210] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸T203。在一些实施方案中，SEQ ID NO:7的氨基酸T203突变为选自以下的氨基酸：丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0211] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸T208。在一些实施方案中，SEQ ID NO:7的氨基酸T208突变为选自以下的氨基酸：丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0212] 在一些实施方案中，所述取代是SEQ ID NO:7的氨基酸T216。在一些实施方案中，

SEQ ID NO:7的氨基酸T216突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0213] 在一些实施方案中,所述融合蛋白包含一种或多种突变。在一些实施方案中,所述一种或多种突变是用在附近氨基酸处不允许糖基化的氨基酸对IL2Rα的在附近氨基酸处允许糖基化的氨基酸的一个或多个取代。

[0214] 在一些实施方案中,所述取代是在氨基酸S50、氨基酸S51、氨基酸T69、氨基酸T70、氨基酸C192或其任何组合处,其中所述氨基酸位置对应于SEQ ID NO:7。

[0215] 在一些实施方案中,所述取代是对应于SEQ ID NO:7的氨基酸S50。在一些实施方案中,对应于SEQ ID NO:7的氨基酸S50突变为脯氨酸。

[0216] 在一些实施方案中,所述取代是对应于SEQ ID NO:7的氨基酸S51。在一些实施方案中,对应于SEQ ID NO:7的氨基酸S51突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0217] 在一些实施方案中,所述取代是对应于SEQ ID NO:7的氨基酸T69。在一些实施方案中,对应于SEQ ID NO:7的氨基酸T69突变为脯氨酸。

[0218] 在一些实施方案中,所述取代是对应于SEQ ID NO:7的氨基酸T70。在一些实施方案中,对应于SEQ ID NO:7的氨基酸T70突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0219] 在一些实施方案中,所述取代是对应于SEQ ID NO:7的氨基酸C192。在一些实施方案中,对应于SEQ ID NO:7的氨基酸C192突变为选自以下的氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0220] 7.3.3接头

[0221] 本公开文本的融合蛋白可以进一步包含接头。在一些实施方案中,所述接头可以以N末端到C末端将第一多肽连接至第二多肽,例如,N-IL2-接头-IL2RαEC-C。在其他实施方案中,所述接头可以以N末端到C末端将第二多肽连接至第一多肽,例如N-IL2RαEC-接头-IL2-C。

[0222] 在一个实施方案中,IL2/IL2Rα融合蛋白包含位于IL2多肽与IL2Rα多肽之间的接头序列。所述接头可以是任何长度并且可以包含至少1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、25个、30个、31个、32个、33个、34个、35个、36个、37个、38个、39个、40个、50个或60个或更多个氨基酸。在其他实施方案中,用于本公开文本的接头具有至少一个氨基酸并且少于100个氨基酸、少于90个氨基酸、少于80个氨基酸、少于70个氨基酸、少于60个氨基酸、少于50个氨基酸、少于40个氨基酸、少于30个氨基酸、少于20个氨基酸、少于19个氨基酸、少于18个氨基酸、少于17个氨基酸、少于16个氨基酸、少于15个氨基酸、少于14个氨基酸、少于13个氨基酸或少于12个氨基酸。在一实施方案中,所述接头序列包含甘氨酸氨基酸残基。在其他情况下,所述接头序列包含甘氨酸和丝氨酸氨基酸残基的组合。

[0223] 在一些实施方案中,所述融合蛋白包含在第一多肽与第二多肽之间的框内融合的接头。在一些实施方案中,融合蛋白包含为甘氨酸/丝氨酸接头的接头。此类甘氨酸/丝氨酸接头可以包含氨基酸残基的任何组合,包括但不限于肽GGGS(SEQ ID NO:174)或GGGGS(SEQ ID NO:72)或其重复序列,包括这些给出的肽的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个重复序列。本文公开的甘氨酸/丝氨酸接头包含$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GGGS)_n$、$(GGGGS)_n$或$(GGGGS)_n$的氨基酸序列,其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。在特定实施方案中,所述接头序列包含GGGSGGGSGGGS(SEQ ID NO:71)(也称为$(Gly_3Ser)_3$)。在另一个实施方案中,所述接头序列包含GGGSGGGSGGGSGGGS(SEQ ID NO:74)(也称为$(Gly_3Ser)_4$)。在其他实施方案中,所述接头序列包含$(Gly_3Ser)_5$(GGGSGGGSGGGSGGGSGGGS)(SEQ ID NO:75)、$(Gly_3Ser)_6$(GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGS)(SEQ ID NO:76)或$(Gly_3Ser)_7$(GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGS)(SEQ ID NO:77)中的一种。在其他实施方案中,所述接头序列包含$(Gly_4Ser)_3$(GGGGSGGGGSGGGGS),如SEQ ID NO:78所示。在另外的实施方案中,所述接头序列包含GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:79)(也称为$(Gly_4Ser)_4$);GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:80)(也称为$(Gly_4Ser)_5$);$(Gly_4Ser)_2$(GGGGSGGGGS)(SEQ ID NO:81)、$(Gly_4Ser)_1$(GGGGS)(SEQ ID NO:82)、$(Gly_4Ser)_6$(GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS)(SEQ ID NO:83);$(Gly_4Ser)_7$(GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS)(SEQ ID NO:97);或$(Gly_4Ser)_5$(GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS)(SEQ ID NO:84)。

[0224] 7.3.4异源部分

[0225] 本公开文本的融合蛋白可以进一步包含另外的元件,例如异源部分。此类元件可以帮助融合蛋白的表达、帮助融合蛋白的分泌、改善融合蛋白的稳定性、允许更有效地纯化蛋白和/或调节融合蛋白的活性。在一些实施方案中,所述异源部分是多肽部分。在其他实施方案中,所述异源部分是非多肽部分。

[0226] 在一些实施方案中,所述融合蛋白包含与第一多肽融合的异源部分。在一些实施方案中,所述融合蛋白包含与第二多肽融合的异源部分。在一些实施方案中,所述融合蛋白包含与第一多肽和第二多肽融合的异源部分。

[0227] 在一些实施方案中,本文公开的融合蛋白包含一个或多个另外的异源部分。在一些实施方案中,所述异源部分是半衰期延长部分。在一些实施方案中,所述异源部分包含白蛋白、免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G(IgG)、白蛋白结合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc区及其任何组合。

[0228] 1)免疫球蛋白恒定区或其部分

[0229] 免疫球蛋白恒定区由表示为CH(恒定重)结构域(CH1、CH2等)的结构域构成。根据同种型(即IgG、IgM、IgA、IgD或IgE),恒定区可以由三个或四个CH结构域构成。一些同种型(例如IgG)恒定区还含有铰链区。参见Janeway等人2001,Immunobiology,Garland Publishing,纽约,纽约州。

[0230] 本公开文本的用于产生融合蛋白的免疫球蛋白恒定区或其部分可以从多种不同来源获得。在优选的实施方案中,免疫球蛋白恒定区或其部分衍生自人免疫球蛋白。然而,应理解,免疫球蛋白恒定区或其部分可以衍生自另一哺乳动物物种的免疫球蛋白,所述另一种哺乳动物物种包括例如啮齿动物(例如,小鼠、大鼠、兔、豚鼠)或非人灵长类动物(例

如,黑猩猩、猕猴)物种。此外,免疫球蛋白恒定区或其部分可以衍生自任何免疫球蛋白类别(包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE)以及任何免疫球蛋白同种型(包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。在一个实施方案中,使用人同种型IgG1。

[0231] 多个免疫球蛋白恒定区基因序列(例如,人恒定区基因序列)能以可公开获得的存放物的形式获得。可以选择具有特定效应子功能(或缺少特定效应子功能)或具有特定修饰的恒定区结构域序列以降低免疫原性。已经公开了许多抗体和抗体编码基因的序列并且适宜的Ig恒定区序列(例如,铰链、CH2和/或CH3序列或其部分)可以使用本领域公认的技术衍生自这些序列。然后可以改变或合成使用任何前述方法获得的遗传物质以获得本公开文本的多肽。应进一步了解,本公开文本的范围涵盖恒定区DNA序列的等位基因、变体和突变。

[0232] 免疫球蛋白恒定区或其部分的序列可以例如使用聚合酶链式反应和所选的用于扩增目的结构域的引物来克隆。为了从抗体克隆免疫球蛋白恒定区或其部分的序列,可以从杂交瘤、脾脏或淋巴细胞分离mRNA,逆转录成DNA,并通过PCR扩增抗体基因。PCR扩增方法详细描述于美国专利号4,683,195;4,683,202;4,800,159;4,965,188;以及描述于例如,"PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications"Innis等人编辑,Academic Press,San Diego,CA(1990);Ho等人1989.Gene 77:51;Horton等人1993.Methods Enzymol.217:270)。PCR可以基于所公开的重链和轻链DNA和氨基酸序列由共有恒定区引物或由更具特异性的引物来起始。如上所讨论的,PCR还可以用于分离编码抗体轻链和重链的DNA克隆。在这种情况下,可以通过共有引物或较大同源探针(如小鼠恒定区探针)筛选文库。适于扩增抗体基因的多个引物组是本领域中已知的(例如,基于经纯化抗体的N末端序列的5'引物(Benhar和Pastan.1994.Protein Engineering 7:1509);cDNA末端的快速扩增(Ruberti,F.等人1994.J.Immunol.Methods 173:33);抗体前导序列(Larrick等人1989Biochem.Biophys.Res.Commun.160:1250))。抗体序列的克隆进一步描述于Newman等人于1995年1月25日提交的美国专利号5,658,570中。

[0233] 本文所用的免疫球蛋白恒定区可以包括所有结构域和铰链区或其部分。在一个实施方案中,免疫球蛋白恒定区或其部分包含CH2结构域、CH3结构域和铰链区,即Fc区或FcRn结合配偶体。

[0234] 如本文所用,术语"Fc区"定义为多肽中对应于天然免疫球蛋白的Fc区的部分,即如通过其两条重链的相应Fc结构域的二聚缔合所形成。天然Fc区与另一Fc区形成同二聚体。

[0235] 在一个实施方案中,"Fc区"是指单条免疫球蛋白重链的如下部分,其始于紧邻木瓜蛋白酶切割位点(即,IgG中的残基216,以重链恒定区的第一个残基为114)上游的铰链区并终于抗体的C末端。因此,完整Fc结构域至少包含铰链结构域、CH2结构域和CH3结构域。

[0236] 根据免疫球蛋白同种型,免疫球蛋白恒定区的Fc区可以包括CH2、CH3和CH4结构域以及铰链区。包含免疫球蛋白的Fc区的融合蛋白赋予融合蛋白若干种所需特性,包括增加的稳定性、增加的血清半衰期(参见Capon等人,1989,Nature 337:525)以及与Fc受体(如新生儿Fc受体(FcRn))的结合(美国专利号6,086,875、6,485,726、6,030,613;WO 03/077834;US2003-0235536A1)。

[0237] 在一些实施方案中,"Fc区"包括Fc结构域或衍生自Fc结构域的氨基酸序列。在某些实施方案中,Fc区包含以下中的至少一者:铰链(例如,上部、中间和/或下部铰链区)结构

域(根据EU编号的抗体Fc区的约氨基酸216-230)、CH2结构域(根据EU编号的抗体Fc区的约氨基酸231-340)、CH3结构域(根据EU编号的抗体Fc区的约氨基酸341-438)、CH4结构域或其变体、部分或片段。在其他实施方案中,Fc区包含完整的Fc结构域(即,铰链结构域、CH2结构域和CH3结构域)。在一些实施方案中,Fc区包含以下项,本质上由以下项组成或由以下项组成:与CH3结构域(或其一部分)融合的铰链结构域(或其部分)、与CH2结构域(或其部分)融合的铰链结构域(或其部分)、与CH3结构域(或其部分)融合的CH2结构域(或其部分)、与铰链结构域(或其部分)和CH3结构域(或其部分)融合的CH2结构域(或其部分)。在再其他实施方案中,Fc区缺乏CH2结构域的至少一部分(例如,CH2结构域的全部或部分)。在特定实施方案中,Fc区包含对应于EU编号221至447的氨基酸或由其组成。

[0238] 本文中表示为F、F1或F2的Fc结构域可以从许多不同来源获得。在一个实施方案中,多肽的Fc区衍生自人免疫球蛋白。然而,应理解,Fc区可以衍生自另一哺乳动物物种的免疫球蛋白,所述哺乳动物物种包括例如啮齿动物(例如,小鼠、大鼠、兔、豚鼠)或非人灵长类动物(例如,黑猩猩、猕猴)物种。此外,Fc结构域或其部分的多肽可以衍生自任何免疫球蛋白类别(包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE)以及任何免疫球蛋白同种型(包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。在另一个实施方案中,使用人同种型IgG1。

[0239] 在某些实施方案中,Fc变体赋予至少一种由包含所述野生型Fc结构域的Fc区赋予的效应子功能的变化(例如,Fc区结合至Fc受体(例如FcγRI、FcγRII或FcγRIII)或补体蛋白(例如,C1q)或触发抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、吞噬作用或补体依赖性细胞毒性(CDCC)的能力的改进或降低)。在其他实施方案中,Fc变体提供工程化半胱氨酸残基。

[0240] 本公开文本的Fc区可以利用本领域公认的Fc变体,已知所述Fc变体可赋予效应子功能和/或FcR结合的变化(例如,增强或降低)。具体来说,本公开文本的结合分子可以包括例如在以下文献中披露的一个或多个氨基酸位置处的变化(例如,取代):国际PCT公开案WO 88/07089A1、WO 96/14339A1、WO 98/05787A1、WO 98/23289A1、WO 99/51642A1、WO 99/58572A1、WO 00/09560A2、WO 00/32767A1、WO 00/42072A2、WO 02/44215A2、WO 02/060919A2、WO 03/074569A2、WO 04/016750A2、WO 04/029207A2、WO 04/035752A2、WO 04/063351A2、WO 04/074455A2、WO 04/099249A2、WO 05/040217A2、WO 04/044859、WO 05/070963A1、WO 05/077981A2、WO 05/092925A2、WO 05/123780A2、WO 06/019447A1、WO 06/047350A2和WO 06/085967A2;美国专利公开号US 2007/0231329、US 2007/0231329、US 2007/0237765、US 2007/0237766、US 2007/0237767、US 2007/0243188、US 20070248603、US 20070286859、US 20080057056;或美国专利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和7,317,091。在一个实施方案中,可以在一个或多个所公开的氨基酸位置进行特定变化(例如,本领域中披露的一个或多个氨基酸的特定取代)。在另一个实施方案中,可以在一个或多个所公开氨基酸位置进行不同变化(例如,本领域中披露的一个或多个氨基酸位置的不同取代)。

[0241] IgG的Fc区可以根据公认程序(如定点诱变等)来修饰,以产生将由Fc受体结合的经修饰IgG或其Fc片段或部分。此类修饰包括远离Fc受体接触位点的修饰以及在接触位点内的修饰,所述修饰保留或甚至增强与Fc受体的结合。例如,可以在不显著损失Fc对Fc受体的结合亲和性的情况下取代人IgG1 Fc(FcγI)中的以下单个氨基酸残基: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和K447A,其中例如P238A代表在位置编号238处由丙氨酸取代野生型脯氨酸。作为例子,一个具体实施方案并入N297A突变,从而去除高度保守的N糖基化位点。在上文指定的位置处,除了丙氨酸以外,可以用其他氨基酸取代野生型氨基酸。可以将突变引入Fc中,从而产生多于一百个与天然Fc不同的Fc区。另外,这些单独突变中的两个、三个或更多个的组合可以一起引入,从而产生另外数百个Fc区。此外,可以将本公开文本的构建体的一个Fc区突变而不将所述构建体的另一个Fc区突变,或者可以将它们都突变但是具有不同的突变。

[0242] 某些上述突变可以对Fc区赋予新功能。例如,一个实施方案并入N297A,从而去除高度保守的N糖基化位点。这个突变的作用是降低免疫原性,由此增强Fc区的循环半衰期,并使Fc区不能结合至FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB和FcγRIIIA,并且不损害亲和性(Routledge等人1995,Transplantation 60:847;Friend等人1999,Transplantation 68:1632;Shields等人1995,J.Biol.Chem.276:6591)。作为从上述突变产生的新功能的另一例子,对Fc受体的亲和性可以增加,在一些情况下超过野生型的亲和性。这种增加的亲和性可以反映增加的“缔合”速率、降低的“解离”速率、或增加的“缔合”速率与降低的“解离”速率二者。相信可赋予增加的对Fc受体的亲和性的突变的例子包括但不限于T256A、T307A、E380A和N434A(Shields等人2001,J.Biol.Chem.276:6591)。

[0243] 另外,至少三种人FcγRI受体显现识别IgG上在下铰链区内的结合位点,通常是氨基酸234-237。因此,如例如通过将人IgG1的氨基酸233-236“ELLG”替代为来自IgG2的相应序列“PVA”(一个氨基酸缺失),可以从这个区域的突变产生新功能的另一例子和可能降低的免疫原性。已经显示,在已经引入此类突变时,介导各种效应子功能的FcγRI、FcγRII和FcγRIII不会结合至IgG1。Ward和Ghetie 1995,Therapeutic Immunology 2:77;和Armour等人1999,Eur.J.Immunol.29:2613。

[0244] 在一个实施方案中,所述免疫球蛋白恒定区或其部分,例如Fc区,是包括PKNSSMISNTP(SEQ ID NO:98)序列的多肽,并且任选地进一步包括选自以下的序列:HQSLGTQ(SEQ ID NO:93)、HQNLSDGK(SEQ ID NO:94)、HQNISDGK(SEQ ID NO:95)或VISSHLGQ(SEQ ID NO:96)(美国专利号5,739,277)。

[0245] 在某些实施方案中,免疫球蛋白恒定区或其部分是半糖基化的。例如,包含两个Fc区或FcRn结合配偶体的融合蛋白可包含第一糖基化Fc区(例如,糖基化的CH2区)和第二非糖基化Fc区(例如,非糖基化的CH2区)。在一个实施方案中,可以在糖基化与非糖基化Fc区之间插入接头。在另一个实施方案中,Fc区或FcRn结合配偶体被完全糖基化,即所有的Fc区都被糖基化。在其他实施方案中,Fc区可以是非糖基化的,即,没有Fc部分被糖基化。

[0246] 在某些实施方案中,本公开文本的融合蛋白包含对免疫球蛋白恒定区或其部分的氨基酸取代(例如,Fc变体),所述氨基酸取代改变Ig恒定区的抗原非依赖性效应子功能,特别是蛋白质的循环半衰期。

[0247] 当与缺乏这些取代的蛋白质相比时,此类蛋白质展现出与Fc受体的增加或减少的结合,因此在血清中分别具有增加或减少的半衰期。具有改善的对Fc受体的亲和力的Fc变体预期具有较长的血清半衰期,并且此类分子在治疗哺乳动物的方法中具有有用的应用,在所述哺乳动物中需要所给予的多肽具有长半衰期例如以治疗慢性疾病或障碍(参见,例如,美国专利号7,348,004、7,404,956和7,862,820)。相反,具有减小的Fc受体结合亲和力的Fc变体预期具有较短的半衰期,并且此类分子也可用于例如给予至哺乳动物,在所述哺乳动物中缩短的循环时间可能是有利的,例如,对于体内诊断成像或者在当起始多肽长期存在于循环中时具有毒副作用的情况下。具有降低的Fc受体结合亲和力的Fc变体也不太可能穿过胎盘,因此也可用于治疗孕妇的疾病或障碍。另外,可能需要降低的Fc受体结合亲和力的其他应用包括需要定位到脑、肾和/或肝脏的那些应用。在一个示例性实施方案中,本公开文本的融合蛋白展现从脉管系统穿过肾小球上皮的运输减少。在另一个实施方案中,本公开文本的融合蛋白展现从脑穿过血脑屏障(BBB)进入血管空间的转运减少。在一个实施方案中,具有改变的Fc受体结合的蛋白质包含在Ig恒定区的"Fc受体结合环"内具有一个或多个氨基酸取代的至少一个Fc区(例如,一个或两个Fc区)。Fc受体结合环由野生型全长Fc区的氨基酸残基280-299(根据EU编号)构成。在其他实施方案中,具有改变的Fc受体结合亲和力的本公开文本的Ig恒定区或其部分包含至少一个Fc区,所述至少一个Fc区在对应于以下EU位置中任一个的氨基酸位置处具有一个或多个氨基酸取代:256、277-281、283-288、303-309、313、338、342、376、381、384、385、387、434(例如,N434A或N434K)和438。在国际PCT公开号WO05/047327中公开了改变Fc受体结合活性的示例性氨基酸取代。

[0248] 2)白蛋白或其片段或变体

[0249] 在某些实施方案中,与IL2多肽和/或IL2RαEC结构域连接的异源部分是白蛋白或其功能片段。

[0250] 人血清白蛋白(HSA或HA)是其全长形式的609个氨基酸的蛋白质,负责血清渗透压的大部分,并且还用作内源和外源配体的载体。如本文所用,术语"白蛋白"包括全长白蛋白或其功能片段、变体、衍生物或类似物。

[0251] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含本文所述的IL2多肽和IL2RαEC结构域以及白蛋白、其片段或变体,其中所述IL2多肽与白蛋白或其片段或变体连接。在另一个实施方案中,所述融合蛋白包含本文所述的IL2多肽和IL2RαEC结构域以及白蛋白、其片段或变体,其中所述IL2RαEC与白蛋白或其片段或变体连接。

[0252] 在其他实施方案中,与IL2多肽和IL2RαEC结构域连接的异源部分是白蛋白或其片段或变体,其延长(或能够延长)IL2多肽和IL2RαEC结构域的半衰期。白蛋白或其片段或变体的另外的例子公开于美国专利公开号2008/0194481 A1、2008/0004206 A1、2008/0161243 A1、2008/0261877 A1或2008/0153751 A1或PCT申请公开号2008/033413 A2、2009/058322 A1或2007/021494 A2。

[0253] 3)白蛋白结合部分

[0254] 在某些实施方案中,与IL2多肽和IL2RαEC结构域连接的异源部分是白蛋白结合部

分,所述白蛋白结合部分包含白蛋白结合肽、细菌白蛋白结合结构域、白蛋白结合抗体片段或其任何组合。例如,白蛋白结合蛋白可以是细菌白蛋白结合蛋白、抗体或抗体片段,包括结构域抗体(参见美国专利号6,696,245)。例如,白蛋白结合蛋白可以是细菌白蛋白结合结构域,如一种链球菌蛋白G(Konig,T.和Skerra,A.(1998)J.Immunol.Methods 218,73-83)。可以用作缀合配偶体的白蛋白结合肽的其他例子是例如具有Cys-Xaa_1-Xaa_2-Xaa_3-Xaa_4-Cys共有序列的那些白蛋白结合肽,其中Xaa_1是Asp、Asn、Ser、Thr或Trp;Xaa_2是Asn、Gln、His、Ile、Leu或Lys;Xaa_3是Ala、Asp、Phe、Trp或Tyr;并且Xaa_4是Asp、Gly、Leu、Phe、Ser或Thr,如美国专利申请2003/0069395或Dennis等人(Dennis等人(2002)J.Biol.Chem.277,35035-35043)中所述。

[0255] 4)PAS序列

[0256] 在其他实施方案中,与IL2多肽和IL2RαEC结构域连接的异源部分是PAS序列。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含本文所述的IL2多肽和IL2RαEC结构域以及PAS序列,其中所述IL2多肽和/或IL2RαEC结构域与PAS序列连接。

[0257] 如本文所用的PAS序列意指主要包含丙氨酸和丝氨酸残基或主要包含丙氨酸、丝氨酸和脯氨酸残基的氨基酸序列,所述氨基酸序列在生理条件下形成随机螺旋构象。因此,PAS序列是包含丙氨酸、丝氨酸和脯氨酸、本质上由所述氨基酸组成或由所述氨基酸组成的结构单元、氨基酸聚合物或序列盒,其可以用作融合蛋白中异源部分的一部分。然而,技术人员知道,在添加除了丙氨酸、丝氨酸和脯氨酸以外的残基作为PAS序列中的次要成分时,氨基酸聚合物还可以形成随机螺旋构象。如本文所用,术语“次要成分”意指,可以在PAS序列中添加除了丙氨酸、丝氨酸和脯氨酸以外的氨基酸至某种程度,例如,高达约12%,即PAS序列的100个氨基酸中的约12个;高达约10%,即PAS序列的100个氨基酸中的约10个;高达约9%,即100个氨基酸中的约9个;高达约8%,即100个氨基酸中的约8个;约6%,即100个氨基酸中的约6个;约5%,即100个氨基酸中的约5个;约4%,即100个氨基酸中的约4个;约3%,即100个氨基酸中的约3个;约2%,即100个氨基酸中的约2个;约1%,即100个氨基酸中的约1个。与丙氨酸、丝氨酸和脯氨酸不同的氨基酸可以选自Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Thr、Trp、Tyr和Val。

[0258] 在生理条件下,PAS序列段形成随机螺旋构象,由此可以介导IL2多肽的增加的体内和/或体外稳定性。由于随机螺旋结构域自身不具有稳定结构或功能,本质上保留了由IL2多肽和与其融合的IL2RαEC结构域介导的生物学活性。在其他实施方案中,尤其关于血浆中的蛋白质水解、免疫原性、等电点/静电行为、与细胞表面受体的结合或内化,形成随机螺旋结构域的PAS序列具有生物惰性,但仍然是生物可降解的,这提供了优于诸如PEG等合成聚合物的明显优势。

[0259] 形成随机螺旋构象的PAS序列的非限制性例子包含选自以下的氨基酸序列: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)和ASAAAPAAASAAASAPSAAA(SEQ ID NO:91)或任何组合。PAS序列的其他例子是从例如以下文献得知:美国专利公开号2010/0292130 A1和PCT申请公开号WO 2008/155134 A1。

[0260] 5)HAP序列

[0261] 在某些实施方案中,与IL2多肽和IL2RαEC结构域连接的异源部分是富含甘氨酸的同氨基酸聚合物(HAP)。HAP序列可以包含甘氨酸的重复序列,所述重复序列的长度为至少50个氨基酸、至少100个氨基酸、120个氨基酸、140个氨基酸、160个氨基酸、180个氨基酸、200个氨基酸、250个氨基酸、300个氨基酸、350个氨基酸、400个氨基酸、450个氨基酸或500个氨基酸。在一个实施方案中,HAP序列能够延长融合至或连接至HAP序列的部分的半衰期。HAP序列的非限制性例子包括但不限于$(Gly)_n$、$(Gly_4Ser)_n$或$S(Gly_4Ser)_n$,其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一个实施方案中,n是20、21、22、23、24、25、26、26、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40。在另一个实施方案中,n是50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200。

[0262] 6)转铁蛋白或其片段

[0263] 在某些实施方案中,与IL2多肽和IL2RαEC结构域连接的异源部分是转铁蛋白或其片段。任何转铁蛋白都可以用于制备本公开文本的融合蛋白。作为例子,野生型人Tf(Tf)是679个氨基酸的蛋白质,大约75KDa(不计糖基化),具有显现源自基因重复的两个主要结构域N(约330个氨基酸)和C(约340个氨基酸)。参见GenBank登录号NM001063、XM002793、M12530、XM039845、XM 039847和S95936(www.ncbi.nlm.nih.gov/)。转铁蛋白包含两个结构域N结构域和C结构域。N结构域包含两个子结构域N1结构域和N2结构域,并且C结构域包含两个子结构域C1结构域和C2结构域。

[0264] 在一个实施方案中,融合蛋白的转铁蛋白部分包括转铁蛋白剪接变体。在一个例子中,转铁蛋白剪接变体可以是人转铁蛋白的剪接变体,例如Genbank登录号AAA61140。在另一个实施方案中,融合蛋白的转铁蛋白部分包括转铁蛋白序列的一个或多个结构域,例如N结构域、C结构域、N1结构域、N2结构域、C1结构域、C2结构域或其任何组合。

[0265] 7)聚合物,例如聚乙二醇(PEG)

[0266] 在其他实施方案中,与IL2多肽和IL2RαEC结构域附接的异源部分是本领域已知的可溶性聚合物,包括但不限于聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖或聚乙烯醇。所述异源部分如可溶性聚合物可以与IL2多肽或IL2RαEC结构域内的任何位置或N或C末端附接。

[0267] 本公开文本还提供了本公开文本的融合蛋白的化学修饰的衍生物,所述衍生物可以提供另外的优点,例如增加的多肽溶解度、稳定性和循环时间,或降低的免疫原性(参见美国专利号4,179,337)。用于修饰的化学部分可以选自水溶性聚合物,包括但不限于聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖和聚乙烯醇。融合蛋白可以在分子内的随机位置处或在N或C末端处,或在分子内的预定位置处被修饰,并且可以包括一个、两个、三个或更多个附接的化学部分。

[0268] 所述聚合物可以具有任何分子量,并且可以有支链或无支链。对于聚乙二醇,在一个实施方案中,所述分子量在约1kDa与约100kDa之间,以易于处理和制造。可以使用其他大小,这取决于所需的特性(例如所需的持续释放的持续时间、对生物学活性的影响(如果有的话)、易于处理、抗原性的程度或缺乏抗原性、以及聚乙二醇对蛋白质或类似物的其他已知影响)。例如,所述聚乙二醇可以具有以下的平均分子量:约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100,000kDa。

[0269] 在一些实施方案中,所述聚乙二醇可以具有支链结构。支链聚乙二醇描述于例如美国专利号5,643,575;Morpurgo等人,Appl.Biochem.Biotechnol.56:59-72(1996);Vorobjev等人,Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750(1999);和Caliceti等人,Bioconjug.Chem.10:638-646(1999)。

[0270] 与本公开文本的每种融合蛋白、IL2多肽或IL2RαEC结构域附接的聚乙二醇部分的数量(即,取代度)也可以变化。例如,本公开文本的聚乙二醇化蛋白可以平均与1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、12个、15个、17个、20个或更多个聚乙二醇分子连接。类似地,平均取代度在如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个聚乙二醇部分/个蛋白质分子的范围内。确定取代度的方法在例如Delgado等人,Crit.Rev.Thera.Drug Carrier Sys.9:249-304(1992)中讨论。

[0271] 在其他实施方案中,本公开文本中使用的IL2多肽和IL2RαEC结构域与一种或多种聚合物缀合。所述聚合物可以是水溶性的,并且与IL2多肽、IL2RαEC结构域、或与IL2多肽或IL2RαEC结构域缀合的其他部分共价或非共价附接。聚合物的非限制性例子可以是聚(环氧烷)、聚(乙烯基吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚噁唑啉或聚(丙烯酰吗啉)。

[0272] 8)羟乙基淀粉(HES)

[0273] 在某些实施方案中,与IL2多肽和IL2RαEC结构域连接的异源部分是聚合物,例如,羟乙基淀粉(HES)或其衍生物。在一个实施方案中,融合蛋白包含本文所述的IL2多肽和HES,其中所述IL2多肽和IL2RαEC结构域与HES连接。

[0274] 羟乙基淀粉(HES)是天然存在的支链淀粉的衍生物,并且在体内被α-淀粉酶降解。HES是碳水化合物聚合物支链淀粉的取代衍生物,其在玉米淀粉中按重量计以高达95%的浓度存在。HES展现有利的生物学特性并且在临床中用作血容量替代剂以及用于血液稀释疗法(Sommermeyer等人,Krankenhauspharmazie,8(8),271-278(1987);和Weidler等人,Arzneim.-For schung/Drug Res.,41,494-498(1991))。

[0275] 支链淀粉含有葡萄糖部分,其中在主链中存在α-1,4-糖苷键,并且在分支位点发现α-1,6-糖苷键。此分子的物理化学特性主要由糖苷键的类型决定。由于带切口的α-1,4-糖苷键,产生了每转具有约六个葡萄糖单体的螺旋结构。聚合物的物理化学和生物化学特性可以经由取代来改变。羟乙基的引入可以经由碱羟乙基化来实现。通过调整反应条件,关于羟乙基化可能利用未取代的葡萄糖单体中的各自的羟基基团的不同反应性。由于这个事实,技术人员能够在有限程度上影响取代模式。

[0276] HES的主要特征在于分子量分布和取代度。表示为DS的取代度与摩尔取代相关,这是技术人员已知的。参见,如上文引用的Sommermeyer等人,Krankenhauspharmazie,8(8),271-278(1987),特别是第273页。

[0277] 在一个实施方案中,羟乙基淀粉具有从1至300kD、2至200kD、3至100kD或4至70kD的平均分子量(重量平均)。关于羟乙基,羟乙基淀粉可以进一步展现从0.1至3、优选0.1至2、更优选0.1至0.9、优选0.1至0.8的摩尔取代度,以及从2至20范围内的C2:C6取代之间的

比率。具有约130kD的平均分子量的HES的非限制性例子是具有0.2至0.8,如0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7或0.8,优选0.4至0.7,如0.4、0.5、0.6或0.7的取代度的HES。在具体的实施方案中,具有约130kD的平均分子量的HES是来自Fresenius公司的VOLUVEN®。VOLUVEN®是一种人造胶体,用于例如,在治疗和预防低血容量症的治疗适应症中所用的容积替代。VOLUVEN®的特征是平均分子量为130,000+/-20,000D,摩尔取代度为0.4,C2:C6比率为约9:1。在其他实施方案中,羟乙基淀粉的平均分子量范围是,例如4至70kD,或10至70kD,或12至70kD,或18至70kD,或50至70kD,或4至50kD,或10至50kD,或12至50kD,或18至50kD,或4至18kD,或10至18kD,或12至18kD,或4至12kD,或10至12kD,或4至10kD。在再其他实施方案中,采用的羟乙基淀粉的平均分子量是从大于4kD到小于70kD的范围,如约10kD,或从9至10kD或从10至11kD或从9至11kD的范围,或约12kD,或从11至12kD或从12至13kD或从11至13kD的范围,或约18kD,或从17至18kD或从18至19kD或从17至19kD的范围,或约30kD,或从29至30、或从30至31kD的范围,或约50kD,或从49至50kD或从50至51kD或从49至51kD的范围。

[0278] 在某些实施方案中,所述异源部分可以是具有不同平均分子量和/或不同取代度和/或不同C2:C6取代比率的羟乙基淀粉的混合物。因此,可以采用以下羟乙基淀粉的混合物:具有不同的平均分子量和不同的取代度和不同的C2:C6取代比率,或具有不同的平均分子量和不同的取代度和相同或约相同的C2:C6取代比率,或具有不同的平均分子量和相同或约相同的取代度和不同的C2:C6取代比率,或具有相同或约相同的平均分子量和不同的取代度和不同的C2:C6取代比率,或具有不同的平均分子量和相同或约相同的取代度和相同或约相同的C2:C6取代比率,或具有相同或约相同的平均分子量和不同的取代度和相同或约相同的C2:C6取代比率,或具有相同或约相同的平均分子量和相同或约相同的取代度和不同的C2:C6取代比率,或具有约相同的平均分子量和约相同的取代度和约相同的C2:C6取代比率。

[0279] 9)聚唾液酸(PSA)

[0280] 在某些实施方案中,与IL2多肽和/或IL2RαEC结构域连接的非多肽异源部分是聚合物,例如,聚唾液酸(PSA)或其衍生物。聚唾液酸(PSA)是天然存在的由某些细菌菌株和哺乳动物某些细胞产生的唾液酸的无支链聚合物,Roth J.,等人(1993),Polysialic Acid: From Microbes to Man,编辑Roth J.,Rutishauser U.,Troy F.A.(Birkhäuser Verlag, Basel,Switzerland),第335-348页。它们可以通过有限的酸水解或通过用神经氨酸酶进行消化,或通过分级细菌衍生形式的天然聚合物,以从n=约80或更多的唾液酸残基直至n=2的不同聚合度产生。不同的聚唾液酸的组成也变化,从而存在包含大肠杆菌菌株K1和B群脑膜炎球菌的荚膜多糖的同聚形式,即α-2,8-连接的聚唾液酸,所述聚唾液酸也在神经细胞粘附分子(N-CAM)的胚胎形式中发现。还存在异聚形式,如大肠杆菌菌株K92和C群脑膜炎奈瑟氏菌(N.meningitidis)多糖的交替α-2,8α-2,9聚唾液酸。唾液酸也可以在与唾液酸以外的单体(如脑膜炎奈瑟氏菌的W135群或Y群)的交替共聚物中发现。尽管在哺乳动物中没有已知的聚唾液酸受体,但聚唾液酸具有重要的生物学功能,包括致病性细菌逃避免疫系统和补体系统,以及在胎儿发育过程中调节未成熟神经元的神经胶质粘附性(其中聚合物具有抗粘附功能)Cho和Troy,P.N.A.S.,USA,91(1994)11427-11431。大肠杆菌菌株K1的α-2,

8-连接的聚唾液酸也称为“多聚乙酰神经氨酸”,并且用于(以各种长度)举例说明本公开文本。已经描述了将聚唾液酸附接或缀合到多肽的各种方法,例如,参见美国专利号5,846,951;WO-A-0187922和US 2007/0191597 A1。

[0281] 10)XTEN序列

[0282] 如本文所用,“XTEN序列”是指延伸长度的多肽,其具有非天然存在的基本上不重复的序列,所述序列主要由小亲水氨基酸构成,并且所述序列在生理条件下具有较低程度的或不具有二级或三级结构。作为融合蛋白配偶体,XTEN可以作为载体,当与本公开文本的IL2多肽和/或IL2RαEC结构域连接以产生融合蛋白时,赋予某些期望的药代动力学、理化和药学特性。这些期望的特性包括但不限于增强的药代动力学参数和溶解度特征。

[0283] 在一些实施方案中,本公开文本的XTEN序列是具有大于约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个氨基酸残基的肽或多肽。在某些实施方案中,XTEN是具有大于约20至约3000个氨基酸残基、大于30至约2500个残基、大于40至约2000个残基、大于50至约1500个残基、大于60至约1000个残基、大于70至约900个残基、大于80至约800个残基、大于90至约700个残基、大于100至约600个残基、大于110至约500个残基、或大于120至约400个残基的肽或多肽。

[0284] 本公开文本的XTEN序列可包含一个或多个具有9至14个氨基酸残基的序列基序或与所述序列基序至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,其中所述基序包含以下项,本质上由以下项组成或由以下项组成:选自甘氨酸(G)、丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、谷氨酸(E)和脯氨酸(P)的4-6种类型的氨基酸。参见US 2010-0239554 A1。

[0285] 在一些实施方案中,XTEN序列包含AD基序家族、或AE基序家族、或AF基序家族、或AG基序家族、或AM基序家族、或AQ基序家族、或BC家族、或BD家族的非重叠序列基序的多个单元,并且所得XTEN展现同源性范围。在其他实施方案中,XTEN包含来自两个或更多个基序家族的基序序列的多个单元。可以选择这些序列以实现所需的物理/化学特征,包括诸如净电荷、亲水性、二级结构缺少或重复性缺少等特性,这些特性由基序的氨基酸组成赋予,下面将更全面地描述。在其他实施方案中,可以使用本文所述方法选择并组装并入XTEN中的基序,以得到约36至约3000个氨基酸残基的XTEN。

[0286] 在另外的实施方案中,本公开文本中使用的XTEN序列影响本公开文本的融合蛋白的物理或化学特性,例如药代动力学。本公开文本中使用的XTEN序列可以展现出一种或多种以下有利特性:构象灵活性、增强的水溶性、高度的蛋白酶抗性、低免疫原性、与哺乳动物受体的低结合或增加的流体动力学(或斯托克斯)半径。在具体的实施方案中,与本公开文本中的IL2多肽和/或IL2RαEC结构域连接的XTEN序列增加了药代动力学特性,如更长的终末半衰期或增加的曲线下面积(AUC),使得与野生型IL2多肽相比,本文所述的融合蛋白保持在体内的时间段增加。在另外的实施方案中,本公开文本中使用的XTEN序列增加了药代动力学特性,如更长的终末半衰期或增加的曲线下面积(AUC),使得与野生型IL2相比,IL2多肽保持在体内的时间段增加。

[0287] 可以采用多种方法和测定来确定包含XTEN序列的蛋白质的物理/化学特性。这些方法包括但不限于分析离心法、EPR、HPLC-离子交换、HPLC-尺寸排阻、HPLC-反相、光散射、

毛细管电泳、圆二色性、差示扫描量热法、荧光、HPLC-离子交换、HPLC-尺寸排阻、IR、NMR、拉曼光谱、折光测定法和UV/可见光谱法。在Amau等人,Prot Expr and Purif 48,1-13(2006)中披露了另外的方法。

[0288] XTEN序列的另外的例子可以根据本公开文本使用并且披露于美国专利申请号2010/0239554 A1、2010/0323956 A1、2011/0046060 A1、2011/0046061 A1、2011/0077199 A1或2011/0172146 A1或国际专利申请号WO 2010091122 A1、WO 2010144502 A2、WO 2010144508 A1、WO 2011028228 A1、WO 2011028229 A1或WO 2011028344 A2。

[0289] 11)免疫球蛋白结合肽(或多肽)

[0290] 在某些实施方案中,与IL2多肽和/或IL2RαEC结构域连接的非异源部分是免疫球蛋白结合肽。免疫球蛋白结合肽可以结合Fc区,并且可以改善本文描述的融合蛋白的半衰期。

[0291] 在一些实施方案中,可用于本公开文本的免疫球蛋白结合肽是具有大于约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个氨基酸残基的肽或多肽。

[0292] 在一些实施方案中,可用于本公开文本的免疫球蛋白结合肽包含13聚体IgG-Fc结构域结合肽(IgGBP)。DeLano WL,等人(2000)Science 287:1279-1283。在其他实施方案中,可用于本公开文本的免疫球蛋白结合肽包含在美国专利公开号20170334954、美国专利公开号20170210777或PCT公开号WO/2017/069158中所披露的肽。

[0293] 7.3.5融合蛋白

[0294] 在一些实施方案中,所述融合蛋白包含表3中所述的SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204中的任何一个。

[0295] 表3:

[0296]

SEQ ID NO:	构建体	序列
204	IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC

[0297]

		TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAA TMETSIFTTEYQ
13	IL2(C145S)-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAA TMETSIFTTEYQ
14	IL2(C145A)-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAA TMETSIFTTEYQ
15	IL2(C145V)-CD25(22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFVQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAA TMETSIFTTEYQ
16	IL2-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
17	IL2-CD25(22-187)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
18	IL2(C145A)-CD25(C213S, 22-240)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAA

[0298]

		TMETSIFTTEYQ
19	HSA–$(G_4S)_3$-IL2-CD25(22-187)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVN EVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMA DCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEE TFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAA CLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKT YETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFE QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKH PEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNR RPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTA LVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEG KKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGS APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGS ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCV QGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
20	IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGS ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYM LCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCV QGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEE KPQASPEGRPESETSGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAF AQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFG DKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAK RYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASL QKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCH GDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIA EVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYA RRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKP LVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTL VEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKT PVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHA DICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
21	IL2(C145A)-CD25(22-192)-GGC	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQGGC

[0299]

22	IL2(C145A)-CD25(22-213)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC
23	IL2(C145A)-CD25(22-187, N70C)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGCSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
24	IL2(C145A)-CD25(22-187, N89C)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRCTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
25	IL2(C145A)-CD25(22-187)-C	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEC
26	人Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G Fc的第一面使之成为异二聚体	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVYP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGAAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLT RMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGT MLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRN TTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEN EATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEG
27	IL2(C145S)-CD25(22-187)-HuFc1.1(f)-AZ1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC

[0300]

	Fc的第一面使之成为异二聚体对	TGEPKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
29	IL2-C145S-CD25(22-187)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
30	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
31	IL2-CD25(22-240)-C213S	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
32	IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
33	天然SigPep-IL2-CD25(22-187)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE

[0301]

34	天然 SigPep-HuIL2-CD25(22-212)-PP	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSW DNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQAS LPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPA ESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPE SETSPP
35	M-IL2(C145S)-CD25(C213S)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIIST LTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVT PQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERI YHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLI CTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMA ATMETSIFTTEYQ
36	M-IL2(C145S)-CD25(C213S)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIIST LTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVT PQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERI YHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLI CTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMA ATMETSIFTTEYQ
37	M-IL2-C145A-CD25(22-212)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVT PQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERI YHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLI CTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
38	M-IL2-C145A-CD25(22-212)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVT PQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERI YHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLI CTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
39	Del-A21-IL2-CD(22-212)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKR GFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICT GEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS

[0302]

40	IL2-T23A-L2-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGSSGGAGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
41	IL2-T3A-L3-CD(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATR NTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
43	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
44	IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAA TMETSIFTTEYQ
45	IL2-T23A-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
46	IL2-T23A-CD25(22-212)-T106A	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
47	IL2-T23A-CD	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK

[0303]

	25(22-212)-T95A	RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVAP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
49	IL2-T23A-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
50	IL2-T23A-C145S-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
51	IL2-C145S-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
52	IL2-T23A-CD25(22-212, T95A-T105A)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVAP QPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
53	IL2-T23A-CD25(22-212)-PG	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSPG
54	IL2-CD25(22-187)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE

[0304]

55	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
56	IL2-CD25(22-240, C213S)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAA TMETSIFTTEYQ
57	Del-A21-IL2-CD(22-212)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKR GFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICT GEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
58	IL2-T23A-L2-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGSSGGAGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
59	IL2-T23A-L3-CD25(22-212)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATR NTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
60	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
61	IL2-C145S-CD	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK

[0305]

	25(22-187)-N70Q-N89Q	RGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
62	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N89Q	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
63	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
64	IL2-C145S-CD25(22-187)-N89Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
65	IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
66	IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
67	Fc1.1-7 接头-IL2-CD25(22-212)	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGSGGSGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAM

[0306]

	产生Fc同二聚体	AYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCRE PPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
68	IL2-CD25(22-212)-Fc1.1 产生Fc同二聚体	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSDKTHTCPPCPAPEAEG APSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
69	IL2(V111K)-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INKIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
70	IL2(D40T)-CD25(22-212)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLTLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTP QPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS
202	IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVAP QPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLIC TGE
203	Fc-(IL2(V91K)CD25)2二价	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGSGGSGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINKIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAM AYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT

[0307]

		SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCRE PPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS

[0308] 除非另有说明,否则IL2是成熟的(IL2(21-153))。除非另有说明,否则IL2和CD25之间的接头是(G3S)3。

[0309] 在一些实施方案中,本公开文本的融合蛋白包含与SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204中的任一个至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%相同的氨基酸序列。

[0310] 本公开文本的IL2-IL2Rα融合蛋白可具有一种或多种以下特性/活性:(1)在基于低剂量IL2的疗法中增加调节性T细胞(Treg)的活性和/或增加免疫耐受性;(2)在较高剂量疗法中增加免疫应答和记忆;(3)当与重组IL2相比时,增加IL2的利用率;和/或(4)增加体内对带有IL2R的淋巴细胞的持续IL2刺激。

[0311] 在一些实施方案中,与IL2(SEQ ID NO:2)或SEQ ID NO:204(具有12聚体接头的无截短的wt IL2-CD25序列)组成的多肽的药代动力学特性相比,本文公开的融合蛋白包含一种或多种选自以下的药代动力学特性:增加的半衰期、增加的C_{max}、增加的AUC、增加的C_{min}、减少的清除率、提高的生物利用度及其任何组合。

[0312] 在一个实施方案中,与IL2(SEQ ID NO:2)或SEQ ID NO:204(具有12聚体接头的无截短的wt IL2-CD25序列)相比,本文公开的融合蛋白具有延长的半衰期。在一些实施方案中,与由IL2(SEQ ID NO:2)或SEQ ID NO:204(具有12聚体接头的无任何截短的wt IL2-CD25序列)组成的多肽的半衰期相比,所述延长的半衰期是至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约11倍、至少约12倍、至少约13倍、至少约14倍、至少约15倍、至少约16倍、至少约17倍、至少约18倍、至少约19倍、至少约20倍、至少约21倍或至少约22倍。

[0313] 在一些实施方案中,可以以多种方式测定由IL2/IL2Rα融合蛋白导致的Treg活性增加,这些方式包括,例如,(1)增加的CD4+T细胞区室中Treg的展示和数量;(2)IL2依赖性CD25的上调;(3)如通过增殖标记Ki67的表达评估的增加的增殖;(4)增加的依赖IL2的终末分化的Klrg1+Treg亚群的比例。这种对Treg的作用可以在例如脾脏和/或发炎的胰腺中看到。

[0314] 在一些实施方案中,本公开文本的IL2/IL2Rα融合蛋白通过增加T效应/记忆应答而增加了致耐受性和免疫抑制性Treg和免疫力,并且在进一步的实施方案中,它通过以下方式展现改善的药代动力学:(1)以与天然或重组IL2相比较低有效水平的IL2活性递送此类应答;和/或(2)显示比天然或重组IL2更持久的生物学应答而。

[0315] 在具体的实施方案中,所述融合蛋白具有相对于天然或重组IL2改善的活性。例如,与天然或重组IL2相比,IL2/IL-2Rα融合蛋白的作用可以以约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倍或更低水平IL2活性增加致耐受性Treg。在其他实施方案中,所述IL2/IL2Rα融合蛋白在诱导Treg的持久增加和相关特性方面比天然或重组IL2更有效。

[0316] 来自各种生物的各种IL2和IL2Rα片段和变体可用于产生本文提供的IL2/IL2Rα胞外结构域融合蛋白。此类组分在本文其他地方进一步详细讨论。非限制性的未加工或成熟

的IL2/IL2Rα胞外结构域融合蛋白的例子在以下SEQ ID NO中示出:SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204。

[0317] 术语“分泌信号序列”表示编码如下多肽(“分泌肽”)的多核苷酸序列,所述多肽作为较大多肽的组分,引导较大多肽通过合成了所述多肽的细胞的分泌途径。通常在通过分泌途径的转运过程中切割较大多肽以去除分泌肽。如本文所用,融合蛋白或多肽的“成熟”形式包括已经去除了分泌肽的多肽的加工形式。如本文所用,融合蛋白的“未加工”形式保留了分泌肽序列。

[0318] 还提供了IL2/IL-Ra EC结构域融合蛋白的成熟和未加工形式的生物学活性片段和变体,以及编码它们的多核苷酸。这种功能多肽片段可以包含SEQ ID NO:SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204中任何一个的至少5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、30个、40个、50个、75个、100个、150个、200个、250个、300个、350个、400个、450个、500个或更多个连续氨基酸。可替代地,功能多肽变体可以包含与SEQ ID NO:SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204中所示的序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。

[0319] 进一步提供了编码IL2/IL-Ra胞外结构域融合蛋白的多核苷酸的活性变体和片段。此类多核苷酸可以包含SEQ ID NO:SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204中所示的编码多肽的至少100个、200个、300个、400个、500个、600个、700个、800个、1000个、1100个、1200个、1300个、1500个、1800个、2000个连续核苷酸并且继续编码功能性IL2/IL-Ra胞外结构域融合蛋白。

[0320] 进一步认识到,可以以任何顺序看到IL2/IL2Rα融合蛋白的组分。在一个实施方案中,IL2多肽在融合蛋白的N末端,并且IL2Rα的胞外结构域在融合蛋白的C末端。

[0321] 在一些实施方案中,所述融合蛋白形成二聚体。在其他实施方案中,所述融合蛋白是单体。仍然,在一些实施方案中,所述二聚体包含两个单体,并且所述单体经由共价键彼此缔合。在一些实施方案中,所述二聚体包含两个单体,并且所述单体经由非共价键缔合。

[0322] 在本公开文本的一些实施方案中,所述融合蛋白比由IL2(SEQ ID NO:2)或SEQ ID NO:204(具有12聚体接头的无截短的wt IL2-CD25序列)组成的多肽更稳定。在一些实施方案中,所述融合蛋白具有一种或多种选自以下的特性:(i)与参考蛋白相比,热力学稳定性增加;(ii)与参考蛋白相比,TM增加;(iii)与参考蛋白相比,抗降解性增强;(iv)与参考蛋白相比,抗修饰性增强;(v)与参考蛋白相比,体内稳定性增加;以及(vi)其任何组合,其中所述参考蛋白包含(i)包含白介素-2(IL2)多肽的第一多肽;和(b)包含白介素-2受体α(IL2Rα)多肽的胞外结构域的第二多肽;并且所述参考蛋白与所述融合蛋白相比至少多一个糖基化。

[0323] 本文公开的融合蛋白的糖基化位点中的任一个可以通过其他机制去除。在一些实施方案中,将所述融合蛋白进行酶去糖基化或化学去糖基化。在一些实施方案中,将所述融合蛋白通过碱、肼解、肽-N-糖苷酶F(PNG酶F)、内切-β-N-乙酰氨基葡糖苷酶H(Endo H)、O-糖苷酶或其任何组合进行去糖基化。

[0324] 在一些实施方案中,所述融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除是通过将融合蛋白用碱处理来实现的。在一些实施方案中,通过碱硼氢化物处理从糖基化的多肽去除聚

糖。在其他实施方案中,可以使用碱金属碳酸盐如碳酸钠和碳酸钾去除本文公开的融合蛋白的糖基化位点。在一些实施方案中,所述碱用于β-消除处理。

[0325] 在一些实施方案中,所述融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除是通过肼解的方式通过融合蛋白的化学处理来实现的。在一个实施方案中,通过使融合蛋白经受肼解而从本文公开的融合蛋白释放糖基化,并且使所释放的糖链经受用2-氨基吡啶的荧光标记。参见Hase等人J.Biochem.,95,197(1984)。在一些实施方案中,使用Oxford GlycoSystems提供的仪器(GlycoPrep 1000)进行肼解。

[0326] 在另一个实施方案中,融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除是通过使融合蛋白经受三氟甲磺酸(TFMS)来实现的。

[0327] 在一些实施方案中,所述融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除是通过将融合蛋白用酶处理来实现的。在一些实施方案中,所述酶是糖苷酶。在一些实施方案中,融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除是使用肽-N-糖苷酶F(PNG酶F)来实现的。PNG酶F的浓度可以变化,并且需要凭经验确定。在一些实施方案中,所述糖苷酶是PNG酶F。PNG酶F是可商购的酶(例如,新英格兰生物实验室(New England Biolabs),伊普斯维奇马萨诸塞州,目录号P0704或P0710)。在一些实施方案中,所述PNG酶F是融合蛋白。例如,PNG酶F可以是用几丁质结合结构域(CBD)标记的PNG酶F或PNG酶F-SNAP融合蛋白。在一些实施方案中,将所述糖苷酶冻干。在一些实施方案中,所述糖苷酶是冻干的PNG酶F。在一些实施方案中,所述糖苷酶基本上不含动物来源的试剂。

[0328] 在一些实施方案中,所述融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除是通过将融合蛋白用内切-β-N-乙酰氨基葡糖苷酶H(Endo H)处理来实现的。Endo-H是由褶皱链霉菌(Streptomyces plicatus)和一些其他链霉菌属物种分泌的糖苷酶(Tarentino等人,1976)。它切割寡糖的N-乙酰氨基葡萄糖核心的β-1,4-糖苷键,并且留下一个与糖蛋白的天冬酰胺残基附接的N-乙酰壳二糖(Trimble等人,1978;Muramatsu 1971)。褶皱链霉菌(S.plicatus)的Endo H基因为939bp(GenBank登录号AAA26738.1),编码28.9-kDa蛋白质。最近,来自褶皱链霉菌的Endo H在毕赤酵母(Pichiapastoris)中表达,并且通过共发酵和发酵后处理在体外证明了毕赤酵母产生的Endo H的去糖基化活性(Wang等人,2015)。

[0329] 在一些实施方案中,通过将融合蛋白用O-糖苷酶(新英格兰生物实验室,伊普斯维奇马萨诸塞州)处理来实现融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除。O-糖苷,也称为内切-α-N-乙酰氨基半乳糖苷酶,催化从糖蛋白中去除核心1和核心3O-连接的二糖。在一些实施方案中,它从糖蛋白释放未取代的Ser-和Thr-连接。

[0330] 融合蛋白的一个或多个糖基化位点的去除可以在细胞培养物(例如,生物反应器)中产生IL2/IL2Rα融合蛋白之后、在细胞培养物中产生IL2/IL2Rα融合蛋白时、在收获融合蛋白后和/或在纯化融合蛋白时实现。在一些实施方案中,一个或多个糖基化位点的去除可以通过细胞培养期间在表达融合蛋白时添加一种或多种去除剂来实现。在其他实施方案中,一个或多个糖基化位点的去除可以通过选择特定细胞类型作为消除糖基化或具有降低的糖基化的宿主细胞(例如,大肠杆菌或链霉菌属物种)来实现。在某些实施方案中,一个或多个糖基化位点的去除是通过使编码融合蛋白的基因与编码去除一个或多个糖基化的酶的基因共表达来实现的。

[0331] 下表4列出了各种IL-2氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含

如表4所述的SEQ ID NO:101至SEQ ID NO:115中的任何一个。

[0332] 表4：

[0333]

SEQ ID NO:	构建体	序列
101	IL2(21-153)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLT
102	IL2(21-153)(C145S)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT
103	IL2(21-153)(C145A)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQ

[0334]

		SIISTLT
104	IL2(21-153)(C145V)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFVQSIISTLT
105	IL2(21-153)(T23A)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT
106	IL2(21-153)(T23A+C145S)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT
107	IL2(21-153)(T23A+C145A)	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
108	天然SigPep-IL2(1-153)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
109	M-IL2(C145S)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT
110	M-IL2(C145A)	MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
111	Del-A21-IL2	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
112	Del-A21-IL2(C145S)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT
113	Del-A21-IL2(C145A)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
114	IL2(V111K)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINKIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
115	IL2(D40T)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLTLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT

[0335] 下表5列出了各种接头氨基酸序列。在一些实施方案中,本文公开的融合蛋白包括选自如表5所示的SEQ ID NO:116至SEQ ID NO:127中的任何一个的多个串联序列。

[0336] 表5:

[0337]

SEQ ID NO:	构建体	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聚体_刚性	ESPEPETPEDES
123	L8-22聚体_螺旋	GRGGEEKKKEKEKEEQEERETK
124	L9-G	G
125	L10-GG	GG
126	L11-S	S
127	L12-GS	GS

[0338] 下表6列出了各种CD25氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含如表6所述的SEQ ID NO:128至SEQ ID NO:169中的任何一个。

[0339] 表6:

[0340]

SEQ ID NO:	构建体	序列
128	CD25(22-240)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
129	CD25(22-212)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETS
130	CD25(22-187)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
131	CD25(22-240)(C213S)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ

[0341]

132	CD25(22-192)-GGC	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQGGC
133	CD25(22-213)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETSC
134	CD25(22-187)(N70C)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGCSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
135	CD25(22-187)(N89C)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRCTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
136	CD25(22-187)-C	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEC
137	CD25(22-187)-G	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEG
138	CD25(22-212)-PP	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETSPP
139	CD25(22-212)(T106A)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKATEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETS
140	CD25(22-212)(T95A)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETS
141	CD25(22-212)(T95A+T106A)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKATEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETS
142	CD25(22-212)-PG	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESETSPG
143	CD25(22-187)(N70Q+N8	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGQSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL

[0342]

	9Q)	HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
144	CD25(22-187)(N89Q)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
145	CD25(22-187)(N70Q)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGQSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE
146	CD25(22-211)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESET
147	CD25(22-210)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPESE
148	CD25(22-209)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPES
149	CD25(22-208)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RPE
150	CD25(22-207)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG RP
151	CD25(22-206)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG R
152	CD25(22-205)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG
153	CD25(22-204)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPE
154	CD25(22-203)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASP
155	CD25(22-20	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM

[0343]

	2)	QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS
156	CD25(22-201)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQA
157	CD25(22-200)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQ
158	CD25(22-199)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP
159	CD25(22-198)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEK
160	CD25(22-197)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEE
161	CD25(22-196)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGE
162	CD25(22-195)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPG
163	CD25(22-194)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFP
164	CD25(22-193)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQF
165	CD25(22-192)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQ
166	CD25(22-191)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETS
167	CD25(22-190)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMET
168	CD25(22-189)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL

[0344]

		HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEME
169	CD25(22-188)	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRAL HRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEM

[0345] 下表7列出了各种接头氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含如表7中所述的SEQ ID NO:170至SEQ ID NO:186中的任何一个。在一些实施方案中,不存在接头序列(即,表7中所述的“TL0”)。

[0346] 表7:

[0347]

SEQ ID NO:	构建体	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

[0348] 下表8列出了各种增强子氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含如表8中所述的SEQ ID NO:187至SEQ ID NO:201中的任何一个。

[0349] 表8:

[0350]

SEQ ID NO:	构建体	序列
187	IgG1-Fc	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0351]

188	IgG1.1-Fc	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
189	IgG1.3-Fc	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
190	IgG1-Fc(P238K)	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
191	IgG4-Fc	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
192	IgG4.1-F c	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
193	IgG1.3-Fc-杵	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
194	IgG1.3-Fc-臼	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
195	IgG1-Fc(P238K)-杵	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
196	IgG1-Fc(P238K)-臼	DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
197	IgG1.1-Fc(AZ1)	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF ALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0352]

198	IgG1.1-Fc(AZ2)	DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSREEM TKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
199	HSA	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEV TEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKY LYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDE LRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLK ECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEA KDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKK VPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL CVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
200	HSA(C34S)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEV TEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKY LYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDE LRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLK ECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEA KDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKK VPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL CVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
201	HSA(C35A)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEV TEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKY LYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDE LRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLK ECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEA KDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKK VPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL CVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

[0353] 在一些实施方案中,本文公开的融合蛋白包含选自表4的IL-2序列(即,SEQ ID NO:101至SEQ ID NO:115中的一个)和来自表6的CD25序列(即,SEQ ID NO:128至SEQ ID NO:169中的一个)。在一些实施方案中,所述融合蛋白还包含选自表5的一个序列或多个串联序列(即,SEQ ID NO:116至SEQ ID NO:127中的一个或多个)。

[0354] 在一些实施方案中,本文公开的融合蛋白包含选自以上表4的IL-2序列(即,SEQ ID NO:101至SEQ ID NO:115中的一个)和来自表6的CD25序列(即,SEQ ID NO:128至SEQ ID NO:169中的一个)、选自表5的一个序列或多个串联序列(即,SEQ ID NO:116至SEQ ID NO:127中的一个或多个)、以及任选的来自表7的包含一个序列或多个串联序列的接头(即,SEQ

ID NO:170至SEQ ID NO:186中的一个或多个)。

[0355] 在一些实施方案中,本文公开的融合蛋白包含选自以上表4的IL-2序列(即,SEQ ID NO:101至SEQ ID NO:115中的一个)和来自表6的CD25序列(即,SEQ ID NO:128至SEQ ID NO:169中的一个)、选自表5的一个序列或多个串联的序列、以及任选的来自表8的包含一个序列或多个串联序列的接头(即,SEQ ID NO:187至SEQ ID NO:201中的一个)。

[0356] 在一些实施方案中,本文公开的融合蛋白按顺序包含来自表8的增强子序列(即SEQ ID NO:187至SEQ ID NO:201中的一个)、选自表7的一个序列或多个串联序列(即,SEQ ID NO:170至SEQ ID NO:186中的一个或多个)、选自表4的IL-2序列(即,SEQ ID NO:101至SEQ ID NO:115中的一个)、和来自表6的CD25序列(即,SEQ ID NO:128至SEQ ID NO:169中的一个)。在一些实施方案中,所述融合蛋白包含选自表7的一个序列或多个串联序列(即,SEQ ID NO:170至SEQ ID NO:186中的一个或多个)。在一些实施方案中,所述融合蛋白包含选自表5的一个序列或多个串联序列(即,SEQ ID NO:116至SEQ ID NO:127中的一个或多个)。

[0357] 7.4多核苷酸

[0358] 在某些方面,本文提供了包含编码本文所述的具有IL2活性的融合蛋白的核苷酸序列的多核苷酸,例如DNA或RNA,以及包含此类多核苷酸序列的载体,例如用于在宿主细胞如哺乳动物细胞中有效表达的表达载体。在一些实施方案中,本文提供了编码SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204的多肽序列的多核苷酸序列。

[0359] 如本文所用,“分离的”多核苷酸或核酸分子是与存在于核酸分子的天然来源(例如,在小鼠或人)中的其他核酸分子分离的多核苷酸或核酸分子。例如,“分离的”核酸分子,如cDNA分子,在通过重组技术产生时可以基本上不含其他细胞材料或培养基,或在化学合成时基本上不含化学前体或其他化学品。例如,语言“基本上不含”包括具有小于约15%、10%、5%、2%、1%、0.5%或0.1%(特别是小于约10%)的其他材料(例如,细胞材料、培养基、其他核酸分子、化学前体和/或其他化学品)的多核苷酸或核酸分子制剂。在具体的实施方案中,编码本文所述的融合蛋白的一种或多种核酸分子是分离的或纯化的。

[0360] 可以通过本领域已知的任何方法获得多核苷酸,并确定多核苷酸的核苷酸序列。可以使用本领域熟知的方法确定编码本文所述的融合蛋白(例如表3中所述的融合蛋白)以及这些融合蛋白的修饰形式的核苷酸序列,即,将已知编码特定氨基酸的核苷酸密码子以产生编码所述融合蛋白的核酸的方式组装。这种编码所述融合蛋白的多核苷酸可以由化学合成的寡核苷酸组装(例如,如在Kutmeier G等人,(1994),BioTechniques 17:242-6中所述),其简要地涉及合成含有编码所述融合蛋白的序列的部分的重叠寡核苷酸、退火和连接这些寡核苷酸、并且然后通过PCR扩增连接的寡核苷酸。

[0361] 可替代地,可以使用本领域熟知的方法(例如PCR和其他分子克隆方法)从来自合适来源(例如,杂交瘤)的核酸产生编码本文所述的融合蛋白的多核苷酸。例如,可以使用从产生目的融合蛋白的杂交瘤细胞获得的基因组DNA,使用可与已知序列的3’和5’末端杂交的合成引物进行PCR扩增。此类PCR扩增方法可用于获得包含编码例如IL2、接头序列或IL2-Rα的序列的核酸。可以将扩增的核酸克隆到载体中以在宿主细胞中表达并进一步克隆,例如以产生融合蛋白。

[0362] 如果无法获得含有编码特定融合蛋白的核酸的克隆,但是融合蛋白分子的序列是

已知的,则可以通过从合适的来源(例如cDNA文库、或从表达目的蛋白的任何组织或细胞(如选择来表达本文所述融合蛋白的杂交瘤细胞)产生的cDNA文库、或从所述任何组织或细胞分离的核酸(优选聚A+RNA))化学合成或通过以下方式获得编码所述融合蛋白的核酸:使用可与所述序列的3'和5'末端杂交的合成引物进行PCR扩增或将对特定基因序列具有特异性的寡核苷酸探针进行克隆以鉴定例如来自cDNA文库的编码所述融合蛋白的cDNA克隆。然后可以使用本领域熟知的任何方法将通过PCR产生的扩增的核酸克隆到可复制的克隆载体中。

[0363] 编码本文所述的融合蛋白的DNA可以使用常规程序(例如,通过使用能够特异性结合至编码本文所述融合蛋白的基因的寡核苷酸探针)容易地分离并测序。杂交瘤细胞可以用作这种DNA的来源。一旦分离,可以将DNA置于表达载体中,然后将其转染到宿主细胞(如大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞(例如,来自CHO GS System™(Lonza)的CHO细胞)或原本不产生免疫球蛋白的骨髓瘤细胞)中,以在重组宿主细胞中获得融合蛋白的合成。

[0364] 进一步认识到,编码IL2/IL2Rα融合蛋白的多核苷酸可以包含有助于融合蛋白翻译的其他元件。此类序列包括,例如,与编码融合蛋白的多核苷酸的5'末端附接的Kozak序列。Kozak共有序列是在真核mRNA上出现的序列,其在翻译过程的启动中起作用并且具有共有序列(gee)gccRccAUGG(SEQ ID NO:92);其中:(1)小写字母表示在碱基仍然可以变化的位置处最常见的碱基;(2)大写字母表示高度保守的碱基,即'AUGG'序列是恒定的或很少(如果有的话)变化,除了IUPAC歧义码'R',其表示在此位置通常观察到嘌呤(腺嘌呤或鸟嘌呤);(3)括号中的序列((gee))意义不确定。

[0365] 在一个非限制性实施方案中,IL2/IL2Rα融合蛋白包含如SEQ ID NO:92(gccaccATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGT)中所示的IL2前导序列优化的Kozak序列或其功能变体或片段。当与缺乏前导序列的序列的翻译水平相比时,Kozak序列的功能变体或片段将保留增加蛋白质翻译的能力。这种功能片段可包含Kozak序列或者SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:99(gccaccATGG)中列出的序列的至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40个连续核苷酸。可替代地,功能变体可以包含与Kozak序列或者SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:99所示的序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。

[0366] 7.5细胞和载体

[0367] 在某些方面,本文提供了表达(例如以重组方式)本文所述融合蛋白的细胞(例如宿主细胞)和包含编码本文所述融合蛋白的核苷酸的表达载体。本文提供了包含多核苷酸的载体(例如表达载体),所述多核苷酸包含编码用于在宿主细胞中重组表达的融合蛋白的核苷酸序列。

[0368] 在一些实施方案中,所述宿主细胞包含本文所述的核酸。

[0369] 在一些实施方案中,所述宿主细胞是真核细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞选自哺乳动物细胞、昆虫细胞、酵母细胞、转基因哺乳动物细胞和植物细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞是原核细胞。在一些实施方案中,所述原核细胞是细菌细胞。

[0370] 在一些实施方案中,所述宿主细胞是哺乳动物细胞。此类哺乳动物宿主细胞包括但不限于CHO、VERO、BHK、HeLa、MDCK、HEK 293、NIH 3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20和

T47D、NS0(不内源产生任何免疫球蛋白链的鼠骨髓瘤细胞系)、CRL7030、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和HsS78Bst细胞。

[0371] 如本文所用,表达载体是指任何核酸构建体,其含有用于插入的编码序列的转录和翻译的必需元件,或者在RNA病毒载体的情况下,当引入时合适的宿主细胞时用于复制和翻译的必需元件。表达载体可包括质粒、噬菌粒、病毒及其衍生物。

[0372] 如本文所用,基因表达控制序列是任何调节核苷酸序列,如启动子序列或启动子-增强子组合,可促进与其可操作地连接的编码核酸的有效转录和翻译。基因表达控制序列可以是,例如哺乳动物或病毒启动子,如组成型启动子或诱导型启动子。组成型哺乳动物启动子包括但不限于以下基因的启动子:次黄嘌呤磷酸核糖转移酶(HPRT)、腺苷脱氨酶、丙酮酸激酶、β-肌动蛋白启动子和其他组成型启动子。在真核细胞中组成型起作用的示例性病毒启动子包括,例如来自巨细胞病毒(CMV)、猿猴病毒(例如SV40)、乳头瘤病毒、腺病毒、人免疫缺陷病毒(HIV)、劳斯肉瘤病毒、巨细胞病毒、莫洛尼氏白血病病毒的长末端重复序列(LTR)和其他逆转录病毒的启动子,以及单纯疱疹病毒的胸苷激酶启动子。其他组成型启动子是本领域普通技术人员已知的。可用作本公开文本的基因表达序列的启动子还包括诱导型启动子。诱导型启动子是在诱导剂的存在下表达。例如,在某些金属离子的存在下诱导金属硫蛋白启动子以促进转录和翻译。其他诱导型启动子是本领域普通技术人员已知的。

[0373] 出于本公开文本的目的,可以使用许多表达载体系统。这些表达载体典型地可作为附加体或作为宿主染色体DNA的组成部分在宿主生物中复制。表达载体可包括表达控制序列,包括但不限于启动子(例如天然缔合或异源启动子)、增强子、信号序列、剪接信号、增强子元件和转录终止序列。优选地,表达控制序列是在能够转化或转染真核宿主细胞的载体中的真核启动子系统。表达载体还可以利用衍生自动物病毒的DNA元件,所述动物病毒如牛乳头瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、痘苗病毒、杆状病毒、逆转录病毒(RSV、MMTV或MOMLV)、巨细胞病毒(CMV)或SV40病毒。其他涉及具有内部核糖体结合位点的多顺反子系统的使用。

[0374] 一般来说,表达载体含有选择标记(例如氨苄青霉素抗性、潮霉素抗性、四环素抗性或新霉素抗性)以允许检测用所需DNA序列转化的那些细胞(参见例如,Itakura等人,美国专利号4,704,362)。可以通过引入一种或多种标记来选择已将DNA整合至其染色体中的细胞,所述一种或多种标记允许选择经转染的宿主细胞。所述标记可以提供对营养缺陷型宿主的原养性、杀生物剂抗性(例如抗生素)或对重金属如铜的抗性。选择性标记基因可以直接与待表达的DNA序列连接,或通过共转化引入同一细胞中。

[0375] 可用于优化表达本公开文本的方法中使用的融合蛋白的载体的例子是NEOSPLA(美国专利号6,159,730)。此载体含有巨细胞病毒启动子/增强子、小鼠β珠蛋白主要启动子、SV40复制起点、牛生长激素聚腺苷酸化序列、新霉素磷酸转移酶外显子1和外显子2、二氢叶酸还原酶基因和前导序列。在美国专利号5,736,137和5,658,570中也传授了载体系统。此系统提供高表达水平,例如>30pg/细胞/天。其他示例性载体系统在例如美国专利号6,413,777中公开。

[0376] 在其他实施方案中,使用多顺反子构建体表达本公开文本的多肽。在这些表达系统中,可以从单个多顺反子构建体产生多个目的基因产物,如多聚体结合蛋白的多个多肽。这些系统有利地使用内部核糖体进入位点(IRES)以在真核宿主细胞中提供相对高水平的

多肽。相容的IRES序列在美国专利号6,193,980中公开。

[0377] 更普遍地,一旦制备了编码多肽的载体或DNA序列,就可以将所述表达载体引入合适的宿主细胞中。也就是说,所述宿主细胞可被转化。如上所讨论的,可以通过本领域技术人员熟知的各种技术来实现将质粒引入宿主细胞中。转化的细胞在适于产生所述融合蛋白的条件下生长,并进行融合蛋白合成测定。示例性测定技术包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)或荧光激活细胞分选仪分析(FACS)、免疫组织化学等。

[0378] 7.6药物组合物

[0379] 可以将本文公开的各种IL2/IL2Rα融合蛋白(本文也称为"活性化合物")掺入适合给药的药物组合物中。此类组合物通常包含融合蛋白和药学上可接受的载体。如本文所用,语言"药学上可接受的载体"旨在包括与药物给予相容的任何和全部溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。此类介质和试剂用于药物活性物质的用途是本领域熟知的。除非任何常规介质或药剂与活性化合物不相容,否则考虑其在组合物中的用途。补充性活性化合物也可掺入到组合物中。

[0380] 在一些实施方案中,公开了一种药物组合物,其包含(a)如本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0381] 在一些实施方案中,公开了一种药物组合物,其包含(a)包含如本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的组合物和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0382] 在一些实施方案中,公开了一种药物组合物,其包含(a)如本文所述的核酸和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0383] 在一些实施方案中,公开了一种药物组合物,其包含(a)如本文所述的载体和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0384] 在一些实施方案中,公开了一种药物组合物,其包含(a)如本文所述的宿主细胞和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0385] 配制本公开文本的药物组合物以与其预期的给予途径相容。给药途径的例子包括肠胃外,例如静脉内、皮内、皮下、口服(例如吸入)、透皮(局部)和透粘膜。另外,可能需要向需要治疗的区域局部给予治疗有效量的药物组合物。这可以通过例如在外科手术期间局部或区域输注或灌注、局部施用、注射、导管、栓剂或植入物(例如,由多孔、无孔或凝胶状材料(包括膜,如唾液弹性膜,或纤维)形成的植入物)等来实现。在另一个实施方案中,在囊泡,如脂质体中递送治疗有效量的药物组合物(参见,例如,Langer,Science 249:1527-33,1990和Treat等人,Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer,Lopez Berestein和Fidler(编辑),Liss,纽约,第353-65页,1989)。

[0386] 在又另一个实施方案中,可以在控释系统中递送治疗有效量的药物组合物。在一个例子中,可以使用泵(参见,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)。在另一个例子中,可以使用聚合物材料(参见,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)。也可以使用其他控释系统,如由Langer(Science 249:1527-33,1990)讨论的那些。

[0387] 可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所使用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且包

括缓冲液,例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵、苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂例如EDTA;糖类,例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐抗衡离子例如钠;金属络合物(例如,锌-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂,例如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

[0388] 肠胃外制剂中使用的药学上可接受的载体包括水性媒介物、非水性媒介物、抗微生物剂、等渗剂、缓冲液、抗氧化剂、局部麻醉剂、助悬剂和分散剂、乳化剂、螯合剂(sequestering agent或chelating agent)和其他药学上可接受的物质。水性媒介物的例子包括氯化钠注射剂、林格氏注射剂、等渗右旋糖注射剂、无菌水注射剂、右旋糖和乳酸林格氏注射剂。非水性肠胃外媒介物包括植物来源的固定油、棉籽油、玉米油、芝麻油和花生油。可以将抑制细菌或抑制真菌浓度的抗微生物剂添加到多剂量容器包装的肠胃外制剂中,所述抗微生物剂包括苯酚或甲酚、汞、苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、硫柳汞、苯扎氯铵和苄索氯铵。等渗剂包括氯化钠和右旋糖。缓冲液包括磷酸盐和柠檬酸盐。抗氧化剂包括硫酸氢钠。局部麻醉剂包括盐酸普鲁卡因。助悬剂和分散剂包括羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。乳化剂包括聚山梨醇酯80(TWEEN® 80)。金属离子的螯合剂包括EDTA。药物载体还包括用于水混溶性媒介物的乙醇、聚乙二醇和丙二醇;以及用于调节pH的氢氧化钠、盐酸、柠檬酸或乳酸。

[0389] 用于肠胃外、皮内或皮下施用的溶液或悬浮液可包括以下组分:无菌稀释剂,如注射用水、盐水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂;抗细菌剂,如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,如乙二胺四乙酸;缓冲液(如醋酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐),以及用于调节张力的药剂(如氯化钠或右旋糖)。可以用酸或碱,如盐酸或氢氧化钠调节pH。可以将肠胃外制剂封装在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0390] 适合于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液(水溶性的)或分散液,以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。对于静脉内给予,合适的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor ELS(BASF,帕西帕尼,新泽西州)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情况下,组合物必须是无菌的并且应当是易于注射的程度的流体。其在制造和储存条件下必须稳定并且必须抵抗微生物(如细菌和真菌)的污染作用而保存。载体可以是溶剂或分散介质,所述溶剂或分散介质含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)和其适合的混合物。例如,通过使用包衣(如卵磷脂)、在分散液的情况下通过维持所需粒度、以及通过使用表面活性剂,可以维持适当的流动性。防止微生物的作用可以通过各种抗细菌剂以及抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等)来实现。在许多情况下,优选在组合物中包含等渗剂,例如糖、多元醇(如甘露糖醇、山梨糖醇)、氯化钠。通过在所述组合物中包含延迟吸收的药剂例如单硬脂酸铝和明胶,可以实现可注射组合物的延长吸收。

[0391] 无菌可注射溶液可以通过以下方式制备:将活性化合物以所需量掺入视需要具有上文所列举成分中的一种或组合的适当溶剂中,之后过滤灭菌。通常,通过将所述活性化合物掺入无菌媒介物中来制备分散液,所述无菌媒介物含有碱性分散介质和来自以上列举的那些的所需其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选制备方法为真空干燥和冷冻干燥,这些方法由先前无菌过滤的溶液产生活性成分和任何其他所需成分的粉末。

[0392] 对于通过吸入给予,可以从加压容器或分配器(其含有合适的推进剂,例如气体(如二氧化碳))或者喷雾器以气溶胶喷雾剂形式递送所述化合物。全身性给予也可以是通过经粘膜或透皮方式。

[0393] 对于经粘膜或透皮给予,在配制品中使用适合待渗透的屏障的渗透剂。此类渗透剂通常是本领域已知的,并且包括例如就经粘膜给予而言,洗涤剂、胆盐、以及梭链孢酸衍生物。经粘膜给予可以通过使用鼻喷雾剂或栓剂来完成。对于透皮给予,将活性化合物配制成如本领域通常已知的软膏、药膏、凝胶或乳膏。也可以以栓剂(例如,与常规栓剂基质如可可脂和其他甘油酯一起)或保留灌肠剂的形式(以供直肠递送)制备化合物。

[0394] 在一个实施方案中,活性化合物是与载体一起制备的,所述载体将保护化合物免于从身体迅速清除,如控释配制品,包括植入物和微囊化递送系统。可以使用可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。此类配制品的制备方法对本领域技术人员而言是清楚的。所述材料也可以从Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals,Inc.商购获得。脂质体悬浮液也可用作药学上可接受的载体。这些可以根据例如在美国专利号4,522,811中所述的本领域技术人员已知的方法来制备。

[0395] 以剂量单位形式配制口服或肠胃外组合物是尤其有利的,以便于给予和剂量的均匀。如本文所用,剂量单位形式是指适合作为单位剂量用于待治疗的受试者的物理上离散的单位;每个单位含有经计算与所需的药物载体联合可产生所需治疗效果的预定量的活性化合物。本公开文本的剂量单位形式的规格取决于或直接依赖于:活性化合物的独特特征和所要实现的特定治疗效果,和在合成用于治疗个体的这种功能化合物的领域中固有的限制。药物组合物可以与给药说明书一起包含在容器、包装或分配器中。

[0396] 可用于调节此类功能的IL2/IL2Rα融合蛋白的有效量将取决于所治疗的受试者、痛苦的严重程度以及IL2/IL2Rα融合蛋白的给药方式。示例性剂量包括约104至约107IU的IL2活性/成人、约104至105IU的IL2活性/成人、约105至约106IU的IL2活性/成人、约106至约107IU的IL2活性/成人。在其他情况下,IL2/IL2Rα融合蛋白的治疗有效剂量是约105IU的IL2活性±100倍、约105IU的IL2活性±10倍、约105IU的IL2活性±2倍、约105IU的IL2活性±20倍、约105IU的IL2活性±30倍、约105IU的IL2活性±40倍、约105IU的IL2活性±50倍、约105IU的IL2活性±60倍、约105IU的IL2活性±70倍、约105IU的IL2活性±80倍或约105IU的IL2活性±90倍。在具体的非限制性实施方案中,以此剂量给予人IL2融合蛋白。

[0397] 7.7用途和方法

[0398] 7.7.1制造本文公开的组合物的方法

[0399] 如上所讨论的,本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白可用于通过修饰IL2、IL2Rα或本文所述的任何异源部分序列来产生新的IL2/IL2Rα融合蛋白。因此,在本文所述的另一方面,本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的结构特征用于产生结构相关的IL2/IL2Rα融合蛋白,所述

结构相关的IL2/IL2Rα融合蛋白保留本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的至少一个功能特性，如与人IL2Rα和食蟹猴IL2Rα结合。例如，如上所讨论的，本文所述的IL2、IL2Rα或任何异源部分序列中的一个或多个可以与已知框架区和/或其他蛋白质重组组合，以产生本文所讨论的另外的重组工程化的融合蛋白。

[0400] 在一些实施方案中，本文公开了产生IL2/IL2Rα融合蛋白的方法，所述方法包括在合适的条件下培养包含所述融合蛋白的宿主细胞并且回收所述融合蛋白。在一些实施方案中，所述宿主细胞是真核细胞或原核细胞。在一些实施方案中，所述宿主细胞是哺乳动物细胞、昆虫细胞、真菌细胞、植物细胞、转基因哺乳动物细胞或细菌细胞。在一些实施方案中，所述宿主细胞选自CHO细胞、HEK 293细胞、NS0细胞、Per C6细胞、BHK细胞和COS细胞。在一个实施方案中，所述宿主细胞是细菌细胞。在特定实施方案中，所述细菌细胞是大肠杆菌。

[0401] 其他类型的修饰包括上一节中描述的那些。用于工程化方法的起始材料是本文提供的IL2或IL2Rα序列中的一个或多个。为了产生工程化的融合蛋白，没有必要实际制备(即表达为蛋白质)具有本文提供的一个或多个IL2或IL2Rα序列的融合蛋白。相反，将包含在一种或多种序列中的信息用作起始材料，以产生从一种或多种原始序列衍生的一种或多种“第二代”序列，然后制备一种或多种“第二代”序列并表达为蛋白质。

[0402] 因此，本文提供了一种制备融合蛋白的方法，所述方法包括：(a)提供IL2和IL2Rα；(b)改变IL2和IL2Rα内的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的融合蛋白序列；并且(c)将改变的融合蛋白序列表达为蛋白质。

[0403] 本文还提供了一种制备融合蛋白的方法，所述方法包括：(a)提供IL2和IL2Rα；(b)改变IL2和IL2Rα内的至少一个糖基化以产生至少一个改变的糖基化位点；并且(c)将改变的融合蛋白序列表达为蛋白质。

[0404] 改变的抗体可以展现如以上(1)至(10)所述的一种或多种、两种或更多种、三种或更多种、四种或更多种、五种或更多种、六种或更多种、七种或更多种、八种或更多种、九种或更多种、或所有功能特性。可以使用本领域可用的标准测定来评估改变的抗体的功能特性。

[0405] 在本文所述的工程化IL2/IL2Rα融合蛋白的方法的一些实施方案中，如本文所述，可以沿着IL2/IL2Rα融合蛋白编码序列的全部或部分随机或选择性地引入突变，并且可以对所得的修饰的IL2/IL2Rα融合蛋白筛选结合活性和/或其他功能特性。已在本领域中描述了突变方法。例如，Short的PCT公开案WO 02/092780描述了使用饱和诱变、合成连接组装或其组合来产生和筛选突变的方法。可替代地，Lazar等人的PCT公开案WO 03/074679描述了使用计算机筛选方法优化蛋白质的理化特性的方法。

[0406] 组合物进一步包括编码上文所述的各种融合蛋白及其变体和片段的分离的多核苷酸。进一步公开了包含本文所述的多核苷酸的载体和表达盒。表达盒通常将包括启动子，所述启动子连接至多核苷酸以及转录和翻译终止区。

[0407] 术语“多核苷酸”的使用不旨在将本公开文本限制于包含DNA的多核苷酸。本领域普通技术人员将认识到，多核苷酸可以包含核糖核苷酸以及核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸的组合。此类脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸包括天然存在的分子和合成类似物二者。

[0408] 在包含多于一个加工或切割位点的构建体中，应理解这些位点可以相同或不同。

[0409] “分离的”或“纯化的”多核苷酸或蛋白质或其生物学活性部分基本上或本质上不

含通常在其天然存在的环境中发现的通常与多核苷酸或蛋白质伴随或相互作用的组分。因此,分离的或纯化的多核苷酸或蛋白质在通过重组技术产生时基本上不含其他细胞材料或培养基,或在化学合成时基本上不含化学前体或其他化学品。最佳地,“分离的”多核苷酸在衍生出所述多核苷酸的生物的基因组DNA中不含天然侧接所述多核苷酸的序列(最佳蛋白质编码序列)(即,位于所述多核苷酸的5’和3’末端的序列)。例如,在各种实施方案中,分离的多核苷酸可含有少于约5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kb或0.1kb的在衍生出所述多核苷酸的细胞的基因组DNA中天然侧接所述多核苷酸的核苷酸序列。

[0410] 基本上不含细胞材料的蛋白质包括具有少于约30%、20%、10%、5%或1%(以干重计)污染蛋白质的蛋白质制剂。当重组产生本公开文本的蛋白质或其生物学活性部分时,最佳培养基代表少于约30%、20%、10%、5%或1%(以干重计)的化学前体或非目的蛋白质化学品。

[0411] 本文可以采用本领域技术范围内的常规分子生物学、微生物学和重组DNA技术。此类技术在文献中有充分说明。参见,例如,Sambrook等人,“Molecular Cloning:A Laboratory Manual”(1989);“Current Protocols in Molecular Biology”I-III卷[Ausubel,R.M.,编辑(1994)];“Cell Biology:A Laboratory Handbook”I-III卷[J.E.Celis,编辑(1994))];“Current Protocols in Immunology”I-III卷[Coligan,J.E.,编辑(1994)];“Oligonucleotide Synthesis”(M.J.Gaited.1984);“Nucleic Acid Hybridization”[B.D.Hames&S.J.Higgins编辑(1985)];“Transcription And Translation”[B.D.Hames&S.J.Higgins,编辑(1984)];“Animal Cell Culture”[R.I.Freshney,编辑(1986)];“Immobilized Cells And Enzymes”[IRL Press,(1986)];B.Perbal,“A Practical Guide To Molecular Cloning”(1984)。

[0412] 本文还提供了包含与启动子可操作地连接的上述多核苷酸的载体。当表达控制序列控制并调节所述序列的转录和翻译时,核苷酸序列与表达控制序列(例如启动子)“可操作地连接”。当涉及核苷酸序列时,术语“可操作地连接”包括在待表达的核苷酸序列的前面具有适当的起始信号(例如ATG),并且维持正确的阅读框以允许在表达控制序列的控制下表达所述序列并且产生由序列编码的所需产物。如果人们希望插入到重组核酸分子中的基因不含有适当的起始信号,则可以将这种起始信号插入到所述基因的前面。“载体”是复制子,如质粒、噬菌体或粘粒,另一个核酸区段可以附接于其上,以实现附接片段的复制。所述启动子可以是细菌、酵母、昆虫或哺乳动物的启动子,或与之相同。此外,所述载体可以是质粒、粘粒、酵母人工染色体(YAC)、噬菌体或真核病毒DNA。可以采用本领域已知的用于表达蛋白质的其他许多载体骨架。此类载体包括但不限于:腺病毒、猿猴病毒40(SV40)、巨细胞病毒(CMV)、小鼠乳腺瘤病毒(MMTV)、莫洛尼氏鼠白血病病毒、DNA递送系统(即脂质体)和表达质粒递送系统。此外,一类载体包含衍生自病毒如牛乳头瘤病毒、多瘤病毒、杆状病毒、逆转录病毒或塞姆利基森林病毒的DNA元件。此类载体可以商业获得或通过本领域熟知的方法由序列组装。

[0413] 本文提供了用于产生多肽的宿主载体系统,所述宿主载体系统包含合适的宿主细胞的载体。合适的宿主细胞包括但不限于原核或真核细胞,例如,细菌细胞(包括革兰氏阳性细胞)、酵母细胞、真菌细胞、昆虫细胞和动物细胞。许多哺乳动物细胞可以用作宿主,包括但不限于小鼠成纤维细胞NIH 3T3、CHO细胞、HeLa细胞、Ltk细胞等。也可以使用其他动物

细胞,如R1.1、B-W和L-M细胞、非洲绿猴肾细胞(例如COS 1、COS 7、BSC1、BSC40和BMT10)、昆虫细胞(例如Sf9)、以及组织培养中的人细胞和植物细胞。

[0414] 各种各样的宿主/表达载体组合可用于表达本文提出的多核苷酸序列。有用的表达载体,例如,可以由染色体、非染色体和合成DNA序列的区段组成。合适的载体包括SV40的衍生物和已知的细菌质粒,例如,大肠杆菌质粒col E1、pCR1、pBR322、pMB9及其衍生物,质粒如RP4;噬菌体DNA,例如噬菌体A的多种衍生物(例如NM989),以及其他噬菌体DNA(例如M13和丝状单链噬菌体DNA);酵母质粒,如2!1质粒或其衍生物;在真核细胞中有用的载体,如在昆虫或哺乳动物细胞中有用的载体;衍生自质粒和噬菌体DNA的组合的载体,如经修饰以使用噬菌体DNA或其他表达控制序列的质粒;等等。

[0415] 各种各样的表达控制序列(控制与其可操作地连接的核苷酸序列的表达的序列)中的任何一种均可以用于这些载体,以表达本文提供的多核苷酸序列。此类有用的表达控制序列包括,例如,SV40、CMV、痘苗、多瘤或腺病毒的早期和晚期启动子,lac系统,trp系统,TAC系统,TRC系统,LTR系统,噬菌体A的主要操纵子和启动子区域,fd外壳蛋白的控制区域,3-磷酸甘油酸激酶或其他糖酵解酶的启动子,酸磷酸酶的启动子(例如Pho5),酵母a-交配因子的启动子,以及已知控制原核或真核细胞或其病毒的基因表达的其他序列及其各种组合。

[0416] 应当理解,并非所有的载体、表达控制序列和宿主都将同样好地表达本文提供的多核苷酸序列。在相同的表达系统上,所有宿主均不能同样好地发挥作用。然而,本领域技术人员将能够选择合适的载体、表达控制序列和宿主,而无需过度的实验来完成所需表达,而不背离本公开文本的范围。例如,在选择载体时,必须考虑宿主,因为所述载体必须在其中起作用。还将考虑载体的拷贝数、控制该拷贝数的能力以及由所述载体编码的任何其他蛋白质诸如抗生素标记的表达。

[0417] 在选择所述表达控制序列时,通常将考虑许多因素。这些包括,例如,系统的相对强度、其可控制性以及其与待表达的特定核苷酸序列或基因的相容性,特别是关于潜在的二级结构。通过考虑例如以下来选择合适的单细胞宿主:所述宿主与所选载体的相容性、所述宿主的分泌特征、所述宿主正确折叠蛋白质的能力及其发酵要求、以及由待表达的核苷酸序列编码的产物对宿主的毒性、和表达产物纯化的难易程度。

[0418] 在制备表达盒时,可以操纵各种多核苷酸,以便以正确的取向并且视情况在适当的阅读框内提供多核苷酸序列。为此,可以采用衔接子或接头来连接多核苷酸,或者可以涉及其他操作以提供便利的限制位点、去除多余的DNA、去除限制位点等等。例如,可以在多肽之间添加接头,如两个甘氨酸。可以添加由ATG核苷酸序列编码的甲硫氨酸残基以允许开始基因转录。出于此目的,可涉及体外诱变、引物修复、限制性酶切、退火、重新取代,例如转换和颠换。

[0419] 还提供了一种生产多肽的方法,所述方法包括在合适的条件下在宿主细胞中表达编码本文公开的融合蛋白的多核苷酸,以允许所述多肽的产生,并且回收如此产生的多肽。

[0420] 7.7.2治疗用途和方法

[0421] 本文所述的融合蛋白和方法具有许多涉及以下的体外和体内效用:例如,如通过抑制(或拮抗)IL2Rα(例如,信号传导)增强免疫应答或检测IL2。例如,可以将本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白在体外或离体给予至培养物中的细胞,或者例如在体内给予至人受试

者以在多种疾病中增强免疫。因此,本文提供了一种治疗有需要的受试者的疾病或障碍的方法,其包括向受试者给予本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白,从而改变受试者中的免疫应答。在一些实施方案中,所述应答被增强、刺激或上调。

[0422] 适于本发明方法的受试者包括期望增强免疫应答的人类患者。所述方法特别适用于治疗患有可通过增加免疫应答(例如,T细胞介导的免疫应答,例如抗原特异性T细胞应答)来治疗的障碍的人类患者。在一些实施方案中,所述方法特别适用于在体内治疗癌症。为了实现免疫的抗原特异性增强,可以将本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白与目的抗原一起给予,或者所述抗原可以已经存在于待治疗的受试者(例如,患有肿瘤或患有病毒的受试者)中。当将本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白与另一种药剂一起给予时,可以将两者分开或同时给予。

[0423] 还涵盖用于检测样品中人IL2或人IL2Rα的存在或测量人IL2抗原的量的方法,所述方法包括在允许本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白与人IL2Rα之间形成复合物的条件下,使样品和对照样品与特异性结合人IL2或IL2Rα的融合蛋白或单克隆抗体例如人单克隆抗体或其抗原结合部分接触。然后检测复合物的形成,其中样品相比于对照样品之间的差异复合物形成指示样品中存在人IL2或IL2Rα。此外,本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白可用于经由免疫亲和纯化来纯化人IL2或IL2Rα。

[0424] 鉴于本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白具有如通过抑制IL2或IL2Rα的负面作用来刺激或共刺激T细胞应答(例如抗原特异性T细胞应答)的能力,本文提供了使用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白来刺激、增强或上调抗原特异性T细胞应答(例如抗肿瘤T细胞应答)的体外和体内方法。在一些实施方案中,还提供了CD3刺激(例如,通过与表达细胞膜CD3的细胞共孵育),所述刺激可以在用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白刺激的同时、之前或之后提供。例如,本文提供了刺激抗原特异性T细胞应答的方法,所述方法包括使所述T细胞与本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白以及任选地与抗CD3抗体接触,从而刺激抗原特异性T细胞应答。

[0425] 抗原特异性T细胞应答的任何合适的指示可用于测量抗原特异性T细胞应答。此类合适的指示的非限制性例子包括在抗体的存在下增加的T细胞增殖和/或在抗体的存在下增加的细胞因子产生。在一些实施方案中,抗原特异性T细胞刺激了白介素-2和/或干扰素-γ的产生。

[0426] 可以用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白增强或共同刺激的T细胞包括$CD4^+$T细胞和$CD8^+$T细胞。所述T细胞可以是Teff细胞,例如$CD4^+$Teff细胞、$CD8^+$Teff细胞、T辅助(Th)细胞(例如Th1细胞)或T细胞毒性(Tc)细胞。

[0427] 还涵盖在受试者中刺激免疫应答(例如,抗原特异性T细胞应答)的方法,其包括向受试者给予本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白,以刺激受试者中的免疫应答(例如,抗原特异性T细胞应答)。在一些实施方案中,所述受试者是荷瘤受试者,并且刺激了针对肿瘤的免疫应答。肿瘤可以是实体瘤或液体瘤,例如血液恶性肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是免疫原性肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是非免疫原性的。在一些实施方案中,肿瘤是PD-L1阳性的。在一些实施方案中,肿瘤是PD-L1阴性的。受试者也可以是携带病毒的受试者,并且刺激了针对病毒的免疫应答。

[0428] 进一步提供了用于抑制受试者中肿瘤细胞生长的方法,其包括向受试者给予本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白从而在受试者中抑制肿瘤的生长。进一步提供了治疗受试者中

病毒感染的方法,其包括向受试者给予本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白从而在受试者中治疗病毒感染。

[0429] 在一些实施方案中,将本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白作为辅助疗法给予受试者。用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗患有癌症的受试者可以导致延长的存活期,例如相对于当前护理标准而言的长期持久性应答;至少3个月、6个月、9个月、1年、2年、3年、4年、5年、10年或更多年的长期存活期,或至少3个月、6个月、9个月、1年、2年、3年、4年、5年或10年或更多年的无复发存活期。在一些实施方案中,用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗患有癌症的受试者预防癌症的复发或将癌症的复发延迟例如3个月、6个月、9个月、1年、2年、3年、4年、5年或10年或更多年。IL2/IL2Rα融合蛋白治疗可以用作一线、二线或三线治疗。

[0430] 用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗患有癌症的受试者可以导致例如稳定的疾病、部分应答、增加的总体存活期、增加的无疾病存活期或增加的无进展存活期。

[0431] 在一些实施方案中,本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白没有显著的毒性。例如,如例如在临床试验中所确定的,本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白对人的器官例如肝、肾、脑、肺和心脏中的一个或多个没有显著的毒性。在一些实施方案中,本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白不会显著触发不希望的免疫应答,例如自身免疫或炎症。

[0432] 在一些实施方案中,用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗受试者不会导致免疫系统的过度刺激到受试者的免疫系统随后攻击受试者自身(例如自身免疫应答)或导致例如过敏反应的程度。因此,在一些实施方案中,本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白不引起过敏反应。

[0433] 在一些实施方案中,用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗受试者不会引起显著的炎症反应,例如免疫介导的肺炎、免疫介导的结肠炎、免疫介导的肝炎、免疫介导的肾炎或肾功能不全、免疫介导的垂体炎、免疫介导的甲状腺功能减退和甲状腺功能亢进、或其他免疫介导的不良反应。在一些实施方案中,用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗受试者不会引起显著的心脏障碍,例如室性心律失常;眼部障碍,例如虹膜睫状体炎;输注相关反应;淀粉酶增加、脂肪酶增加;神经系统障碍,例如眩晕、周围神经病变和感觉神经病变;皮肤和皮下组织障碍,例如皮疹、瘙痒、剥脱性皮炎、多形性红斑、白癜风或银屑病;呼吸道、胸腔和纵隔障碍,例如咳嗽;疲劳;恶心;食欲下降;便秘;关节痛;或腹泻。

[0434] 在一些实施方案中,本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白与另一种癌症疗法(如刺激免疫系统的化合物(例如,免疫肿瘤学药剂)、例如本文所述的化合物或调节本文所述靶标的化合物)相组合提供了协同抗肿瘤作用。

[0435] 在一些实施方案中,将本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白经由局部、表皮粘膜、鼻内、口服、阴道、直肠、舌下、局部、静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴内、病灶内、囊内、眼眶内、心内、皮内、经气管、皮下、角质层下、关节内、囊下、蛛网膜下腔、脊柱内、硬膜外或胸骨内途径给予。

[0436] 提供了各种用于增加受试者的免疫应答的方法。此类方法包括向需要增加免疫应答的受试者给予治疗有效量的IL2/IL2Rα融合蛋白。这样,在具体的实施方案中,采用瞬时施用较高剂量的IL2来增强免疫效应和记忆应答。

[0437] 提供了各种用于降低受试者的免疫应答的方法。此类方法包括向需要降低免疫应答的受试者给予治疗有效量的IL2/IL2Rα融合蛋白。利用Treg的抑制能力来抑制不需要的

免疫应答引起了人们的很大兴趣。在小鼠和人中的数据显示,以低剂量的IL2增强IL2R信号传导选择性地增强Treg并增强免疫耐受机制。本文提供的IL2/IL2Rα融合蛋白代表IL2的新的和改进的形式,其更可能地增强Treg。因此,可以向患有自身免疫疾病、慢性移植物抗宿主病、移植排斥反应以及其他目的是要抑制自身反应性的病症的患者给予IL2/IL2Rα融合蛋白。

[0438] 下面将进一步详细讨论本文所述的这些和其他方法。

[0439] 7.7.2.1癌症

[0440] 在一些实施方案中,本文公开了治疗癌症的方法。IL2/IL2Rα融合蛋白对IL2Rα的抑制可以增强患有癌症的患者对癌细胞的免疫应答。本文提供了用于治疗患有癌症的受试者的方法,其包括向所述受试者给予本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白,使得受试者得到治疗,例如使得癌性肿瘤的生长得到抑制或减少和/或使得肿瘤消退和/或实现延长的存活期。IL2/IL2Rα融合蛋白可单独用于抑制癌性肿瘤的生长。可替代地,IL2/IL2Rα融合蛋白可以与另一种药剂(例如其他免疫原性药剂)、标准癌症治疗或另一种抗体联合使用。

[0441] 因此,本文提供了例如通过抑制受试者中的肿瘤细胞生长来治疗癌症的方法,所述方法包括向受试者给予治疗有效量的本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白。使用本公开文本的抗体可以抑制其生长的癌症包括通常对免疫疗法有反应的癌症和通常对免疫疗法无反应的癌症。癌症可以是具有实体瘤或血液恶性肿瘤(液体肿瘤)的癌症。在一些实施方案中,所述癌症是膀胱癌、乳腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、卵巢癌、结直肠癌、结肠癌、头颈癌、肺癌、胃癌、生殖细胞癌、骨癌、鳞状细胞癌、皮肤癌、中枢神经系统肿瘤、淋巴瘤、白血病、肉瘤、病毒相关癌症、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠癌、霍奇金或非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、骨髓瘤、唾液腺癌、肾癌、基底细胞癌、黑色素瘤、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、睾丸癌、食道癌、或头颈癌及其任何组合。

[0442] 用于治疗的癌症的其他非限制性例子包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、神经胶质瘤、胃肠道癌、肾癌(例如透明细胞癌)、卵巢癌、肝癌、结直肠癌、子宫内膜癌、肾癌(例如肾细胞癌(RCC))、前列腺癌(例如激素难治性前列腺腺癌)、甲状腺癌、神经母细胞瘤、胰腺癌、胶质母细胞瘤(多形性胶质母细胞瘤)、宫颈癌、胃癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌和头颈癌症(或癌)、胃癌、生殖细胞瘤、小儿肉瘤、鼻窦自然杀伤细胞、黑色素瘤(例如转移性恶性黑色素瘤,如皮肤或眼内恶性黑色素瘤)、骨癌、皮肤癌、子宫癌、肛门区域癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体瘤、输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑癌、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症(包括石棉诱导的那些癌症)、病毒相关的癌症或病毒起源的癌症(例如人乳头瘤病毒(HPV相关或起源的肿瘤))以及源自两种主要血细胞谱系(即髓样细胞系(其产生粒细胞、红细胞、血小板、巨噬细胞和肥大细胞)或淋巴细胞系(其产生B、T、NK和浆细胞))中任一种的恶性血液病(例如所有类型的白血病、淋巴瘤和骨髓瘤,例如急性、慢性、淋巴细胞性和/或骨髓性白血病,如急性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和慢性骨髓性白血病(CML)、未分化AML(MO)、粒细胞白血病(M1)、粒细胞白血病(M2;伴随细胞成熟)、早幼粒细胞白血病(M3或M3变体[M3V])、

骨髓单核细胞性白血病(M4或M4变体伴随嗜酸性粒细胞增多症[M4E])、单核细胞性白血病(M5)、红白血病(M6)、巨核母细胞性白血病(M7)、孤立的粒细胞肉瘤和绿色瘤);淋巴瘤,如霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、B细胞血液恶性肿瘤(例如B细胞淋巴瘤)、T细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞样淋巴瘤、单核细胞样B细胞淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、间变性(例如Ki 1+)大细胞淋巴瘤、成人T细胞淋巴瘤/白血病、套细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤、肠T细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤、前体T淋巴母细胞性淋巴瘤、T淋巴母细胞;和淋巴瘤/白血病(T-Lbly/T-ALL)、外周T细胞淋巴瘤、淋巴母细胞性淋巴瘤、移植后淋巴细胞增殖性疾病、真性组织细胞性淋巴瘤、原发中枢神经系统淋巴瘤、原发渗出性淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、淋巴母细胞性淋巴瘤(LBL)、淋巴谱系造血肿瘤、急性淋巴母细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、弥散组织细胞淋巴瘤(DHL)、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞性淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(CTLC)(也称为蕈样肉芽肿病或塞扎里综合征)、和伴有沃尔丹斯特伦巨球蛋白血症的淋巴浆细胞样淋巴瘤(LPL);骨髓瘤,如IgG骨髓瘤、轻链骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、冒烟型骨髓瘤(也称为惰性骨髓瘤)、孤立性浆细胞瘤和多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、毛细胞淋巴瘤;骨髓谱系造血肿瘤、间充质来源的肿瘤,包括纤维肉瘤和横纹肌肉瘤;精原细胞瘤、畸胎癌、中枢神经肿瘤和外周神经肿瘤,包括星形细胞瘤、神经鞘瘤;间充质来源的肿瘤,包括纤维肉瘤、横纹肌肉瘤和骨肉瘤;以及其他肿瘤,包括黑色素瘤、着色性干皮病、角化棘皮瘤、精原细胞瘤、甲状腺滤泡状癌和畸胎癌、淋巴谱系造血肿瘤,例如T细胞和B细胞肿瘤,包括但不限于T细胞障碍,如T细胞幼淋巴细胞性白血病(T-PLL),包括小细胞和脑样细胞类型;T细胞型大颗粒淋巴细胞性白血病(LGL);a/d T-NHL肝脾淋巴瘤;外周/胸腺后T细胞淋巴瘤(多形和免疫母细胞亚型);血管中心性(鼻)T细胞淋巴瘤;头颈癌、肾癌、直肠癌、甲状腺癌;急性骨髓淋巴瘤以及上述癌症的任何组合。本文所述的方法还可以用于治疗转移性癌症、不可切除的、难治性癌症(例如先前免疫疗法(例如使用阻断性CTLA-4或PD-1抗体)难治的癌症)和/或复发性癌症。

[0443] 在一些实施方案中,将向以下患者给予本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白:患有对先前治疗(例如,用免疫肿瘤学或免疫疗法药物的先前治疗)展现不足的反应或进展的癌症的患者、或患有难治性或耐药性(固有难治性或耐药性(例如,PD-1途径拮抗剂难治))的癌症、或其中获得耐药性或难治性状态的患者。例如,可以通过单独或与其他疗法(例如,与抗PD-1疗法)组合给予本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白来治疗对第一疗法没有反应或没有足够反应或在治疗例如抗PD-1治疗后发现疾病进展的受试者。

[0444] 在一些实施方案中,向先前未接受(即未用其治疗)免疫肿瘤学药剂(例如PD-1途径拮抗剂)的患者给予本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白。

[0445] 用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗患有癌症的受试者的方法可以包括向具有表达IL2或IL2Rα的癌细胞的受试者给予治疗有效量的本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白。本文还提供了预测受试者是否会对用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白的治疗产生反应的方法,其中所述方法包括确定患者中IL2或IL2Rα的水平,并且如果受试者呈IL2或IL2Rα阳性,则受试者可能对用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白的治疗有反应。

[0446] 在一些实施方案中,在受试者中治疗癌症的方法包括首先确定所述受试者是否呈PD-L1或PD-1阳性,例如具有表达PD-L1或PD-1的肿瘤细胞或TIL,并且如果所述受试者具有

PD-L1或PD-1阳性癌细胞或TIL细胞,则向受试者给予本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白(和任选地PD-1或PD-L1拮抗剂)。用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白(和任选地PD-1或PD-L1拮抗剂)治疗患有癌症的受试者的方法可以包括向具有表达PD-L1或PD-1的癌细胞或TIL细胞的受试者给予治疗有效量的本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白(和任选地PD-1或PD-L1拮抗剂)。本文还提供了预测受试者是否会对用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白(和任选地PD-1或PD-L1拮抗剂)的治疗有反应的方法,其中所述方法包括确定患者的癌细胞或TIL细胞中PD-L1或PD-1的水平,并且如果受试者的癌细胞或TIL细胞呈PD-L1或PD-1阳性,则受试者可能对用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白(和任选地PD-1或PD-L1拮抗剂)的治疗有反应。

[0447] 在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与标准护理治疗一起给予。在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白作为维持疗法,例如作为旨在防止肿瘤发生或复发的疗法给予。

[0448] 在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与另一种治疗例如放射、外科手术或化学疗法一起给予。例如,在一些实施方案中,当可能存在微小转移的风险和/或为了降低复发的风险时,给予使用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白的辅助疗法。

[0449] 在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白作为单一疗法或作为唯一的免疫刺激疗法给予。IL2Rα的抗体也可以与免疫原性剂组合,所述免疫原性剂是如癌性细胞、纯化的肿瘤抗原(包括重组蛋白、肽和碳水化合物分子)、细胞和用编码免疫刺激细胞因子的基因转染的细胞(He等人,(2004)J.Immunol.173:4919-28)。可以使用的肿瘤疫苗的非限制性例子包括黑色素瘤抗原的肽(如gp100、MAGE抗原、Trp-2、MART1和/或酪氨酸酶的肽)或经转染以表达细胞因子GM-CSF(下文进一步所讨论)的肿瘤细胞。

[0450] 在一些实施方案中,本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与疫苗接种方案组合。已经设计了许多用于针对肿瘤的疫苗接种的实验策略(参见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;还参见Restifo,N.和Sznol,M.,Cancer Vaccines,第61章,第3023-3043页,在DeVita等人(编),1997,Cancer:Principles and Practice of Oncology,第五版中)。在这些策略之一中,使用自体或同种异体肿瘤细胞制备疫苗。已经显示,当肿瘤细胞被转导以表达GM-CSF时,这些细胞疫苗是最有效的。已经显示GM-CSF是用于肿瘤疫苗接种的抗原呈递的有效力的激活剂(Dranoff等人(1993)Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A.90:3539-43)。

[0451] 对各种肿瘤中的基因表达和大规模基因表达模式的研究已经产生了所谓的肿瘤特异性抗原的定义(Rosenberg,S A(1999)Immunity 10:281-7)。在许多情况下,这些肿瘤特异性抗原是在肿瘤和产生肿瘤的细胞中表达的分化抗原,例如黑素细胞抗原gp100、MAGE抗原和Trp-2。更重要的是,许多这些抗原可以显示为宿主中发现的肿瘤特异性T细胞的靶标。在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与肿瘤中表达的重组蛋白和/或肽的集合联合使用,以便产生针对这些蛋白质的免疫应答。这些蛋白质通常被免疫系统视为自身抗原,并且因此可被免疫系统耐受。肿瘤抗原可以包括蛋白质端粒酶,其是合成染色体端粒所需的并且在超过85%的人类癌症和仅有限数量的体细胞组织中表达(Kim等人(1994)Science 266:2011-2013)。肿瘤抗原也可以是因以下原因在癌细胞中表达的“新抗

原”:改变蛋白质序列或在两个不相关序列之间产生融合蛋白(即费城染色体中的bcr-abl)的体细胞突变,或者来自B细胞肿瘤的独特型。

[0452] 其他肿瘤疫苗可以包括来自牵涉在人类癌症中的病毒的蛋白质,所述病毒是如人乳头瘤病毒(HPV)、肝炎病毒(HBV和HCV)和卡波西疱疹肉瘤病毒(KHSV)。可以与本文公开的融合蛋白联合使用的另一种形式的肿瘤特异性抗原是从肿瘤组织本身分离的纯化的热休克蛋白(HSP)。这些热休克蛋白含有来自肿瘤细胞的蛋白质片段,并且这些HSP在递送至抗原呈递细胞时高效引发肿瘤免疫(Suot&Srivastava(1995)Science 269:1585-1588;Tamura等人(1997)Science 278:117-120)。

[0453] 树突细胞(DC)是有效力的抗原呈递细胞,其可以用于引发抗原特异性应答。DC可以离体产生并加载各种蛋白质和肽抗原以及肿瘤细胞提取物(Nestle等人(1998)Nature Medicine 4:328-332)。DC还可以通过遗传手段被转导,从而也表达这些肿瘤抗原。出于免疫目的,DC还已经直接与肿瘤细胞融合(Kugler等人(2000)Nature Medicine 6:332-336)。作为一种疫苗接种方法,DC免疫可以与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白有效地组合以激活更有效力的抗肿瘤应答。

[0454] 在一些实施方案中,将使用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白治疗癌症的方法与标准癌症治疗(例如外科手术、放射和化学疗法)组合。这种组合的例子是抗TIM3抗体与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白的组合,用于治疗黑色素瘤。组合使用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白和化学疗法背后的科学原理是,作为大多数化学治疗化合物的细胞毒作用的结果的细胞死亡应导致抗原呈递途径中肿瘤抗原水平的升高。可能通过细胞死亡导致与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白协同作用的其他组合疗法是放射、外科手术和激素剥夺。这些方案中的每一种都在宿主中产生肿瘤抗原的来源。血管生成抑制剂也可以与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白组合。抑制血管生成导致肿瘤细胞死亡,其可以将肿瘤抗原供给宿主抗原呈递途径。

[0455] 本文所述的本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白还可以与将表达Fcα或Fcγ受体的效应细胞靶向肿瘤细胞的双特异性抗体组合使用(参见,例如,美国专利号5,922,845和5,837,243)。双特异性抗体可以用于靶向两种单独的抗原。例如,已经使用抗Fc受体/抗肿瘤抗原(例如,Her-2/neu)双特异性抗体将巨噬细胞靶向肿瘤部位。这种靶向可以更有效地激活肿瘤特异性应答。可替代地,可以通过使用与肿瘤抗原和树突细胞特异性细胞表面标记结合的双特异性抗体将抗原直接递送至DC。

[0456] 肿瘤通过各种各样的机制逃避宿主免疫监视。许多这些机制可以通过由肿瘤表达并且具免疫抑制性的蛋白质的失活来克服。这些还包括TGF-β(Kehrl等人(1986)J.Exp.Med.163:1037-1050)、IL-10(Howard&O’Garra(1992)Immunology Today 13:198-200)和Fas ligand(Hahne等人(1996)Science 274:1363-1365)。针对这些实体中的每一种的抗体可以与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白组合使用,以抵消免疫抑制剂的作用并且有利于宿主的肿瘤免疫应答。

[0457] 可以将激活宿主免疫应答的其他抗体与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白组合使用。这些包括树突细胞表面上的分子,其激活DC功能和抗原呈递。抗CD40抗体能够有效替代T细胞辅助活性(Ridge等人(1998)Nature 393:474-478),并且可以与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白联合使用。针对T细胞共刺激分子如CTLA-4(例如,美国专利号5,811,097)、OX-40

(Weinberg等人(2000)Immunol 164:2160-2169)、4-1BB(Melero等人(1997)Nature Medicine 3:682-685(1997)和ICOS(Hutloff等人(1999)Nature 397:262-266)的激活性抗体也可以提供增加水平的T细胞激活。PD1或PD-L1的抑制剂也可以与本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白联合使用。本文的其他地方提供了其他组合。

[0458] 骨髓移植目前用于治疗多种造血来源的肿瘤。虽然移植物抗宿主病是这种治疗的结果,但是可以从移植物抗肿瘤应答获得治疗益处。在一些实施方案中,本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白用于增加供体移植的肿瘤特异性T细胞的有效性。

[0459] 还存在几种实验性治疗方案,其涉及抗原特异性T细胞的离体激活和扩增,以及将这些细胞过继转移到受体中,以便刺激抗原特异性T细胞对抗肿瘤(Greenberg&Riddell(1999)Science 285:546-51)。这些方法也可以用于激活T细胞对感染因子(如CMV)的应答。在一些实施方案中,在本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白存在下的离体激活可以增加过继转移的T细胞的频率和活性。

[0460] 7.7.2.2炎性疾病或自身免疫疾病

[0461] 在一些实施方案中,本文公开了治疗有需要的受试者的疾病或障碍的方法,其中所述疾病或障碍是炎性疾病或自身免疫疾病。在一些实施方案中,所述方法包括向所述受试者给予治疗有效量的本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白。

[0462] 在一些实施方案中,向患有炎性疾病或自身免疫疾病的患者给予本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白,所述炎性疾病或自身免疫疾病对先前治疗展现出不足的反应或进展。在一些实施方案中,向先前未接受(即未用其治疗)炎性疾病或自身免疫疾病治疗的患者给予本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白。

[0463] 在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与炎性疾病或自身免疫疾病的标准护理治疗一起给予。在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白作为用于炎性疾病或自身免疫疾病的维持疗法,例如作为旨在防止炎症发生或复发的疗法给予。

[0464] 在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白作为用于治疗炎性疾病或自身免疫疾病的单一疗法,或作为用于治疗炎性疾病或自身免疫疾病的唯一免疫刺激疗法给予。在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与用于治疗炎性疾病或自身免疫疾病的疫苗接种方案组合。在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与用于治疗炎性疾病或自身免疫疾病的抗体组合。

[0465] 在一些实施方案中,所述炎性疾病或自身免疫疾病选自:1型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、乳糜泻、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、皮肤狼疮、幼年特发性关节炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎或系统性硬化病、移植物抗宿主病、银屑病、斑秃、HCV诱导的血管炎、舍格伦综合征、天疱疮、强直性脊柱炎、白塞病、韦格纳肉芽肿病、高安病、自身免疫性肝炎、硬化性胆管炎、古-斯综合征(Gougerot-sjögren)和巨噬细胞激活综合征。

[0466] 7.7.2.3感染性疾病

[0467] 本文所述的方法还可以用于治疗已经暴露于特定毒素或病原体中的患者。因此,在一些实施方案中,本文公开了治疗有需要的受试者的疾病或障碍的方法,其中所述疾病或障碍是感染性疾病。在一些实施方案中,所述方法包括向所述受试者给予治疗有效量的本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白以治疗感染性疾病。

[0468] 类似于如上文讨论的其对肿瘤的应用,单独使用或作为佐剂与疫苗组合使用包括

用本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白的治疗的方法,以刺激针对病原体、毒素和自身抗原的免疫应答。这种治疗方法可能特别有用的病原体的例子包括目前没有有效疫苗的病原体或常规疫苗不完全有效的病原体。这些包括但不限于HIV、肝炎病毒(甲型、乙型和丙型)、流感病毒、疱疹病毒、贾第虫(Giardia)、疟原虫(Malaria)、利什曼原虫(Leishmania)、金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)。

[0469] 引起通过本文所述方法可治疗的感染的致病病毒的一些例子包括HIV、肝炎(甲型、乙型或丙型)、疱疹病毒(例如,VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II和CMV、爱泼斯坦-巴尔病毒)、腺病毒、流感病毒、黄病毒、埃可病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒、冠状病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、痘苗病毒、HTLV病毒、登革病毒、乳头瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病毒、JC病毒和虫媒病毒性脑炎病毒。

[0470] 引起可通过本公开所述的方法治疗的感染的致病细菌的一些例子包括衣原体属(chlamydia)、立克次体属细菌(rickettsial bacteria)、分枝杆菌属(mycobacteria)、葡萄球菌属(staphylococci)、链球菌属(streptococci)、肺炎球菌(pneumonococci)、脑膜炎球菌(meningococci)和淋球菌(gonococci)、克雷伯菌属(klebsiella)、变形杆菌属(proteus)、沙雷菌属(serratia)、假单胞菌属(pseudomonas)、军团菌属(legionella)、白喉、沙门氏菌属(salmonella)、芽孢杆菌属(bacilli)、霍乱、破伤风、肉毒中毒、炭疽、鼠疫、钩端螺旋体病和莱姆病细菌。

[0471] 引起通过本文所述方法可治疗的感染的致病真菌的一些例子包括念珠菌属(Candida)(白色念珠菌(albicans)、克柔念珠菌(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、热带念珠菌(tropicalis)等)、新型隐球菌(Cryptococcus neoformans)、曲霉属(Aspergillus)(烟曲霉(fumigatus)、黑曲霉(niger)等)、属毛霉目(Genus Mucorales)(毛霉属(mucor)、犁头霉属(absidia)、根霉属(rhizopus))、申克孢子丝菌(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)和荚膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)。

[0472] 引起通过本文所述方法可治疗的感染的致病寄生虫的一些例子包括溶组织内阿米巴(Entamoeba histolytica)、结肠小袋纤毛虫(Balantidium coli)、福氏耐格里阿米巴(Naegleriafowleri)、棘阿米巴属物种(Acanthamoeba sp.)、蓝氏贾第虫(Giardia lambia)、隐孢子虫属物种(Cryptosporidium sp.)、卡氏肺孢子虫(Pneumocystis carinii)、间日疟原虫(Plasmodium vivax)、微小巴贝虫(Babesia microti)、布氏锥虫(Trypanosoma brucei)、克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)、杜氏利什曼原虫(Leishmania donovani)、刚地弓形虫(Toxoplasma gondii)和巴西日圆线虫(Nippostrongylus brasiliensis)。

[0473] 在所有上述方法中,可以将用本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的治疗与其他形式的免疫疗法组合,所述其他形式的免疫疗法例如本文所述的那些,如细胞因子治疗(例如,干扰素、GM-CSF、G-CSF、IL2),或双特异性抗体疗法,其提供了增强的肿瘤抗原呈递(参见,例如,Holliger(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448;Poljak(1994)Structure 2:1121-1123)。

[0474] 7.7.2.4疫苗

[0475] 通过将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与目的抗原(例如疫苗)共给予,本文公开

的IL2/IL2Rα融合蛋白可用于刺激抗原特异性免疫应答。因此,本文提供了增强受试者针对抗原的免疫应答的方法,其包括向所述受试者给予:(i)抗原;和(ii)本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白,使得所述受试者针对所述抗原的免疫应答得以增强。所述抗原可以是例如肿瘤抗原、病毒抗原、细菌抗原或来自病原体的抗原。此类抗原的非限制性例子包括在以上部分中讨论的那些,如上文讨论的肿瘤抗原(或肿瘤疫苗)或来自上述病毒、细菌或其他病原体的抗原。

[0476] 在一些实施方案中,将包含本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白所结合的表位的肽或融合蛋白用作代替本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白的疫苗,或除本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白之外的疫苗。

[0477] 体内和体外给予本文所述的抗体组合物(例如人单克隆抗体、多特异性和双特异性分子和免疫缀合物)的合适途径是本领域熟知的,并且可以由普通技术人员选择。例如,可以将所述抗体组合物通过注射(例如静脉内或皮下)给予。使用的分子的合适剂量将取决于受试者的年龄和体重以及所述抗体组合物的浓度和/或配制品。

[0478] 7.7.2.5与第二药剂共给予

[0479] 如先前所述,可以将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与一种或多种其他治疗剂(例如,细胞毒性剂、放射性毒剂或免疫抑制剂)共给予。本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白可以与所述药剂连接(作为免疫复合物),或者可以与所述药剂分开给予。在后一种情况(分开给予)下,可以将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白在其他药剂之前、之后或与其同时给予,或者可以与其他已知疗法(例如抗癌疗法,例如放射)共给予。此类治疗剂尤其包括抗肿瘤剂,如多柔比星(阿霉素)、顺铂硫酸博来霉素、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、达卡巴嗪(decarbazin)和环磷酰胺羟基脲,它们本身仅在对患者有毒或亚毒的水平下有效。将顺铂以100mg/ml剂量每四周一次静脉内给予,并且将阿霉素以60-75mg/ml的剂量每21天一次静脉内给予。本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与化学治疗剂的共给予提供了两种抗癌剂,它们通过不同的机制起作用,这对人肿瘤细胞产生细胞毒性作用。这种共给予可以解决由于抗药性的发展或肿瘤细胞的抗原性变化而导致它们与抗体不反应的问题。

[0480] 本文提供了组合疗法的方法,其中将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与有效刺激免疫应答的一种或多种其他药剂(第二治疗剂)(例如小分子药物、抗体或其抗原结合部分)共给予,从而进一步增强、刺激或上调受试者的免疫应答。

[0481] 通常,本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白可以与(i)刺激性(例如,共刺激性)分子(例如,受体或配体)的激动剂和/或(ii)免疫细胞(如T细胞)上抑制性信号或分子(例如受体或配体)的拮抗剂组合,二者均导致扩增免疫应答(如抗原特异性T细胞应答)。在一些方面,免疫肿瘤学药剂是(i)刺激性(包括共刺激性)分子(例如,受体或配体)的激动剂或(ii)细胞(例如抑制T细胞激活的细胞或参与先天免疫的细胞,例如NK细胞)上抑制性(包括共抑制性)分子(例如受体或配体)的拮抗剂,并且其中免疫肿瘤学药剂增强先天免疫。此类免疫肿瘤学药剂通常称为免疫检查点调节剂,例如免疫检查点抑制剂或免疫检查点刺激剂。

[0482] 在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与靶向作为免疫球蛋白超家族(IgSF)成员的刺激性或抑制性分子的药剂一起给予。例如,可以将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与靶向IgSF家族成员的药剂一起给予受试者,以增加免疫应答。例如,可以将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与靶向(或特异性结合)膜结合配体的B7家族成员的药剂

或靶向与B7家族成员特异性结合的共刺激性或共抑制性受体或配体的药剂一起给予,所述膜结合配体的B7家族成员包括B7-1、B7-2、B7-H1(PD-L1)、B7-DC(PD-L2)、B7-H2(ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5(VISTA)和B7-H6。

[0483] 也可以将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与靶向分子(配体或受体)的TNF和TNFR家族成员的药剂一起给予,所述TNF和TNFR家族成员如CD40和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和NGFR(参见,例如,Tansey(2009)Drug Discovery Today 00:1)。

[0484] 在一些实施方案中,将本文公开的IL2/IL2Rα融合蛋白与包含抗PD-1抗体的药剂一起给予。所述抗PD-1抗体可以是结合PD-1并且抑制PD-1和PD-L1相互作用的任何抗体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是本领域已知的任何抗PD-1抗体。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含纳武单抗。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含派姆单抗。

[0485] 在一些实施方案中,其中所述第二治疗剂包含抗PD-L1抗体。所述抗PD-L1抗体可以是结合PD-L1并且抑制PD-1和PD-L1相互作用的任何抗体。在一些实施方案中,所述抗PD-L1抗体是本领域已知的任何抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含阿特珠单抗。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含度伐鲁单抗。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含阿维鲁单抗。

[0486] 在一些实施方案中,其中所述第二治疗剂包含抗CTLA-4抗体。所述抗CTLA-4抗体可以是结合CTLA-4并且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,所述抗CTLA-4抗体是本领域已知的任何抗CTLA-4抗体。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含曲美目单抗。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含伊匹单抗。

[0487] 在一些实施方案中,其中所述第二治疗剂包含抗LAG3抗体。所述抗LAG3抗体可以是结合LAG-3并且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,所述抗LAG3抗体是本领域已知的任何抗LAG3抗体。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含25F7。

[0488] 在一些实施方案中,其中所述第二治疗剂包含抗CD137抗体。所述抗CD137抗体可以是任何结合CD137并且抑制其活性的抗体。在一些实施方案中,所述抗CD137抗体是本领域已知的任何抗CD137抗体。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含乌瑞鲁单抗。

[0489] 在一些实施方案中,其中所述第二治疗剂包含抗KIR抗体。所述抗KIR抗体可以是结合KIR并且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,所述抗KIR抗体是本领域已知的任何抗KIR抗体。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含利瑞鲁单抗。

[0490] 在一些实施方案中,其中所述第二治疗剂包含抗GITR抗体。所述抗GITR抗体可以是结合GITR并且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,所述抗GITR抗体是本领域已知的任何抗GITR抗体。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含MK4166。在一些实施方案中,所述第二治疗剂包含TRX518。

[0491] 在其他实施方案中,所述第二疗法包括给予抗TIM3抗体。所述抗TIM3抗体可以是结合TIM3并且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,所述抗TIM3抗体是本领域已知的任何抗TIM3抗体。

[0492] 在某些实施方案中,所述第二疗法包括给予化学治疗剂。在一些实施方案中,所述化学治疗剂选自蛋白酶体抑制剂、免疫调节药物(IMiD)、Bet抑制剂及其任何组合。在一些实施方案中,所述蛋白酶体抑制剂选自硼替佐米、依沙佐米、卡非佐米、奥普佐米和玛利佐米。在某些实施方案中,所述蛋白酶体抑制剂包含硼替佐米。

[0493] 在一些实施方案中,所述第二疗法包括放射疗法。本领域已知的任何放射疗法都可以用作第二疗法。

[0494] 在一些实施方案中,第二疗法包括给予激活先天免疫细胞的药剂。在一些实施方案中,激活先天免疫细胞的药剂包括NLRP3激动剂。在一些实施方案中,所述NLRP3激动剂包含单尿酸钠一水合物(MSU)和/或疫苗佐剂明矾。在一些实施方案中,所述激活先天免疫细胞的药剂是toll样受体7(TLR7)激动剂。在一些实施方案中,所述TLR7激动剂包括咪喹莫特(R837)、GS-9620(参见Tsai等人,J.Virology doi:10.1128/JVI.02166-16(2017年2月8日))、ORN R-2336(Miltenyl Biotec)或其任何组合。

[0495] 在一些实施方案中,所述第二疗法包括给予增强自然杀伤(NK)细胞、$CD8^+$T细胞或二者的存活的药剂。

[0496] 在某些实施方案中,所述第二疗法包括给予选自以下的药剂:多柔比星(ADRIAMYCIN®)、顺铂、卡铂、硫酸博来霉素、卡莫司汀、苯丁酸氮芥(LEUKERAN®)、环磷酰胺(CYTOXAN®;NEOSAR®)、来那度胺(REVLIMID®)、硼替佐米(VELCADE®)、地塞米松、米托蒽醌、依托泊苷、阿糖胞苷、苯达莫司汀(TREANDA®)、利妥昔单抗(RITUXAN®)、异环磷酰胺、长春新碱(ONCOVIN®)、氟达拉滨(FLUDARA®)、沙利度胺(THALOMID®)、阿仑单抗(CAMPATH®)、奥法木单抗(ARZERRA®)、依维莫司(AFINITOR®、ZORTRESS®)、卡非佐米(KYPROLISTM)及其任何组合。

[0497] 调节上述蛋白之一并且可以与本文所述的融合蛋白组合用于治疗癌症的示例性药剂包括:YERVOY®(伊匹单抗)或曲美目单抗(抗CTLA-4)、加利昔单抗(抗B7.1)、BMS-936558(抗PD-1)、MK-3475(抗PD-1)、阿特珠单抗(TECENTRIQ®)、AMP224(抗B7DC)、BMS-936559(抗B7-H1)、MPDL3280A(抗B7-H1)、MEDI-570(抗ICOS)、AMG557(抗B7H2)、MGA271(抗B7H3)、IMP321(抗LAG-3)、BMS-663513(抗CD137)、PF-05082566(抗CD137)、CDX-1127(抗CD27)、抗OX40(Providence Health Services)、huMAbOX40L(抗OX40L)、阿塞西普(抗TACI)、CP-870893(抗CD40)、鲁卡妥木单抗(抗CD40)、达塞妥珠单抗(抗CD40)、莫罗单抗-CD3(抗CD3);抗GITR抗体MK4166、TRX518、Medi1873、INBRX-110、LK2-145、GWN-323、GITRL-Fc或其任何组合。

[0498] 可以与所述融合蛋白组合用于治疗疾病或障碍的其他分子包括NK细胞上抑制性受体的拮抗剂或NK细胞上激活性受体的激动剂。例如,本文所述的融合蛋白可以与KIR拮抗剂(例如,利瑞鲁单抗)组合。

[0499] T细胞激活也由可溶性细胞因子调节,并且可以将本文所述的融合蛋白与抑制T细胞激活的细胞因子拮抗剂或刺激T细胞激活的细胞因子激动剂一起向例如患有癌症的受试

者给予。

[0500] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白可以与以下组合使用以刺激免疫应答,例如以治疗增殖性疾病,如癌症:(i)抑制T细胞激活的IgSF家族或B7家族或TNF家族蛋白质的拮抗剂(或抑制剂或阻断剂)或抑制T细胞激活的细胞因子(例如IL-6、IL-10、TGF-β、VEGF;“免疫抑制性细胞因子”)的拮抗剂和/或(ii)刺激T细胞激活的IgSF家族、B7家族或TNF家族刺激性受体激动剂或细胞因子激动剂。

[0501] 用于组合疗法的又其他药剂包括抑制或耗尽巨噬细胞或单核细胞的药剂,其包括但不限于CSF-1R拮抗剂,如CSF-1R拮抗剂抗体,其包括RG7155(WO 11/70024、WO11/107553、WO 11/131407、WO 13/87699、WO 13/119716、WO 13/132044)或FPA-008(WO 11/140249;WO 13169264;WO 14/036357)。

[0502] 也可以将本公开文本的融合蛋白与抑制TGF-β信号传导的药剂一起给予。

[0503] 可以与本文所述的融合蛋白组合的另外的药剂包括增强肿瘤抗原呈递的药剂(例如树突细胞疫苗,分泌GM-CSF的细胞疫苗,CpG寡核苷酸和咪喹莫特)或增强肿瘤细胞的免疫原性的疗法(例如蒽环类药物)。

[0504] 可以与本文所述的融合蛋白组合的另一种疗法是抑制代谢酶(如吲哚胺二氧合酶(IDO)、二氧合酶、精氨酸酶或一氧化氮合成酶)的疗法。

[0505] 可以与本文所述的融合蛋白一起使用的另一类药剂包括抑制腺苷形成的药剂(例如CD73抑制剂)或抑制腺苷A2A受体的药剂。

[0506] 可以与本文所述的融合蛋白组合用于治疗疾病或障碍(例如癌症)的其他疗法包括逆转/预防T细胞无能或衰竭的疗法和在肿瘤部位触发先天性免疫激活和/或炎症的疗法。

[0507] 可以与本文所述的融合蛋白组合用于治疗疾病或障碍(例如癌症)的其他疗法包括阻断IL-8(例如使用HuMax-IL8)的疗法。

[0508] 本文所述的融合蛋白可以与多于一种免疫肿瘤学药剂组合,并且可以例如与靶向免疫途径的多种要素的组合方法组合,所述组合方法如以下的一种或多种:增强肿瘤抗原呈递的疗法(例如树突细胞疫苗、分泌GM-CSF的细胞疫苗、CpG寡核苷酸、咪喹莫特);抑制负免疫调节的疗法,例如通过抑制CTLA-4和/或PD1/PD-L1/PD-L2途径和/或耗尽或阻断Treg或其他免疫抑制细胞;刺激正免疫调节的疗法,例如使用刺激CD-137、OX-40和/或CD40或GITR途径和/或刺激T细胞效应功能的激动剂;全身性地增加抗肿瘤T细胞频率的疗法;耗尽或抑制Treg(如肿瘤中的Treg)的疗法,例如使用CD25的拮抗剂(例如达克珠单抗)或通过离体抗CD25珠粒耗尽;影响肿瘤中抑制性髓样细胞功能的疗法;增强肿瘤细胞的免疫原性的疗法(例如蒽环类药物);过继T细胞或NK细胞转移,所述细胞包括基因修饰的细胞,例如通过嵌合抗原受体修饰的细胞(CAR-T疗法);抑制代谢酶(如吲哚胺二氧合酶(IDO)、二氧合酶、精氨酸酶或一氧化氮合成酶)的疗法;逆转/预防T细胞无能或衰竭的疗法;在肿瘤部位触发先天性免疫激活和/或炎症的疗法;给予免疫刺激细胞因子;或阻断免疫抑制细胞因子。

[0509] 本文所述的融合蛋白可以与一种或多种连接阳性共刺激受体的激动剂、通过抑制性受体减弱信号传导的阻断剂、拮抗剂以及一种或多种全身性地增加抗肿瘤T细胞频率的药剂、克服肿瘤微环境中的不同免疫抑制途径(例如,阻断抑制性受体接合(例如,PD-L1/

PD-1相互作用)、耗尽或抑制Treg(例如,使用抗CD25单克隆抗体(例如达克珠单抗)或通过离体抗CD25珠粒耗尽)、抑制代谢酶(如IDO)或逆转/预防T细胞无能或衰竭)的药剂和在肿瘤部位触发先天性免疫激活和/或炎症的药剂一起使用。

[0510] 在一些实施方案中,如果受试者为BRAF V600突变阳性,则将本公开文本的融合蛋白与BRAF抑制剂一起给予受试者。

[0511] 例如,本公开文本的融合蛋白和本文所述的组合疗法可以与其他治疗组合(例如,同时或分开)使用,如辐照和/或化学疗法,例如使用喜树碱(CPT-11)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、顺铂、多柔比星、伊立替康、紫杉醇、吉西他滨、顺铂、紫杉醇、卡铂-紫杉醇(Taxol)、多柔比星、或喜树碱+apo21/TRAIL(6X组合))、一种或多种蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米或MG132)、一种或多种Bcl-2抑制剂(例如BH3I-2'(bcl-xl抑制剂)、吲哚胺双加氧酶-1抑制剂(例INCB24360、吲哚莫德、NLG-919或F001287)、AT-101(R-(-)-棉子酚衍生物)、ABT-263(小分子)、GX-15-070(obatoclax)或MCL-1(骨髓性白血病细胞分化蛋白-1)拮抗剂)、iAP(细胞凋亡蛋白的抑制剂)拮抗剂(例如smac7、smac4、小分子smac模拟物、合成smac肽(参见Fulda等人,Nat Med 2002;8:808-15)、ISIS23722(LY2181308)或AEG-35156(GEM-640))、HDAC(组蛋白脱乙酰酶)抑制剂、抗CD20抗体(例如利妥昔单抗)、血管生成抑制剂(例如贝伐单抗)、靶向VEGF和VEGFR的抗血管生成剂(例如阿瓦斯丁)、合成三萜类(参见Hyer等人,Cancer Research 2005;65:4799-808)、c-FLIP(细胞FLICE抑制性蛋白)调节剂(例如PPARγ(过氧化物酶体增殖剂激活的受体γ)的天然和合成配体,5809354或5569100)、激酶抑制剂(例如索拉非尼)、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、坦罗莫司、mTOR抑制剂(如雷帕霉素和坦罗莫司)、硼替佐米、JAK2抑制剂、HSP90抑制剂、PI3K-AKT抑制剂、来那度胺、GSK3P抑制剂、IAP抑制剂和/或遗传毒性药物。

[0512] 本公开文本的融合蛋白和本文所述的组合疗法可以进一步与一种或多种抗增殖细胞毒性剂组合使用。可用作抗增殖细胞毒性剂的化合物的种类包括但不限于以下:

[0513] 烷基化剂(包括而不限于氮芥、乙烯亚胺衍生物、烷基磺酸盐、亚硝基脲和三氮烯):尿嘧啶芥、氯氮芥、环磷酰胺(CYTOXAN®)、磷酰胺、美法仑、苯丁酸氮芥、胍血生、三亚乙基三聚氰胺、三亚乙基硫代磷胺、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、链脲佐菌素、达卡巴嗪和替莫唑胺。

[0514] 抗代谢物(包括而不限于叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂):甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、喷司他汀和吉西他滨。

[0515] 用于与本公开文本的融合蛋白组合的合适的抗增殖剂包括而不限于紫杉烷、紫杉醇(紫杉醇可作为TAXOL™商购获得)、多西紫杉醇、圆皮海绵内酯(DDM)、dictyostatin(DCT)、Peloruside A、埃博霉素、埃博霉素A、埃博霉素B、埃博霉素C、埃博霉素D、埃博霉素E、埃博霉素F、呋喃埃博霉素D、脱氧埃博霉素B1、[17]-脱氢脱氧埃博霉素B、[18]脱氢脱氧埃博霉素B、C12,13-环丙基-埃博霉素A、C6-C8桥接埃博霉素A、反式-9,10-脱氢埃博霉素D、顺式-9,10-脱氢埃博霉素D、16-去甲基埃博霉素B、埃博霉素BIO、discoderomolide、帕土匹隆(EPO-906)、KOS-862、KOS-1584、ZK-EPO、ABJ-789、XAA296A(圆皮海绵内酯)、TZT-1027(soblidotin)、ILX-651(tasidotin hydrochloride)、软海绵素B、甲磺酸艾日布林(E-7389)、哈米特林(HTI-286)、E-7974、Cyrptophycins、LY-355703、美登素(Maytansinoid)免

疫缀合物(DM-1)、MKC-1、ABT-751、Tl-38067、T-900607、SB-715992(艾匹奈司)、SB-743921、MK-0731、STA-5312、软珊瑚醇(eleutherobin)、17β-乙酰氧基-2-乙氧基-6-氧代-B-高-雌甾-1,3,5(10)-三烯-3-醇、环链霉菌素(cyclostreptin)、异莱利霉素(isolaulimalide)、莱利霉素(laulimalide)、4-表-7-脱羟基-14,16-二去甲基-(+)-圆皮海绵内酯和隐硫酮(cryptothilone)1以及还有本领域已知的其他微管蛋白稳定剂。

[0516] 在需要与用本文所述的本公开文本的融合蛋白的治疗一起或在其之前使异常增殖细胞休眠的情况下,还可以向患者给予激素和类固醇(包括合成类似物),如17a-乙炔雌二醇、己烯雌酚、睾酮、泼尼松、氟甲睾酮、丙酸甲雄烷酮、睾内酯、甲地孕酮、甲基泼尼松龙、甲基-睾酮、泼尼松龙、去炎松、氯烯雌醚、羟孕酮、氨鲁米特、雌莫司汀、甲孕酮、亮丙瑞林、氟他胺、托瑞米芬、ZOLADEX®。当采用本文所述的方法或组合物时,还可以根据需要给予在临床环境中用于调节肿瘤生长或转移的其他药剂,如抗模拟药。

[0517] 在一些实施方案中,可以将本文所讨论的本公开文本的融合蛋白和第二药剂的组合在药学上可接受的载体中作为单一组合物同时给予,或作为分开的组合物同时给予,其中本公开文本的融合蛋白和第二药剂在药学上可接受的载体中。在一些实施方案中,可以将本公开文本的融合蛋白和第二药剂的组合顺序给予。两种药剂的给予可以在相隔例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一周或多周的时间开始,或者第二药剂的给予可以在已经给予第一药剂后例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一周或多周时开始。

[0518] 在一些实施方案中,可以与本公开文本的融合蛋白和/或第二药剂组合的抗肿瘤抗体包括RITUXAN®(利妥昔单抗)、HERCEPTIN®(曲妥珠单抗)、BEXXAR®(托西莫单抗)、ZEVALIN®(艾瑞妥莫单抗)、CAMPATH®(阿仑单抗)、LYMPHOCIDE®(依帕珠单抗(eprtuzumab))、AVASTIN®(贝伐单抗)和TARCEVA®(厄洛替尼)或其任何组合。在一些实施方案中,可与本公开文本的融合蛋白用于组合疗法的第二抗体可以是抗体药物缀合物。

[0519] 在一些实施方案中,将单独的或与另一种药剂组合的本公开文本的融合蛋白与骨髓移植同时或顺序使用,以治疗多种造血来源的肿瘤。

[0520] 本文提供了用免疫刺激剂改变与过度增殖性疾病(例如,癌症)的治疗相关的不良事件的方法,其包括将本公开的融合蛋白与第二药剂一起或不与第二药剂一起给予受试者。例如,本文所述的方法提供了通过向患者给予不可吸收的类固醇来降低免疫刺激性治疗抗体诱导的结肠炎或腹泻的发生率的方法。如本文所用,“不可吸收的类固醇”是一种糖皮质激素,其展现出广泛的首过代谢,使得在肝脏中代谢后,所述类固醇的生物利用度低,即小于约20%。在本文所述的一些实施方案中,不可吸收的类固醇是布地奈德。布地奈德是一种局部作用的糖皮质激素,其在口服给予后主要由肝脏广泛代谢。ENTOCORT EC®(Astra-Zeneca)是开发用于优化药物向回肠和整个结肠的递送的布地奈德的pH和时间依赖性口服配制品。ENTOCORT EC®在美国被批准用于治疗涉及回肠和/或升结肠的轻度至中度克罗恩病。在一些实施方案中,本公开文本的融合蛋白联合不可吸收的类固醇可以进一

步与水杨酸盐组合。水杨酸盐包括5-ASA药剂,如例如:柳氮磺胺吡啶(AZULFIDINE®,Pharmacia&Up John);奥沙拉秦(DJPENTUM®,Pharmacia&Up John);巴柳氮(COLAZAL®,Salix Pharmaceuticals,Inc.);和美沙拉秦(ASACOL®,Procter& Gamble Pharmaceuticals;PENTASA®,Shire US;CANASA®,Axcan Scandipharm, Inc.;ROWASA®,Solvay)。

[0521] 7.8试剂盒

[0522] 如本文所用,试剂盒包含用于调节免疫应答的IL2/IL2Rα融合蛋白,如本文其他地方所述。如本文所用,术语"试剂盒"和"系统"旨在指至少一种或多种IL2/IL2Rα融合蛋白,在具体的实施方案中,其与一种或多种其他类型的元件或组分(例如,其他类型的生化试剂、容器、包装(如旨在用于商业销售的包装)、使用说明书等)组合。

[0523] 在一些实施方案中,公开了一种试剂盒,其包含(a)以下中的一种或多种:如本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白、包含如本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的组合物、编码本文如所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的核酸、载体和/或宿主细胞;以及(b)向有需要的受试者给予所述融合蛋白的说明书。在一些实施方案中,公开了一种试剂盒,其包含(a)如本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白和(b)向有需要的受试者给予所述融合蛋白的说明书。在一些实施方案中,公开了一种试剂盒,其包含(a)包含如本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的组合物和(b)向有需要的受试者给予所述组合物的说明书。在一些实施方案中,公开了一种试剂盒,其包含(a)编码如本文所述的IL2/IL2Rα融合蛋白的核酸和(b)向有需要的受试者给予所述核酸的说明书。在一些实施方案中,公开了一种试剂盒,其包含(a)如本文所述的载体和(b)向有需要的受试者给予所述载体的说明书。在一些实施方案中,公开了一种试剂盒,其包含(a)如本文所述的宿主细胞和(b)向有需要的受试者给予所述宿主细胞的说明书。

[0524] 在具体的实施方案中,本文提供了一种药物包装或试剂盒,其包含一个或多个容器,所述容器填充有本文所述的药物组合物的一种或多种成分,如本文提供的一种或多种融合蛋白。在一些实施方案中,所述试剂盒含有本文所述的药物组合物和任何预防剂或治疗剂,如本文所述的那些。在某些实施方案中,所述试剂盒可含有T细胞促分裂原,如例如,植物血凝素(PHA)和/或佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯(PMA),或TCR复合物刺激抗体(如抗CD3抗体和抗CD28抗体)。任选地与这样一个或多个容器相关的可以是呈由管理药品或生物制品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的公告,所述公告反映了所述机构批准制造、使用或销售用于给予人类。

[0525] 本文还提供了可用于上述方法的试剂盒。在一个实施方案中,试剂盒包含在一个或多个容器中的本文所述的融合蛋白,优选纯化的融合蛋白。在具体的实施方案中,本文所述的试剂盒含有基本上分离的融合蛋白作为对照。在另一个具体的实施方案中,本文所述的试剂盒进一步包含不与IL2和/或IL2-Rα抗原反应的对照抗体或融合蛋白。在另一个具体的实施方案中,本文所述的试剂盒含有一种或多种用于检测融合蛋白与IL2和/或IL2-Rα抗原的结合的元件(例如,融合蛋白可以与可检测底物(如荧光化合物、酶底物、放射性化合物或发光化合物)缀合,或识别第一抗体的第二抗体可以与可检测底物缀合)。在具体的实施方案中,本文提供的试剂盒可以包括重组产生的或化学合成的融合蛋白。也可以将针对如

在试剂盒中提供的本文公开的融合蛋白的抗原附接至固体支持物。在更具体的实施方案中,上述试剂盒的检测器件包括融合蛋白的抗原附接的固体支持物。这种试剂盒也可以包括未附接的经报告物标记的抗人抗体或抗小鼠/大鼠抗体。在此实施方案中,融合蛋白与抗原的结合可以通过所述经报告物标记的抗体的结合来检测。

[0526] 除非另有说明,否则本公开文本的实践将采用细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组DNA和免疫学的常规技术,这些技术在本领域的技术范围内。此类技术在文献中有充分说明。参见,例如,Sambrook等人,编辑(1989)Molecular Cloning A Laboratory M anual(第2版;Cold Spring Harbor Laboratory Press);Sambrook等人,编辑(1992)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,(Cold Springs Harbor Laboratory,纽约);D.N.Glover编辑,(1985)DNA Cloning,I and II卷;Gait,编辑(1984)Oligonucleotide Synthesis;Mullis等人美国专利号4,683,195;Hames和Higgins,编辑(1984)Nucleic Acid Hybridization;Hames和Higgins,编辑(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.,纽约);Miller and Calos编辑(1987)Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells,(Cold Spring Harbor Laboratory);Wu等人,编辑,Methods In Enzymology,卷154和155;Mayer和Walker,编辑(1987)Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology(Academic Press,London);Weir和Blackwell,编辑,(1986)Handbook Of Experimental Immunology,I-IV卷;Manipulating the Mouse Embryo,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,纽约,(1986););Crooks,Antisense drug Technology:Principles,strategies and applications,第2版CRC Press(2007)以及Ausubel等人(1989)Current Protocols in Molecular Biology(John Wiley和Sons,Baltimore,Md.)。

[0527] 以上引用的所有参考文献以及本文引用的所有参考文献和氨基酸或核苷酸序列(例如GenBank号和/或Uniprot号)通过引用以其整体并入本文。

[0528] 通过说明的方式而不是通过限制的方式,提供以下实施例。

[0529] 8.实施例

[0530] 实施例1.IL2-CD25融合蛋白形成稳定均质的同二聚体

[0531] 通过与在位多角度光散射检测器耦合的尺寸排阻色谱(SEC-MALS)研究融合蛋白的大小和寡聚状态。通过注射30μg的储备蛋白样品来制备样品。在含有40mM Tris、200mM NaCl(pH 7.5)的缓冲液(添加0.02%叠氮化钠并经0.1um过滤,以0.75mL/min的流速运行)中,在与Prominence Shimadzu UFLC系统(所述系统由脱气器、等度泵、带注射器的冷却样品架、UV/vis检测器和柱温箱组成)连接的GE Healthcare Superdex 200Increase 10/300GL柱(10mm X 300mm)上进行等度分离。使用Shimadzu自动进样器将样品注入柱中,并且从串联的三个在线检测器获得数据:设置为在280nm处收集的Shimadzu SPD-20双波长UV/vis分光光度计,接着是Wyatt Technologies mini-Dawn TREOS三角激光散射检测器,然后是Wyatt Optilab T-rEX干涉折射仪。使用Astra 6(Wyatt)和LabSolutions Lite(Shimadzu)软件收集数据并进行分析。

[0532] 图1中的数据示出了分析型尺寸排阻色谱的典型绝对质量与洗脱时间的关系。图1

中分析的样品是针对与His标签(GGHHHHHH(SEQ ID NO:100))融合的IL2-CD25(22-212)(SEQ ID NO:16),所述多肽链的理论分子量为37,812(减少)。数据指示,IL2-CD25(22-212)在整个洗脱曲线上形成均质物质形式,测量的绝对质量为93kDa。洗脱峰显示没有单体物质峰或比主峰数量级高的寡聚物质峰的迹象。93kDa的质量值表明所述分子形成同二聚体,并且也被糖基化(来自IL2和CD25上已知的N-和O-连接的糖基化位点的约18%质量)。

[0533] 实施例2:IL2-CD25融合蛋白与sCD25和sIL2Rβ/IL2Rγ异源受体等效结合,并且观察到的亲和力减弱。

[0534] 表面等离子体共振(SPR)研究是在25℃下在Biacore T100和/或T200仪器(GE Healthcare)上进行的。在由低密度(约300RU)biot-hCD25-BioP-TVMV-His(其已经被切割了His(hCD25)并被捕获于链霉亲和素SA传感器芯片上)或hCD122(27-241)-hFc-D/hCD132(23-263)-hFc-K异二聚体Fc融合物(hIL2-Rb/g)(其已经使用标准的乙基(二甲基氨基丙基)碳二亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)化学物质,被蛋白A固定化的CM5传感器芯片表面捕获,并用乙醇胺封闭)组成的表面上在磷酸盐缓冲盐水(PBS-T)(pH 7.1)中测试了融合蛋白分析物的结合。将蛋白质分析物以滴定系列注入,并且通过低pH缓冲液的2X 8s的注射再生回基线。使用Biacore T-200评价软件分析数据。

[0535] 图2示出了IL2-CD25融合蛋白(SEQ ID NO:16)与人sCD25的原型结合。观察到的4.2微摩尔的表观平衡解离常数比通过表面等离子体共振测量的分离的IL2对sCD25的亲和力弱约150倍(Liparoto,S.F.,Myszka,D.G.,Wu,Z.,Goldstein,B.,Laue,T.M.,和Ciardelli,T.L.(2002)Biochemistry 41,2543-51.)。

[0536] 表9:IL2-CD25融合蛋白(SEQ ID NO:16)与人sCD25结合的药代动力学。

[0537]

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

[0538] 下表10显示了观察到的IL2-CD25的短和长形式与人sCD25和sIL2Rβ/IL2Rγ异二聚体的原型结合的平衡K_D值。与IL2相比,观察到的各种IL2-CD25融合蛋白的表观平衡解离常数明显减弱。与IL2相比,IL2-CD25融合物与sCD25的结合弱约100倍。同样,与IL2相比,IL2-CD25融合物与β-γ异二聚体的结合弱约150倍。

[0539] 表10:如通过表面等离子体共振测量的,观察到的IL2和IL2-CD25构建体与sCD25或sIL2Rβ/IL2Rγ异二聚体结合的平衡K_D值。

[0540]

受体	与sCD25的K_D，μM	与sIL2Rβ/IL2Rγ异二聚体的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接头-IL2-CD25(22-212) 二价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)2二价 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

[0541]

IL2(V111K)-CD25 SEQ ID NO: 69	1.9	
IL2(D40T)-CD25 SEQ ID NO: 70	2.8	

[0542] 实施例3:IL2-CD25的截短形式具有改善的抗聚集稳定性:加速稳定性测试

[0543] 通过在40℃下在pH范围4-8的缓冲液中孵育来测试融合蛋白的稳定性。将融合蛋白浓缩至约15mg/ml,并且在4℃下透析到以下缓冲液中:1)20mM乙酸盐、250mM蔗糖,pH 4,2)20mM柠檬酸盐、250mM蔗糖,pH 5,3)20mM组氨酸、250mM蔗糖,pH 6,4)20mM磷酸盐、250mM蔗糖,pH 7,以及5)20mM Tris、250mM蔗糖,pH 8.4(室温)。从透析中恢复后,通过用透析缓冲液稀释,将融合蛋白的浓度归一化至10mg/ml,并且置于在40℃下监测的培养箱中四周,其中就在孵育前(t0)、40℃孵育一周(1w)和四周(4w)后取出等分试样。通过在与Agilent 1260HPLC系统连接的Shodex KW403-4F柱上的尺寸排阻色谱分析每个时间点,在含有100mM磷酸钠、150mM氯化钠、pH 7.3(0.2μm过滤)的缓冲液中以0.30mL/min的流速运行。

[0544] 如表11和表12所示,在加速稳定性研究之后,IL2-CD25的截短形式与较长形式相比展示出更好的高分子量和低分子量概况。对于pH值4、5、6和7尤其如此。将样品在不同的pH条件下并在四十摄氏度保持四周。显示为每种构建体的高分子量和低分子量部分的百分比的结果表明,与长构建体相比,短构建体的稳定性大大提高。显示为每种构建体主峰部分的百分比的结果表明,与长构建体相比,短构建体的稳定性大大提高。

[0545] 表11:IL2-CD25融合蛋白的加速稳定性概况。

[0546]

	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

[0547] 出于易于纯化的目的,本文的IL2-CD25融合蛋白含有His标签(GGHHHHHH,SEQ ID NO:100)。

[0548] 表12:IL2-CD25融合蛋白的加速稳定性概况。

[0549]

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

[0550] 实施例4:非人类动物中的药代动力学研究

[0551] 药代动力学研究所有动物实验方案均已获得新泽西州中央机构动物保护和使用委员会的批准,并且根据指南饲养动物。体重19-20克的雌性Balb/C小鼠购自Charles-River(马萨诸塞州威尔明顿)。通过经由尾静脉的静脉(IV)途径或皮下(SC)途径,向未禁食的Balb/C小鼠给予单次0.5mg/kg剂量的所指示分子。药代动力学研究中使用的IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)具有His6标签。在给药后的以下时间点从尾静脉采血:5分钟(仅IV)、1h、7h、24h、48h、72h、96h和168h。对于猴PK研究,从Buckshire Corporation(宾夕法尼亚州珀卡西)获得雄性食蟹猴。向猴(N=3,平均体重7.8kg)给予单次0.075mg/kg皮下剂量的hIL2-CD25(22-212)。给药后5h、24h、48h、72h、96h、168h、192h和240h从有意识的和坐着的猴的股动脉中采集系列血样。允许血液样品凝结并且在4℃(1500-2000×g)下离心以获得血清。将血清样品储存在-80℃直到进一步分析。

[0552] 血清中融合蛋白的检测:使用配体结合测定来检测小鼠或猴血清样品中融合蛋白的水平。简言之,在4℃下用在PBS中的2μg/mL捕获剂(大鼠抗人IL2抗体,单克隆克隆:MQ1-17H12;Thermo Fisher Scientific,圣地亚哥,加利福尼亚州)包被96孔Nunc MaxdiSorp平底板(Thermo Fisher Scientific,丹麦)过夜。将板用封闭缓冲液(PBS中的5%BSA)封闭,并且在25℃下孵育1小时。将标准品、QC和样品用测定缓冲液(含1%BSA和0.05%Tween 20的PBS)稀释20倍,并且一式两份添加到经洗涤的板中,并且在4℃下孵育过夜。将洗涤的板与检测试剂(人CD25生物素化抗体(R&D Systems,明尼阿波利斯,明尼苏达州),在测定缓冲液中250ng/mL)孵育,并且在25℃孵育2小时。在25℃下,按顺序向经洗涤的板中添加在测定缓冲液中的100ng/mL NeutrAvidin-HRP(Thermo Scientific,罗克福德,伊利诺伊州)保持45分钟,然后添加化学发光底物混合物(Thermo Scientific,罗克福德,伊利诺伊州)持续一分钟,之后以发光模式在SpectraMax读板器中读取。使用softmax分析程序(Molecular Devices)的Log-Log线性曲线拟合算法制作的标准曲线计算血清样品中分析物的浓度。

[0553] 表13:Balb/C小鼠中所指示分子的药代动力学参数。

[0554]

	剂量	途径	CL	Vss	AUC (0-最后)	Cmax	Tmax	T1/2	生物利用度
	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%

[0555] NA＝不适用,ND＝不确定。

[0556] 表14:食蟹猴中hIL2-CD25(22-212)的药代动力学参数。

[0557]

	剂量	途径	AUC (0-最后)	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

[0558] 实施例5:IL2-CD25融合蛋白对Kit225细胞的活性

[0559] 通过测量刺激在T细胞系Kit225(来自具有OKT3+、-T4+、-T8-表型的T细胞慢性淋巴细胞性白血病患者的IL2依赖性人T细胞系)上内源性表达的IL2R的能力来确定修饰的融合蛋白的生物学活性。通过使用对IL2R的信号传导级联敏感的报告系统来测量活性。在IFNγ激活序列(IRF1-GAS-Luc)的控制下,使与萤火虫萤光素酶报告基因稳定整合的Kit225人T细胞在含有RPMI+Glutamax、10％热灭活FBS、20ng/mL重组IL2(Invitrogen PHC0023)、1％Pen/Strep和0.7mg/mL遗传霉素的培养基中生长。测定前一天,将报告细胞洗涤并重悬于测定培养基(不含酚红的RPMI+L-谷氨酰胺、10％热灭活FBS、1％Pen/Strep)中以去除生长培养基中存在的IL2,然后在37℃下孵育过夜。在测定当天,将IL2分子在测定缓冲液中以3倍连续稀释来制作11点浓度响应曲线,将各种浓度的IL2分子添加到CulturPlate-384测定板(Perkin Elmer目录号6007688)中,然后添加70,000个细胞/孔。将测定板在37℃CO_2培养箱中孵育5小时,然后平衡至室温保持20分钟,之后添加ONE-GLO™底物(Promega E6120)。将板密封并且在Perkin Elmer Envision上测量发光信号。使用GraphPad Priam绘制IL2剂量响应发光信号的11点。EC50被定义为测试IL2融合蛋白的对应于源自如使用四参数对数回归模型确定的11点拟合曲线的50％激活的浓度。融合蛋白对原代细胞中IL2R信号传导的效力是通过用融合蛋白刺激人外周血单核细胞(PBMC)或全血来确定的。pSTAT5的酪氨酸磷酸化是IL2R信号传导的直接结果,并且通过流式细胞术在全血或PBMC中的各种细胞群体中检测到。将血液样品或PBMC在37℃下用hIL2-CD25融合蛋白的连续稀释物处理15min。孵育后,用

Lyse/Fix缓冲液(BD Phosflow)处理10min以将细胞固定并将血液裂解。将细胞洗涤两次，并且然后在冰上的冰冷甲醇中透化30min，再洗涤两次。然后将样品用人Fc阻断剂(ebioscience)处理，然后用针对CD3、CD4、CD8、CD25、pSTAT5、Foxp3和CD56的标记抗体染色。然后通过流式细胞术分析所有样品。

[0560] 在基于体外细胞的测定中，所述融合蛋白展现IL2受体激活的效价，所述效价相对于wt IL2(效价较差)显著右移。这与非共价二聚体形式的融合蛋白的降低的表观亲和力一致。将Fc尾添加到融合蛋白中确实产生了进一步的向较差效价20-30倍的变化。去除His标签或C末端的截短对融合蛋白的效价影响最小。在全血中获得了相似的相对效价结果。

[0561] 表15A:IL2-CD25融合蛋白对Kit225细胞的活性。

[0562]

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

[0563]

融合蛋白	EC_{50} (ng/ml)	
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接头-IL2-CD25(22-212（二价）	3414	n=2
hIL2-CD25(22-212)-Fc1.1（二价）	3413	n=2

[0564] 表15B.IL2-CD25融合蛋白对Kit225细胞的活性。

[0565]

蛋白质	SEQ	效价			Ymax (%)
		EC50 ng/ml	STDEV	n	wt IL2应答的百分比
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))2二价	67	737	264	4	97%
hIL2-CD25(四去糖基化)	202	39.4	3.1	3	85%

[0566] 可以通过在15min后监测到的在包括PBMC或全血的混合细胞群体中STAT5的磷酸化(分别为图9A和9B)来测量hIL2-CD25蛋白(包括hIL2-CD25(22-212)(SEQ ID NO:16))信号传导对Treg(相对于其他细胞类型)的选择性。将新鲜获得的血液样品在37℃下用hIL2-CD25(22-212)(SEQ ID NO:16)的连续稀释物处理15min。孵育后，将细胞进行加工(固定和透化)，用针对CD3、CD4、CD8、CD25、pSTAT5、Foxp3和CD56的标记抗体染色并且通过流式细胞术分析。Treg对通过hIL2-CD25(22-212)(SEQ ID NO:16)的IL2R刺激非常敏感，其中最大功

效为Treg的90％响应于刺激(通过上调pSTAT5),并且效价为7+/-11ng/ml。与在Treg上观察到的稳健激活相比,hIL2-CD25(22-212)(SEQ ID NO:16)不太有效地刺激CD4非Treg(foxp3-)、CD8和NK细胞;在所有其他细胞类型中,即使在平均高达2700ng/ml的浓度下,低于50％的这些细胞下调pSTAT5(表16)。总体上,相对于rhIL2,hIL2-CD25(22-212)(SEQ ID NO:16)维持或提高了对Treg(相对于其他细胞类型)上的IL2R的选择性。具有IL2-CD25的Fc-或HSA-融合蛋白在全血中保持高Treg选择性,尽管效价较低(表16)。

[0567] 表16:刺激人全血中各种细胞类型的效价和功效。数据是从正常供体抽取的新鲜血液的2-10个供体的平均值。在大于Treg效价约200-400倍的浓度下确定最大pSTAT5阳性细胞％。

[0568]

	Treg		CD4 foxp3-非Treg	CD8 T细胞	NK细胞
pSTAT5 阳性细胞%	EC50 ng/ml	在测试的最高浓度下的最大值	在测试的最高浓度下的最大值	在测试的最高浓度下的最大值	在测试的最高浓度下的最大值
hIL2-CD25 (22-212) (SEQ 16)	7.2 (± 10.4, n=10)	90% (+/-8, n=10)	48% (+/-14, n=10) 在2.7μg/ml	27% (+/-11, n=10) 在2.7μg/ml	22% (+/-19, n=8) 在2.7μg/ml
Fc-(IL2-CD25)$_2$ (SEQ 67)二价	88 (± 74, n=4)	95% (+/-2, n=4)	50% (n=3) 在24μg/ml	33% (n=3) 在24μg/ml	8% (n=2) 在24μg/ml
Fc-(IL2-CD25) (SEQ 26)单价	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
HSA-(G4S)3-IL2-CD25-FT (SEQ 19)	83 (± 53, n=3)	95% (+/-3, n=3)	59% (n=2) 在24μg/ml	38% (n=2) 在24μg/ml	6% (n=2) 在24μg/ml
IL2-CD25 FT-GG -HSA (SEQ 20)	43 (± 35, n=2)	92% (+/-5, n=2)	60% (n=2) 在8.1μg/ml	39% (n=2) 在8.1g/ml	10% (n=2) 在8.1μg/ml
(IL2-CD25)-Fc (SEQ 27) 单价	11.4 (± 1.6, n=2)	94% (+/-5, n=2)	67% n = 2 在8.1 μg/ml	49% n = 2 在8.1 μg/ml	25% n = 2 在8.1 μg/ml

[0569] 实施例6:由截短的IL2-CD25融合蛋白增加白细胞的体内活性

[0570] 在具有人源化免疫系统的小鼠中测试了融合蛋白增加体内白细胞的能力。16-20周龄的雌性NSG-huCD34移植小鼠(NOD.Cg-Prkdc^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ,将其用人CD34+造血干细胞重构)购自Jackson实验室。植入后14周,通过流式细胞术检查每只人源化小鼠的外周血中hCD45+细胞和鼠CD45+细胞(mCD45+)的存在。选择具有至少25％人CD45植入的小鼠。

已经测试了植入的人造血干细胞不含HIV、HBV、HCV和LCMV(淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒)。向动物随意提供标准啮齿动物食物和纯净水,并且在使用前适应至少1周。所有使用动物的程序均由BMS机构动物保护和使用委员会审查并批准。每三天,当动物处于麻醉时,对16-20周龄的NSG-huCD34移植的小鼠用PBS或融合蛋白huIL2-CD25(22-187)、huIL2-CD25(22-212)和HuIL2-CD25(22-240)以200μl的体积以10μg/小鼠经由皮下来皮下给药。在第0、3和6天,总共给予三个皮下剂量。最后一次给药后24小时,麻醉所有的处理组,在HBSS中收集脾脏,用于Treg、CD8 T或NK细胞的FACS分析。所有三种融合蛋白均显示出相似的增加脾细胞数量的能力。

[0571] 实施例7:人或小鼠血清中IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)中的(G3S)3肽接头的稳定性

[0572] 开发了基于液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)的生物分析方法,以支持在体外血清稳定性研究和体内猴PK研究中评价(G3S)3接头的稳定性。在使用大鼠抗IL-2抗体捕获IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)(即SEQ ID NO:16)后,将两个标识肽(DLISNINVIVLELK(来自IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)的IL-2结构域)和EPPPWENEATER(来自IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)的CD25结构域))的峰面积比用于评价IL-2和CD25之间的接头稳定性。血清中的接头切割和由此产生的循环切割产物将导致IL2/CD25面积比>1的系统性增加。

[0573] 为了测试体外IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)的接头切割稳定性,将0.5μM的IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)以1.5ml的总体积在37℃下在人血清(Bioreclamation目录号HMSRM-M;货号BRH1332647)或小鼠血清(Bioreclamation目录号MSESRM-BALB-M;货号MSE264349)中孵育长达72小时。在0、4、24、48和72小时收集样品(200μL血清),并且储存在-80℃下,直到通过LC-MS/MS分析峰面积比。为了鉴定在猴中在单剂量的IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)后由于体内接头切割所致的循环切割产物的存在,通过LC-MS/MS分析给药后5、24、48、72、96和168小时收集的血清样品的峰面积比。

[0574] 如图10所示,在37℃下在人或小鼠血清中体外孵育的72小时中,IL2和IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)的CD25结构域中的标识肽的峰面积比保持接近统一,因此表明在人血清和小鼠血清中IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)的接头切割均可忽略不计。

[0575] 另外,如图11所示,在0.075mg/kg的单次皮下剂量的IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)后从猴收集的血清样品中,使用抗IL2免疫捕获后IL2和CD25替代肽(surrogate peptide)的比率保持接近统一。数据表明在用IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)(即SEQ ID NO:16)给药的猴的血清中不存在接头切割。

[0001] 序列表

[0002] <110> 百时美施贵宝公司

[0003] <120> 白介素-2/白介素-2受体α融合蛋白以及使用方法

[0004] <130> 3338.100PC01/ELE/C-K/MKK

[0005] <150> US 62/649,379

[0006] <151> 2018-03-28

[0007] <160> 204

[0008] <170> PatentIn 3.5版

[0009] <210> 1

[0010] <211> 153

[0011] <212> PRT

[0012] <213> 人工序列

[0013] <220>

[0014] <223> IL2 (人, 未加工)

[0015] <400> 1

[0016] Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

[0017] 1 5 10 15

[0018] Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

[0019] 20 25 30

[0020] Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

[0021] 35 40 45

[0022] Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

[0023] 50 55 60

[0024] Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

[0025] 65 70 75 80

[0026] Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys

[0027] 85 90 95

[0028] Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile

[0029] 100 105 110

[0030] Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

[0031] 115 120 125

[0032] Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

[0033] 130 135 140

[0034] Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

[0035] 145 150

[0036] <210> 2

[0037] <211> 133

[0038] <212> PRT

[0039] <213> 人工序列

[0040] <220>

[0041] <223> IL2 (人, 成熟形式)

[0042] <400> 2

[0043] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[0044] 1 5 10 15

[0045] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[0046] 20 25 30

[0047] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[0048] 35 40 45

[0049] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[0050] 50 55 60

[0051] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[0052] 65 70 75 80

[0053] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[0054] 85 90 95

[0055] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[0056] 100 105 110

[0057] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

[0058] 115 120 125

[0059] Ile Ser Thr Leu Thr

[0060] 130

[0061] <210> 3

[0062] <211> 169

[0063] <212> PRT

[0064] <213> 人工序列

[0065] <220>

[0066] <223> IL2 (小鼠, 未加工)

[0067] <400> 3

[0068] Met Tyr Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

[0069] 1 5 10 15

[0070] Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala

[0071] 20 25 30

[0072] Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu

[0073] 35 40 45

[0074] Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn

[0075] 50 55 60

[0076] Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu

[0077] 65 70 75 80

[0078] Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
[0079] 85 90 95
[0080] Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
[0081] 100 105 110
[0082] Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
[0083] 115 120 125
[0084] Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
[0085] 130 135 140
[0086] Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
[0087] 145 150 155 160
[0088] Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln
[0089] 165
[0090] <210> 4
[0091] <211> 149
[0092] <212> PRT
[0093] <213> 人工序列
[0094] <220>
[0095] <223> IL2 (小鼠, 成熟形式)
[0096] <400> 4
[0097] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln
[0098] 1 5 10 15
[0099] Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Leu
[0100] 20 25 30
[0101] Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn Tyr Arg Asn Leu
[0102] 35 40 45
[0103] Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu Pro Lys Gln Ala
[0104] 50 55 60
[0105] Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu
[0106] 65 70 75 80
[0107] Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp
[0108] 85 90 95
[0109] Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val Val Lys Leu Lys
[0110] 100 105 110
[0111] Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr
[0112] 115 120 125
[0113] Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys Gln Ser Ile Ile
[0114] 130 135 140
[0115] Ser Thr Ser Pro Gln
[0116] 145

[0117] <210> 5

[0118] <211> 272

[0119] <212> PRT

[0120] <213> 人工序列

[0121] <220>

[0122] <223> IL2Ralpha (人, 未加工形式)

[0123] <400> 5

[0124] Met Asp Ser Tyr Leu Leu Met Trp Gly Leu Leu Thr Phe Ile Met Val

[0125] 1 5 10 15

[0126] Pro Gly Cys Gln Ala Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro

[0127] 20 25 30

[0128] His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn

[0129] 35 40 45

[0130] Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr

[0131] 50 55 60

[0132] Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys

[0133] 65 70 75 80

[0134] Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro

[0135] 85 90 95

[0136] Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro

[0137] 100 105 110

[0138] Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro

[0139] 115 120 125

[0140] Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val

[0141] 130 135 140

[0142] Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His

[0143] 145 150 155 160

[0144] Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg

[0145] 165 170 175

[0146] Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln

[0147] 180 185 190

[0148] Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu

[0149] 195 200 205

[0150] Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr

[0151] 210 215 220

[0152] Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

[0153] 225 230 235 240

[0154] Val Ala Val Ala Gly Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu

[0155] 245 250 255

[0156] Ser Gly Leu Thr Trp Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
[0157] 260 265 270
[0158] <210> 6
[0159] <211> 251
[0160] <212> PRT
[0161] <213> 人工序列
[0162] <220>
[0163] <223> IL2Ralpha (人, 成熟形式)
[0164] <400> 6
[0165] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[0166] 1 5 10 15
[0167] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[0168] 20 25 30
[0169] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[0170] 35 40 45
[0171] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[0172] 50 55 60
[0173] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[0174] 65 70 75 80
[0175] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[0176] 85 90 95
[0177] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[0178] 100 105 110
[0179] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[0180] 115 120 125
[0181] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[0182] 130 135 140
[0183] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[0184] 145 150 155 160
[0185] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[0186] 165 170 175
[0187] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
[0188] 180 185 190
[0189] Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
[0190] 195 200 205
[0191] Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Val Ala Val Ala Gly
[0192] 210 215 220
[0193] Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp
[0194] 225 230 235 240

[0195] Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
[0196] 245 250
[0197] <210> 7
[0198] <211> 219
[0199] <212> PRT
[0200] <213> 人工序列
[0201] <220>
[0202] <223> IL2Ralpha (人, IL2Ralpha胞外结构域的成熟形式)
[0203] <400> 7
[0204] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[0205] 1 5 10 15
[0206] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[0207] 20 25 30
[0208] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[0209] 35 40 45
[0210] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[0211] 50 55 60
[0212] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[0213] 65 70 75 80
[0214] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[0215] 85 90 95
[0216] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[0217] 100 105 110
[0218] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[0219] 115 120 125
[0220] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[0221] 130 135 140
[0222] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[0223] 145 150 155 160
[0224] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[0225] 165 170 175
[0226] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
[0227] 180 185 190
[0228] Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
[0229] 195 200 205
[0230] Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[0231] 210 215
[0232] <210> 8
[0233] <211> 268

[0234] <212> PRT

[0235] <213> 人工序列

[0236] <220>

[0237] <223> IL2Ralpha (小鼠, 未加工形式)

[0238] <400> 8

[0239] Met Glu Pro Arg Leu Leu Met Leu Gly Phe Leu Ser Leu Thr Ile Val

[0240] 1 5 10 15

[0241] Pro Ser Cys Arg Ala Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro

[0242] 20 25 30

[0243] Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn

[0244] 35 40 45

[0245] Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met

[0246] 50 55 60

[0247] Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn

[0248] 65 70 75 80

[0249] Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln

[0250] 85 90 95

[0251] Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met

[0252] 100 105 110

[0253] His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys

[0254] 115 120 125

[0255] His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val

[0256] 130 135 140

[0257] His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala

[0258] 145 150 155 160

[0259] Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro

[0260] 165 170 175

[0261] Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser

[0262] 180 185 190

[0263] Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[0264] 195 200 205

[0265] Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala

[0266] 210 215 220

[0267] Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala

[0268] 225 230 235 240

[0269] Ser Cys Leu Phe Leu Leu Ile Ser Ile Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr

[0270] 245 250 255

[0271] Trp Gln His Arg Trp Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile

[0272] 260 265

[0273] <210> 9

[0274] <211> 247

[0275] <212> PRT

[0276] <213> 人工序列

[0277] <220>

[0278] <223> IL2Ralpha (小鼠, 成熟形式)

[0279] <400> 9

[0280] Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys

[0281] 1 5 10 15

[0282] Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[0283] 20 25 30

[0284] Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn

[0285] 35 40 45

[0286] Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser

[0287] 50 55 60

[0288] Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr

[0289] 65 70 75 80

[0290] Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu

[0291] 85 90 95

[0292] Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys

[0293] 100 105 110

[0294] Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile

[0295] 115 120 125

[0296] Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys

[0297] 130 135 140

[0298] Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val

[0299] 145 150 155 160

[0300] Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly

[0301] 165 170 175

[0302] Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr

[0303] 180 185 190

[0304] Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe

[0305] 195 200 205

[0306] Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala Ser Cys Leu Phe Leu

[0307] 210 215 220

[0308] Leu Ile Ser Ile Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp Gln His Arg Trp

[0309] 225 230 235 240

[0310] Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile

[0311] 245

[0312] <210> 10

[0313] <211> 219

[0314] <212> PRT

[0315] <213> 人工序列

[0316] <220>

[0317] <223> IL2Ralpha (小鼠, IL2Ralpha胞外结构域的成熟形式)

[0318] <400> 10

[0319] Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys

[0320] 1 5 10 15

[0321] Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[0322] 20 25 30

[0323] Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn

[0324] 35 40 45

[0325] Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ile Leu Arg Ala Ser

[0326] 50 55 60

[0327] His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys

[0328] 65 70 75 80

[0329] Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His

[0330] 85 90 95

[0331] Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His

[0332] 100 105 110

[0333] Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His

[0334] 115 120 125

[0335] Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile

[0336] 130 135 140

[0337] Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln

[0338] 145 150 155 160

[0339] Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu

[0340] 165 170 175

[0341] Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys

[0342] 180 185 190

[0343] Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met

[0344] 195 200 205

[0345] Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys

[0346] 210 215

[0347] <210> 11

[0348] <211> 166

[0349] <212> PRT

[0350] <213> 人工序列

[0351] <220>

[0352] <223> IL2Ralpha (人, IL2Ralpha胞外结构域的成熟形式) -

[0353] 全截短

[0354] <400> 11

[0355] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[0356] 1 5 10 15

[0357] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[0358] 20 25 30

[0359] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[0360] 35 40 45

[0361] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

[0362] 50 55 60

[0363] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

[0364] 65 70 75 80

[0365] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[0366] 85 90 95

[0367] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[0368] 100 105 110

[0369] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[0370] 115 120 125

[0371] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

[0372] 130 135 140

[0373] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

[0374] 145 150 155 160

[0375] Leu Ile Cys Thr Gly Glu

[0376] 165

[0377] <210> 12

[0378] <211> 191

[0379] <212> PRT

[0380] <213> 人工序列

[0381] <220>

[0382] <223> IL2Ralpha (人, IL2Ralpha胞外结构域的成熟形式) -

[0383] 半截短

[0384] <400> 12

[0385] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[0386] 1 5 10 15

[0387] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[0388] 20 25 30

[0389] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[0390] 35 40 45

[0391] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

[0392] 50 55 60

[0393] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

[0394] 65 70 75 80

[0395] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[0396] 85 90 95

[0397] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[0398] 100 105 110

[0399] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[0400] 115 120 125

[0401] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

[0402] 130 135 140

[0403] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

[0404] 145 150 155 160

[0405] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu

[0406] 165 170 175

[0407] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[0408] 180 185 190

[0409] <210> 13

[0410] <211> 364

[0411] <212> PRT

[0412] <213> 人工序列

[0413] <220>

[0414] <223> IL2(C145S)-CD25(22-240)

[0415] <400> 13

[0416] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[0417] 1 5 10 15

[0418] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[0419] 20 25 30

[0420] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[0421] 35 40 45

[0422] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[0423] 50 55 60

[0424] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[0425] 65 70 75 80

[0426] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[0427] 85 90 95

[0428] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[0429] 100 105 110

[0430] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

[0431] 115 120 125

[0432] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[0433] 130 135 140

[0434] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[0435] 145 150 155 160

[0436] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[0437] 165 170 175

[0438] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[0439] 180 185 190

[0440] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[0441] 195 200 205

[0442] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[0443] 210 215 220

[0444] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[0445] 225 230 235 240

[0446] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[0447] 245 250 255

[0448] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[0449] 260 265 270

[0450] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

[0451] 275 280 285

[0452] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[0453] 290 295 300

[0454] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu

[0455] 305 310 315 320

[0456] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[0457] 325 330 335

[0458] Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala

[0459] 340 345 350

[0460] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

[0461] 355 360

[0462] <210> 14

[0463] <211> 364

[0464] <212> PRT

[0465] <213> 人工序列

[0466] <220>

[0467] <223> IL2(C145A)-CD25(22-240)

[0468] <400> 14

[0469] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[0470] 1 5 10 15

[0471] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[0472] 20 25 30

[0473] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[0474] 35 40 45

[0475] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[0476] 50 55 60

[0477] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[0478] 65 70 75 80

[0479] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[0480] 85 90 95

[0481] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[0482] 100 105 110

[0483] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile

[0484] 115 120 125

[0485] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[0486] 130 135 140

[0487] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[0488] 145 150 155 160

[0489] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[0490] 165 170 175

[0491] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[0492] 180 185 190

[0493] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[0494] 195 200 205

[0495] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[0496] 210 215 220

[0497] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[0498] 225 230 235 240

[0499] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[0500] 245 250 255

[0501] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[0502] 260 265 270

[0503] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

[0504] 275 280 285

[0505] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[0506] 290 295 300

[0507] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[0508] 305 310 315 320
[0509] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[0510] 325 330 335
[0511] Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
[0512] 340 345 350
[0513] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[0514] 355 360
[0515] <210> 15
[0516] <211> 364
[0517] <212> PRT
[0518] <213> 人工序列
[0519] <220>
[0520] <223> IL2(C145V)-CD25(22-240)
[0521] <400> 15
[0522] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[0523] 1 5 10 15
[0524] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[0525] 20 25 30
[0526] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[0527] 35 40 45
[0528] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[0529] 50 55 60
[0530] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[0531] 65 70 75 80
[0532] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[0533] 85 90 95
[0534] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[0535] 100 105 110
[0536] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Val Gln Ser Ile
[0537] 115 120 125
[0538] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[0539] 130 135 140
[0540] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[0541] 145 150 155 160
[0542] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[0543] 165 170 175
[0544] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[0545] 180 185 190

[0546] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[0547] 195 200 205
[0548] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[0549] 210 215 220
[0550] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[0551] 225 230 235 240
[0552] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[0553] 245 250 255
[0554] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[0555] 260 265 270
[0556] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[0557] 275 280 285
[0558] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[0559] 290 295 300
[0560] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[0561] 305 310 315 320
[0562] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[0563] 325 330 335
[0564] Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
[0565] 340 345 350
[0566] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[0567] 355 360
[0568] <210> 16
[0569] <211> 336
[0570] <212> PRT
[0571] <213> 人工序列
[0572] <220>
[0573] <223> IL2-CD25(22-212)
[0574] <400> 16
[0575] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[0576] 1 5 10 15
[0577] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[0578] 20 25 30
[0579] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[0580] 35 40 45
[0581] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[0582] 50 55 60
[0583] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[0584] 65 70 75 80

[0585] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[0586] 85 90 95
[0587] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[0588] 100 105 110
[0589] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[0590] 115 120 125
[0591] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[0592] 130 135 140
[0593] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[0594] 145 150 155 160
[0595] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[0596] 165 170 175
[0597] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[0598] 180 185 190
[0599] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[0600] 195 200 205
[0601] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[0602] 210 215 220
[0603] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[0604] 225 230 235 240
[0605] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[0606] 245 250 255
[0607] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[0608] 260 265 270
[0609] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[0610] 275 280 285
[0611] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[0612] 290 295 300
[0613] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[0614] 305 310 315 320
[0615] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[0616] 325 330 335
[0617] <210> 17
[0618] <211> 311
[0619] <212> PRT
[0620] <213> 人工序列
[0621] <220>
[0622] <223> IL2-CD25(22-187)
[0623] <400> 17

[0624] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[0625] 1 5 10 15
[0626] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[0627] 20 25 30
[0628] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[0629] 35 40 45
[0630] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[0631] 50 55 60
[0632] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[0633] 65 70 75 80
[0634] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[0635] 85 90 95
[0636] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[0637] 100 105 110
[0638] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[0639] 115 120 125
[0640] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[0641] 130 135 140
[0642] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[0643] 145 150 155 160
[0644] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[0645] 165 170 175
[0646] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[0647] 180 185 190
[0648] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[0649] 195 200 205
[0650] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[0651] 210 215 220
[0652] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[0653] 225 230 235 240
[0654] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[0655] 245 250 255
[0656] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[0657] 260 265 270
[0658] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[0659] 275 280 285
[0660] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[0661] 290 295 300
[0662] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu

[0663] 305 310

[0664] <210> 18

[0665] <211> 364

[0666] <212> PRT

[0667] <213> 人工序列

[0668] <220>

[0669] <223> IL2(C145A)-CD25(C213S, 22-240)

[0670] <400> 18

[0671] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[0672] 1 5 10 15

[0673] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[0674] 20 25 30

[0675] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[0676] 35 40 45

[0677] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[0678] 50 55 60

[0679] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[0680] 65 70 75 80

[0681] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[0682] 85 90 95

[0683] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[0684] 100 105 110

[0685] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile

[0686] 115 120 125

[0687] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[0688] 130 135 140

[0689] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[0690] 145 150 155 160

[0691] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[0692] 165 170 175

[0693] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[0694] 180 185 190

[0695] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[0696] 195 200 205

[0697] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[0698] 210 215 220

[0699] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[0700] 225 230 235 240

[0701] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[0702] 245 250 255

[0703] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[0704] 260 265 270

[0705] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

[0706] 275 280 285

[0707] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[0708] 290 295 300

[0709] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu

[0710] 305 310 315 320

[0711] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[0712] 325 330 335

[0713] Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala

[0714] 340 345 350

[0715] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

[0716] 355 360

[0717] <210> 19

[0718] <211> 911

[0719] <212> PRT

[0720] <213> 人工序列

[0721] <220>

[0722] <223> HSA-(G4S)3- IL2-CD25(22-187)

[0723] <400> 19

[0724] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

[0725] 1 5 10 15

[0726] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

[0727] 20 25 30

[0728] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

[0729] 35 40 45

[0730] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

[0731] 50 55 60

[0732] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

[0733] 65 70 75 80

[0734] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

[0735] 85 90 95

[0736] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

[0737] 100 105 110

[0738] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

[0739] 115 120 125

[0740] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[0741] 130 135 140

[0742] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

[0743] 145 150 155 160

[0744] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

[0745] 165 170 175

[0746] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

[0747] 180 185 190

[0748] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[0749] 195 200 205

[0750] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[0751] 210 215 220

[0752] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[0753] 225 230 235 240

[0754] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[0755] 245 250 255

[0756] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

[0757] 260 265 270

[0758] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

[0759] 275 280 285

[0760] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

[0761] 290 295 300

[0762] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[0763] 305 310 315 320

[0764] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

[0765] 325 330 335

[0766] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

[0767] 340 345 350

[0768] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

[0769] 355 360 365

[0770] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

[0771] 370 375 380

[0772] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

[0773] 385 390 395 400

[0774] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

[0775] 405 410 415

[0776] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

[0777] 420 425 430

[0778] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

[0779] 435 440 445

[0780] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[0781] 450 455 460
[0782] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[0783] 465 470 475 480
[0784] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[0785] 485 490 495
[0786] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[0787] 500 505 510
[0788] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[0789] 515 520 525
[0790] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[0791] 530 535 540
[0792] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[0793] 545 550 555 560
[0794] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[0795] 565 570 575
[0796] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[0797] 580 585 590
[0798] Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys
[0799] 595 600 605
[0800] Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile
[0801] 610 615 620
[0802] Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu
[0803] 625 630 635 640
[0804] Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu
[0805] 645 650 655
[0806] Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu
[0807] 660 665 670
[0808] Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn
[0809] 675 680 685
[0810] Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met
[0811] 690 695 700
[0812] Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg
[0813] 705 710 715 720
[0814] Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly
[0815] 725 730 735
[0816] Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
[0817] 740 745 750
[0818] Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly

[0819] 755 760 765

[0820] Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser

[0821] 770 775 780

[0822] Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp

[0823] 785 790 795 800

[0824] Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys

[0825] 805 810 815

[0826] Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu

[0827] 820 825 830

[0828] Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His

[0829] 835 840 845

[0830] Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr

[0831] 850 855 860

[0832] His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr

[0833] 865 870 875 880

[0834] Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His

[0835] 885 890 895

[0836] Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu

[0837] 900 905 910

[0838] <210> 20

[0839] <211> 923

[0840] <212> PRT

[0841] <213> 人工序列

[0842] <220>

[0843] <223> IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA

[0844] <400> 20

[0845] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[0846] 1 5 10 15

[0847] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[0848] 20 25 30

[0849] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[0850] 35 40 45

[0851] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[0852] 50 55 60

[0853] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[0854] 65 70 75 80

[0855] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[0856] 85 90 95

[0857] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[0858] 100 105 110

[0859] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile

[0860] 115 120 125

[0861] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[0862] 130 135 140

[0863] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[0864] 145 150 155 160

[0865] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[0866] 165 170 175

[0867] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[0868] 180 185 190

[0869] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[0870] 195 200 205

[0871] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[0872] 210 215 220

[0873] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[0874] 225 230 235 240

[0875] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[0876] 245 250 255

[0877] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[0878] 260 265 270

[0879] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

[0880] 275 280 285

[0881] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[0882] 290 295 300

[0883] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu

[0884] 305 310 315 320

[0885] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[0886] 325 330 335

[0887] Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu

[0888] 340 345 350

[0889] Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr

[0890] 355 360 365

[0891] Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val

[0892] 370 375 380

[0893] Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys

[0894] 385 390 395 400

[0895] Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala

[0896] 405 410 415

[0897] Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln
[0898] 420 425 430
[0899] Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro
[0900] 435 440 445
[0901] Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala
[0902] 450 455 460
[0903] Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile
[0904] 465 470 475 480
[0905] Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala
[0906] 485 490 495
[0907] Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys
[0908] 500 505 510
[0909] Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
[0910] 515 520 525
[0911] Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe
[0912] 530 535 540
[0913] Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg
[0914] 545 550 555 560
[0915] Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu
[0916] 565 570 575
[0917] Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala
[0918] 580 585 590
[0919] Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser
[0920] 595 600 605
[0921] Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
[0922] 610 615 620
[0923] Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu
[0924] 625 630 635 640
[0925] Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn
[0926] 645 650 655
[0927] Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr
[0928] 660 665 670
[0929] Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala
[0930] 675 680 685
[0931] Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro
[0932] 690 695 700
[0933] His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu
[0934] 705 710 715 720
[0935] Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu

[0936] 725 730 735

[0937] Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys

[0938] 740 745 750

[0939] Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu

[0940] 755 760 765

[0941] Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met

[0942] 770 775 780

[0943] Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val

[0944] 785 790 795 800

[0945] Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr

[0946] 805 810 815

[0947] Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp

[0948] 820 825 830

[0949] Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His

[0950] 835 840 845

[0951] Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln

[0952] 850 855 860

[0953] Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu

[0954] 865 870 875 880

[0955] Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys

[0956] 885 890 895

[0957] Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys

[0958] 900 905 910

[0959] Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

[0960] 915 920

[0961] <210> 21

[0962] <211> 319

[0963] <212> PRT

[0964] <213> 人工序列

[0965] <220>

[0966] <223> IL2(C145A)-CD25(22-192)-GGC

[0967] <400> 21

[0968] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[0969] 1 5 10 15

[0970] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[0971] 20 25 30

[0972] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[0973] 35 40 45

[0974] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[0975] 50 55 60

[0976] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[0977] 65 70 75 80

[0978] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[0979] 85 90 95

[0980] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[0981] 100 105 110

[0982] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile

[0983] 115 120 125

[0984] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[0985] 130 135 140

[0986] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[0987] 145 150 155 160

[0988] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[0989] 165 170 175

[0990] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[0991] 180 185 190

[0992] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[0993] 195 200 205

[0994] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[0995] 210 215 220

[0996] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[0997] 225 230 235 240

[0998] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[0999] 245 250 255

[1000] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[1001] 260 265 270

[1002] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

[1003] 275 280 285

[1004] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[1005] 290 295 300

[1006] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Gly Gly Cys

[1007] 305 310 315

[1008] <210> 22

[1009] <211> 337

[1010] <212> PRT

[1011] <213> 人工序列

[1012] <220>

[1013] <223> IL2(C145A)-CD25(22-213)

[1014] <400> 22

[1015] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1016] 1 5 10 15
[1017] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1018] 20 25 30
[1019] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1020] 35 40 45
[1021] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1022] 50 55 60
[1023] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1024] 65 70 75 80
[1025] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[1026] 85 90 95
[1027] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1028] 100 105 110
[1029] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
[1030] 115 120 125
[1031] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1032] 130 135 140
[1033] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[1034] 145 150 155 160
[1035] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[1036] 165 170 175
[1037] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[1038] 180 185 190
[1039] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[1040] 195 200 205
[1041] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[1042] 210 215 220
[1043] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[1044] 225 230 235 240
[1045] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[1046] 245 250 255
[1047] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[1048] 260 265 270
[1049] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1050] 275 280 285
[1051] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1052] 290 295 300

[1053] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[1054] 305 310 315 320
[1055] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[1056] 325 330 335
[1057] Cys
[1058] <210> 23
[1059] <211> 311
[1060] <212> PRT
[1061] <213> 人工序列
[1062] <220>
[1063] <223> IL2(C145A)- CD25(22-187, N70C)
[1064] <400> 23
[1065] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1066] 1 5 10 15
[1067] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1068] 20 25 30
[1069] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1070] 35 40 45
[1071] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1072] 50 55 60
[1073] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1074] 65 70 75 80
[1075] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[1076] 85 90 95
[1077] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1078] 100 105 110
[1079] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
[1080] 115 120 125
[1081] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1082] 130 135 140
[1083] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[1084] 145 150 155 160
[1085] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[1086] 165 170 175
[1087] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[1088] 180 185 190
[1089] Gly Cys Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[1090] 195 200 205
[1091] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[1092] 210 215 220
[1093] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[1094] 225 230 235 240
[1095] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[1096] 245 250 255
[1097] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[1098] 260 265 270
[1099] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1100] 275 280 285
[1101] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1102] 290 295 300
[1103] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[1104] 305 310
[1105] <210> 24
[1106] <211> 311
[1107] <212> PRT
[1108] <213> 人工序列
[1109] <220>
[1110] <223> IL2(C145A)-CD25(22-187, N89C)
[1111] <400> 24
[1112] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1113] 1 5 10 15
[1114] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1115] 20 25 30
[1116] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1117] 35 40 45
[1118] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1119] 50 55 60
[1120] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1121] 65 70 75 80
[1122] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[1123] 85 90 95
[1124] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1125] 100 105 110
[1126] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
[1127] 115 120 125
[1128] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1129] 130 135 140
[1130] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[1131] 145 150 155 160
[1132] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[1133] 165 170 175
[1134] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[1135] 180 185 190
[1136] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[1137] 195 200 205
[1138] Ser Ala Thr Arg Cys Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[1139] 210 215 220
[1140] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[1141] 225 230 235 240
[1142] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[1143] 245 250 255
[1144] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[1145] 260 265 270
[1146] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1147] 275 280 285
[1148] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1149] 290 295 300
[1150] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[1151] 305 310
[1152] <210> 25
[1153] <211> 312
[1154] <212> PRT
[1155] <213> 人工序列
[1156] <220>
[1157] <223> IL2(C145A)-CD25(22-187)-C
[1158] <400> 25
[1159] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1160] 1 5 10 15
[1161] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1162] 20 25 30
[1163] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1164] 35 40 45
[1165] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1166] 50 55 60
[1167] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1168] 65 70 75 80
[1169] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[1170] 85 90 95
[1171] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1172] 100 105 110
[1173] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
[1174] 115 120 125
[1175] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1176] 130 135 140
[1177] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[1178] 145 150 155 160
[1179] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[1180] 165 170 175
[1181] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[1182] 180 185 190
[1183] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[1184] 195 200 205
[1185] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[1186] 210 215 220
[1187] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[1188] 225 230 235 240
[1189] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[1190] 245 250 255
[1191] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[1192] 260 265 270
[1193] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1194] 275 280 285
[1195] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1196] 290 295 300
[1197] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Cys
[1198] 305 310
[1199] <210> 26
[1200] <211> 539
[1201] <212> PRT
[1202] <213> 人工序列
[1203] <220>
[1204] <223> 人 Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G
[1205] <400> 26
[1206] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[1207] 1 5 10 15
[1208] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[1209] 20 25 30
[1210] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[1211] 35 40 45
[1212] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[1213] 50 55 60
[1214] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[1215] 65 70 75 80
[1216] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[1217] 85 90 95
[1218] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
[1219] 100 105 110
[1220] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[1221] 115 120 125
[1222] Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[1223] 130 135 140
[1224] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[1225] 145 150 155 160
[1226] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[1227] 165 170 175
[1228] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
[1229] 180 185 190
[1230] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[1231] 195 200 205
[1232] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[1233] 210 215 220
[1234] Pro Gly Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln
[1235] 225 230 235 240
[1236] Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn
[1237] 245 250 255
[1238] Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr
[1239] 260 265 270
[1240] Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu
[1241] 275 280 285
[1242] Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn
[1243] 290 295 300
[1244] Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val
[1245] 305 310 315 320
[1246] Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp
[1247] 325 330 335

[1248] Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser
[1249] 340 345 350
[1250] Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
[1251] 355 360 365
[1252] Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His
[1253] 370 375 380
[1254] Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys
[1255] 385 390 395 400
[1256] Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met
[1257] 405 410 415
[1258] Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln
[1259] 420 425 430
[1260] Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln
[1261] 435 440 445
[1262] Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met
[1263] 450 455 460
[1264] Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro
[1265] 465 470 475 480
[1266] Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly
[1267] 485 490 495
[1268] Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg
[1269] 500 505 510
[1270] Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp
[1271] 515 520 525
[1272] Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Gly
[1273] 530 535
[1274] <210> 27
[1275] <211> 541
[1276] <212> PRT
[1277] <213> 人工序列
[1278] <220>
[1279] <223> IL2(C145S)-CD25(22-187)- HuFc1.1(f)-AZ1
[1280] <400> 27
[1281] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1282] 1 5 10 15
[1283] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1284] 20 25 30
[1285] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1286] 35 40 45

[1287] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1288] 50 55 60
[1289] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1290] 65 70 75 80
[1291] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[1292] 85 90 95
[1293] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1294] 100 105 110
[1295] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[1296] 115 120 125
[1297] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1298] 130 135 140
[1299] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[1300] 145 150 155 160
[1301] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[1302] 165 170 175
[1303] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[1304] 180 185 190
[1305] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[1306] 195 200 205
[1307] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[1308] 210 215 220
[1309] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[1310] 225 230 235 240
[1311] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[1312] 245 250 255
[1313] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[1314] 260 265 270
[1315] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1316] 275 280 285
[1317] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1318] 290 295 300
[1319] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
[1320] 305 310 315 320
[1321] Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
[1322] 325 330 335
[1323] Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
[1324] 340 345 350
[1325] Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

[1326] 355 360 365
[1327] Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
[1328] 370 375 380
[1329] Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
[1330] 385 390 395 400
[1331] Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
[1332] 405 410 415
[1333] Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
[1334] 420 425 430
[1335] Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro
[1336] 435 440 445
[1337] Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
[1338] 450 455 460
[1339] Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
[1340] 465 470 475 480
[1341] Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
[1342] 485 490 495
[1343] Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
[1344] 500 505 510
[1345] Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
[1346] 515 520 525
[1347] Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1348] 530 535 540
[1349] <210> 28
[1350] <400> 28
[1351] 000
[1352] <210> 29
[1353] <211> 311
[1354] <212> PRT
[1355] <213> 人工序列
[1356] <220>
[1357] <223> IL2-C145S-CD25(22-187)
[1358] <400> 29
[1359] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1360] 1 5 10 15
[1361] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1362] 20 25 30
[1363] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1364] 35 40 45

[1365] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1366] 50 55 60
[1367] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1368] 65 70 75 80
[1369] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[1370] 85 90 95
[1371] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1372] 100 105 110
[1373] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[1374] 115 120 125
[1375] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1376] 130 135 140
[1377] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[1378] 145 150 155 160
[1379] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[1380] 165 170 175
[1381] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[1382] 180 185 190
[1383] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[1384] 195 200 205
[1385] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[1386] 210 215 220
[1387] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[1388] 225 230 235 240
[1389] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[1390] 245 250 255
[1391] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[1392] 260 265 270
[1393] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1394] 275 280 285
[1395] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1396] 290 295 300
[1397] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[1398] 305 310
[1399] <210> 30
[1400] <211> 311
[1401] <212> PRT
[1402] <213> 人工序列
[1403] <220>

[1404] <223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)

[1405] <400> 30

[1406] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[1407] 1 5 10 15

[1408] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[1409] 20 25 30

[1410] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[1411] 35 40 45

[1412] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[1413] 50 55 60

[1414] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[1415] 65 70 75 80

[1416] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[1417] 85 90 95

[1418] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[1419] 100 105 110

[1420] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

[1421] 115 120 125

[1422] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[1423] 130 135 140

[1424] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[1425] 145 150 155 160

[1426] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[1427] 165 170 175

[1428] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[1429] 180 185 190

[1430] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[1431] 195 200 205

[1432] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[1433] 210 215 220

[1434] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[1435] 225 230 235 240

[1436] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[1437] 245 250 255

[1438] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[1439] 260 265 270

[1440] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

[1441] 275 280 285

[1442] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[1443] 290 295 300

[1444] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu

[1445] 305 310

[1446] <210> 31

[1447] <211> 364

[1448] <212> PRT

[1449] <213> 人工序列

[1450] <220>

[1451] <223> IL2-CD25(22-240)-C213S

[1452] <400> 31

[1453] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[1454] 1 5 10 15

[1455] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[1456] 20 25 30

[1457] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[1458] 35 40 45

[1459] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[1460] 50 55 60

[1461] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[1462] 65 70 75 80

[1463] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[1464] 85 90 95

[1465] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[1466] 100 105 110

[1467] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

[1468] 115 120 125

[1469] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[1470] 130 135 140

[1471] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[1472] 145 150 155 160

[1473] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[1474] 165 170 175

[1475] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[1476] 180 185 190

[1477] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[1478] 195 200 205

[1479] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[1480] 210 215 220

[1481] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[1482] 225 230 235 240
[1483] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[1484] 245 250 255
[1485] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[1486] 260 265 270
[1487] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1488] 275 280 285
[1489] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1490] 290 295 300
[1491] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[1492] 305 310 315 320
[1493] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[1494] 325 330 335
[1495] Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
[1496] 340 345 350
[1497] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[1498] 355 360
[1499] <210> 32
[1500] <211> 364
[1501] <212> PRT
[1502] <213> 人工序列
[1503] <220>
[1504] <223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S
[1505] <400> 32
[1506] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1507] 1 5 10 15
[1508] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1509] 20 25 30
[1510] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1511] 35 40 45
[1512] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1513] 50 55 60
[1514] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1515] 65 70 75 80
[1516] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[1517] 85 90 95
[1518] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1519] 100 105 110
[1520] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

[1521] 115 120 125

[1522] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[1523] 130 135 140

[1524] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[1525] 145 150 155 160

[1526] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[1527] 165 170 175

[1528] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[1529] 180 185 190

[1530] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[1531] 195 200 205

[1532] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[1533] 210 215 220

[1534] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[1535] 225 230 235 240

[1536] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[1537] 245 250 255

[1538] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[1539] 260 265 270

[1540] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

[1541] 275 280 285

[1542] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[1543] 290 295 300

[1544] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu

[1545] 305 310 315 320

[1546] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[1547] 325 330 335

[1548] Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala

[1549] 340 345 350

[1550] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

[1551] 355 360

[1552] <210> 33

[1553] <211> 331

[1554] <212> PRT

[1555] <213> 人工序列

[1556] <220>

[1557] <223> 天然SigPep-IL2-CD25(22-187)

[1558] <400> 33

[1559] Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

[1560] 1 5 10 15
[1561] Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
[1562] 20 25 30
[1563] Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
[1564] 35 40 45
[1565] Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
[1566] 50 55 60
[1567] Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
[1568] 65 70 75 80
[1569] Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
[1570] 85 90 95
[1571] Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
[1572] 100 105 110
[1573] Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
[1574] 115 120 125
[1575] Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
[1576] 130 135 140
[1577] Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1578] 145 150 155 160
[1579] Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
[1580] 165 170 175
[1581] His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
[1582] 180 185 190
[1583] Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
[1584] 195 200 205
[1585] Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
[1586] 210 215 220
[1587] Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
[1588] 225 230 235 240
[1589] Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
[1590] 245 250 255
[1591] Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
[1592] 260 265 270
[1593] Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
[1594] 275 280 285
[1595] Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
[1596] 290 295 300
[1597] Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
[1598] 305 310 315 320

[1599] Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[1600] 325 330
[1601] <210> 34
[1602] <211> 358
[1603] <212> PRT
[1604] <213> 人工序列
[1605] <220>
[1606] <223> 天然SigPep-HuIL2-CD25(22-212)-PP
[1607] <400> 34
[1608] Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
[1609] 1 5 10 15
[1610] Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
[1611] 20 25 30
[1612] Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
[1613] 35 40 45
[1614] Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
[1615] 50 55 60
[1616] Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
[1617] 65 70 75 80
[1618] Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
[1619] 85 90 95
[1620] Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
[1621] 100 105 110
[1622] Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
[1623] 115 120 125
[1624] Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
[1625] 130 135 140
[1626] Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1627] 145 150 155 160
[1628] Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
[1629] 165 170 175
[1630] His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
[1631] 180 185 190
[1632] Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
[1633] 195 200 205
[1634] Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
[1635] 210 215 220
[1636] Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
[1637] 225 230 235 240

[1638] Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
[1639] 245 250 255
[1640] Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
[1641] 260 265 270
[1642] Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
[1643] 275 280 285
[1644] Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
[1645] 290 295 300
[1646] Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
[1647] 305 310 315 320
[1648] Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
[1649] 325 330 335
[1650] Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
[1651] 340 345 350
[1652] Ser Glu Thr Ser Pro Pro
[1653] 355
[1654] <210> 35
[1655] <211> 365
[1656] <212> PRT
[1657] <213> 人工序列
[1658] <220>
[1659] <223> M-IL2(C145S)-CD25(C213S)
[1660] <400> 35
[1661] Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
[1662] 1 5 10 15
[1663] His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
[1664] 20 25 30
[1665] Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
[1666] 35 40 45
[1667] Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
[1668] 50 55 60
[1669] Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
[1670] 65 70 75 80
[1671] Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
[1672] 85 90 95
[1673] Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
[1674] 100 105 110
[1675] Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser
[1676] 115 120 125

[1677] Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1678] 130 135 140
[1679] Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
[1680] 145 150 155 160
[1681] Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
[1682] 165 170 175
[1683] Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
[1684] 180 185 190
[1685] Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
[1686] 195 200 205
[1687] Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
[1688] 210 215 220
[1689] Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
[1690] 225 230 235 240
[1691] Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
[1692] 245 250 255
[1693] Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
[1694] 260 265 270
[1695] Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
[1696] 275 280 285
[1697] Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
[1698] 290 295 300
[1699] Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
[1700] 305 310 315 320
[1701] Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
[1702] 325 330 335
[1703] Ser Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala
[1704] 340 345 350
[1705] Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[1706] 355 360 365
[1707] <210> 36
[1708] <211> 365
[1709] <212> PRT
[1710] <213> 人工序列
[1711] <220>
[1712] <223> M-IL2(C145S)-CD25(C213S)
[1713] <400> 36
[1714] Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
[1715] 1 5 10 15

[1716] His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
[1717] 20 25 30
[1718] Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
[1719] 35 40 45
[1720] Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
[1721] 50 55 60
[1722] Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
[1723] 65 70 75 80
[1724] Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
[1725] 85 90 95
[1726] Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
[1727] 100 105 110
[1728] Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser
[1729] 115 120 125
[1730] Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1731] 130 135 140
[1732] Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
[1733] 145 150 155 160
[1734] Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
[1735] 165 170 175
[1736] Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
[1737] 180 185 190
[1738] Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
[1739] 195 200 205
[1740] Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
[1741] 210 215 220
[1742] Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
[1743] 225 230 235 240
[1744] Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
[1745] 245 250 255
[1746] Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
[1747] 260 265 270
[1748] Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
[1749] 275 280 285
[1750] Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
[1751] 290 295 300
[1752] Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
[1753] 305 310 315 320
[1754] Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr

[1755] 325 330 335
[1756] Ser Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala
[1757] 340 345 350
[1758] Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[1759] 355 360 365
[1760] <210> 37
[1761] <211> 337
[1762] <212> PRT
[1763] <213> 人工序列
[1764] <220>
[1765] <223> M-IL2-C145A-CD25(22-212)
[1766] <400> 37
[1767] Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
[1768] 1 5 10 15
[1769] His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
[1770] 20 25 30
[1771] Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
[1772] 35 40 45
[1773] Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
[1774] 50 55 60
[1775] Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
[1776] 65 70 75 80
[1777] Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
[1778] 85 90 95
[1779] Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
[1780] 100 105 110
[1781] Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
[1782] 115 120 125
[1783] Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1784] 130 135 140
[1785] Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
[1786] 145 150 155 160
[1787] Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
[1788] 165 170 175
[1789] Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
[1790] 180 185 190
[1791] Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
[1792] 195 200 205
[1793] Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu

[1794] 210 215 220
[1795] Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
[1796] 225 230 235 240
[1797] Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
[1798] 245 250 255
[1799] Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
[1800] 260 265 270
[1801] Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
[1802] 275 280 285
[1803] Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
[1804] 290 295 300
[1805] Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
[1806] 305 310 315 320
[1807] Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
[1808] 325 330 335
[1809] Ser
[1810] <210> 38
[1811] <211> 337
[1812] <212> PRT
[1813] <213> 人工序列
[1814] <220>
[1815] <223> M-IL2-C145A-CD25(22-212)
[1816] <400> 38
[1817] Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
[1818] 1 5 10 15
[1819] His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
[1820] 20 25 30
[1821] Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
[1822] 35 40 45
[1823] Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
[1824] 50 55 60
[1825] Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
[1826] 65 70 75 80
[1827] Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
[1828] 85 90 95
[1829] Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
[1830] 100 105 110
[1831] Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
[1832] 115 120 125

[1833] Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1834] 130 135 140
[1835] Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
[1836] 145 150 155 160
[1837] Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
[1838] 165 170 175
[1839] Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
[1840] 180 185 190
[1841] Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
[1842] 195 200 205
[1843] Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
[1844] 210 215 220
[1845] Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
[1846] 225 230 235 240
[1847] Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
[1848] 245 250 255
[1849] Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
[1850] 260 265 270
[1851] Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
[1852] 275 280 285
[1853] Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
[1854] 290 295 300
[1855] Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
[1856] 305 310 315 320
[1857] Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
[1858] 325 330 335
[1859] Ser
[1860] <210> 39
[1861] <211> 335
[1862] <212> PRT
[1863] <213> 人工序列
[1864] <220>
[1865] <223> Del-A21-IL2-CD(22-212)
[1866] <400> 39
[1867] Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
[1868] 1 5 10 15
[1869] Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
[1870] 20 25 30
[1871] Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys

[1872] 35 40 45

[1873] Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

[1874] 50 55 60

[1875] Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

[1876] 65 70 75 80

[1877] Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

[1878] 85 90 95

[1879] Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

[1880] 100 105 110

[1881] Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile

[1882] 115 120 125

[1883] Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

[1884] 130 135 140

[1885] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[1886] 145 150 155 160

[1887] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[1888] 165 170 175

[1889] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[1890] 180 185 190

[1891] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

[1892] 195 200 205

[1893] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

[1894] 210 215 220

[1895] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[1896] 225 230 235 240

[1897] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[1898] 245 250 255

[1899] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[1900] 260 265 270

[1901] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

[1902] 275 280 285

[1903] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

[1904] 290 295 300

[1905] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu

[1906] 305 310 315 320

[1907] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[1908] 325 330 335

[1909] <210> 40

[1910] <211> 336

[1911] <212> PRT

[1912] <213> 人工序列

[1913] <220>

[1914] <223> IL2-T23A-L2-CD25(22-212)

[1915] <400> 40

[1916] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[1917] 1 5 10 15

[1918] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[1919] 20 25 30

[1920] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[1921] 35 40 45

[1922] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[1923] 50 55 60

[1924] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[1925] 65 70 75 80

[1926] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[1927] 85 90 95

[1928] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[1929] 100 105 110

[1930] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

[1931] 115 120 125

[1932] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly

[1933] 130 135 140

[1934] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[1935] 145 150 155 160

[1936] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[1937] 165 170 175

[1938] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[1939] 180 185 190

[1940] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[1941] 195 200 205

[1942] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[1943] 210 215 220

[1944] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[1945] 225 230 235 240

[1946] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[1947] 245 250 255

[1948] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[1949] 260 265 270

[1950] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[1951] 275 280 285
[1952] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[1953] 290 295 300
[1954] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[1955] 305 310 315 320
[1956] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[1957] 325 330 335
[1958] <210> 41
[1959] <211> 344
[1960] <212> PRT
[1961] <213> 人工序列
[1962] <220>
[1963] <223> IL2-T3A-L3-CD(22-212)
[1964] <400> 41
[1965] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[1966] 1 5 10 15
[1967] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[1968] 20 25 30
[1969] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[1970] 35 40 45
[1971] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[1972] 50 55 60
[1973] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[1974] 65 70 75 80
[1975] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[1976] 85 90 95
[1977] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[1978] 100 105 110
[1979] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[1980] 115 120 125
[1981] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1982] 130 135 140
[1983] Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
[1984] 145 150 155 160
[1985] Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
[1986] 165 170 175
[1987] Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
[1988] 180 185 190

[1989] Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
[1990] 195 200 205
[1991] Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
[1992] 210 215 220
[1993] Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
[1994] 225 230 235 240
[1995] Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
[1996] 245 250 255
[1997] Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
[1998] 260 265 270
[1999] His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
[2000] 275 280 285
[2001] Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
[2002] 290 295 300
[2003] Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
[2004] 305 310 315 320
[2005] Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
[2006] 325 330 335
[2007] Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2008] 340
[2009] <210> 42
[2010] <400> 42
[2011] 000
[2012] <210> 43
[2013] <211> 311
[2014] <212> PRT
[2015] <213> 人工序列
[2016] <220>
[2017] <223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)
[2018] <400> 43
[2019] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2020] 1 5 10 15
[2021] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2022] 20 25 30
[2023] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2024] 35 40 45
[2025] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2026] 50 55 60
[2027] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[2028] 65 70 75 80
[2029] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2030] 85 90 95
[2031] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2032] 100 105 110
[2033] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2034] 115 120 125
[2035] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2036] 130 135 140
[2037] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2038] 145 150 155 160
[2039] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2040] 165 170 175
[2041] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2042] 180 185 190
[2043] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2044] 195 200 205
[2045] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2046] 210 215 220
[2047] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2048] 225 230 235 240
[2049] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2050] 245 250 255
[2051] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2052] 260 265 270
[2053] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2054] 275 280 285
[2055] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2056] 290 295 300
[2057] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2058] 305 310
[2059] <210> 44
[2060] <211> 364
[2061] <212> PRT
[2062] <213> 人工序列
[2063] <220>
[2064] <223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S
[2065] <400> 44
[2066] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[2067] 1 5 10 15
[2068] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2069] 20 25 30
[2070] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2071] 35 40 45
[2072] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2073] 50 55 60
[2074] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2075] 65 70 75 80
[2076] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2077] 85 90 95
[2078] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2079] 100 105 110
[2080] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2081] 115 120 125
[2082] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2083] 130 135 140
[2084] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2085] 145 150 155 160
[2086] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2087] 165 170 175
[2088] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2089] 180 185 190
[2090] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2091] 195 200 205
[2092] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2093] 210 215 220
[2094] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2095] 225 230 235 240
[2096] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2097] 245 250 255
[2098] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2099] 260 265 270
[2100] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2101] 275 280 285
[2102] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2103] 290 295 300
[2104] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2105] 305 310 315 320

[2106] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2107] 325 330 335
[2108] Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
[2109] 340 345 350
[2110] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[2111] 355 360
[2112] <210> 45
[2113] <211> 311
[2114] <212> PRT
[2115] <213> 人工序列
[2116] <220>
[2117] <223> IL2-T23A-CD25(22-187)
[2118] <400> 45
[2119] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2120] 1 5 10 15
[2121] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2122] 20 25 30
[2123] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2124] 35 40 45
[2125] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2126] 50 55 60
[2127] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2128] 65 70 75 80
[2129] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2130] 85 90 95
[2131] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2132] 100 105 110
[2133] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2134] 115 120 125
[2135] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2136] 130 135 140
[2137] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2138] 145 150 155 160
[2139] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2140] 165 170 175
[2141] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2142] 180 185 190
[2143] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2144] 195 200 205

[2145] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2146] 210 215 220
[2147] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2148] 225 230 235 240
[2149] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2150] 245 250 255
[2151] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2152] 260 265 270
[2153] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2154] 275 280 285
[2155] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2156] 290 295 300
[2157] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2158] 305 310
[2159] <210> 46
[2160] <211> 336
[2161] <212> PRT
[2162] <213> 人工序列
[2163] <220>
[2164] <223> IL2-T23A-CD25(22-212)-T106A
[2165] <400> 46
[2166] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2167] 1 5 10 15
[2168] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2169] 20 25 30
[2170] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2171] 35 40 45
[2172] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2173] 50 55 60
[2174] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2175] 65 70 75 80
[2176] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2177] 85 90 95
[2178] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2179] 100 105 110
[2180] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2181] 115 120 125
[2182] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2183] 130 135 140

[2184] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2185] 145 150 155 160
[2186] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2187] 165 170 175
[2188] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2189] 180 185 190
[2190] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2191] 195 200 205
[2192] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2193] 210 215 220
[2194] Gln Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2195] 225 230 235 240
[2196] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2197] 245 250 255
[2198] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2199] 260 265 270
[2200] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2201] 275 280 285
[2202] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2203] 290 295 300
[2204] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2205] 305 310 315 320
[2206] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2207] 325 330 335
[2208] <210> 47
[2209] <211> 336
[2210] <212> PRT
[2211] <213> 人工序列
[2212] <220>
[2213] <223> IL2-T23A-CD25(22-212)-T95A
[2214] <400> 47
[2215] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2216] 1 5 10 15
[2217] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2218] 20 25 30
[2219] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2220] 35 40 45
[2221] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2222] 50 55 60

[2223] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2224] 65 70 75 80
[2225] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2226] 85 90 95
[2227] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2228] 100 105 110
[2229] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2230] 115 120 125
[2231] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2232] 130 135 140
[2233] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2234] 145 150 155 160
[2235] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2236] 165 170 175
[2237] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2238] 180 185 190
[2239] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2240] 195 200 205
[2241] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu
[2242] 210 215 220
[2243] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2244] 225 230 235 240
[2245] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2246] 245 250 255
[2247] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2248] 260 265 270
[2249] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2250] 275 280 285
[2251] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2252] 290 295 300
[2253] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2254] 305 310 315 320
[2255] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2256] 325 330 335
[2257] <210> 48
[2258] <400> 48
[2259] 000
[2260] <210> 49
[2261] <211> 336

[2262] <212> PRT

[2263] <213> 人工序列

[2264] <220>

[2265] <223> IL2-T23A-CD25(22-212)

[2266] <400> 49

[2267] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2268] 1 5 10 15
[2269] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2270] 20 25 30
[2271] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2272] 35 40 45
[2273] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2274] 50 55 60
[2275] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2276] 65 70 75 80
[2277] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2278] 85 90 95
[2279] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2280] 100 105 110
[2281] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2282] 115 120 125
[2283] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2284] 130 135 140
[2285] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2286] 145 150 155 160
[2287] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2288] 165 170 175
[2289] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2290] 180 185 190
[2291] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2292] 195 200 205
[2293] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2294] 210 215 220
[2295] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2296] 225 230 235 240
[2297] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2298] 245 250 255
[2299] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2300] 260 265 270

[2301] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2302] 275 280 285
[2303] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2304] 290 295 300
[2305] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2306] 305 310 315 320
[2307] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2308] 325 330 335
[2309] <210> 50
[2310] <211> 336
[2311] <212> PRT
[2312] <213> 人工序列
[2313] <220>
[2314] <223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-212)
[2315] <400> 50
[2316] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2317] 1 5 10 15
[2318] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2319] 20 25 30
[2320] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2321] 35 40 45
[2322] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2323] 50 55 60
[2324] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2325] 65 70 75 80
[2326] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2327] 85 90 95
[2328] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2329] 100 105 110
[2330] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2331] 115 120 125
[2332] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2333] 130 135 140
[2334] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2335] 145 150 155 160
[2336] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2337] 165 170 175
[2338] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2339] 180 185 190

[2340] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2341] 195 200 205
[2342] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2343] 210 215 220
[2344] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2345] 225 230 235 240
[2346] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2347] 245 250 255
[2348] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2349] 260 265 270
[2350] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2351] 275 280 285
[2352] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2353] 290 295 300
[2354] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2355] 305 310 315 320
[2356] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2357] 325 330 335
[2358] <210> 51
[2359] <211> 336
[2360] <212> PRT
[2361] <213> 人工序列
[2362] <220>
[2363] <223> IL2-C145S-CD25(22-212)
[2364] <400> 51
[2365] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2366] 1 5 10 15
[2367] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2368] 20 25 30
[2369] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2370] 35 40 45
[2371] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2372] 50 55 60
[2373] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2374] 65 70 75 80
[2375] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2376] 85 90 95
[2377] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2378] 100 105 110

[2379] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2380] 115 120 125
[2381] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2382] 130 135 140
[2383] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2384] 145 150 155 160
[2385] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2386] 165 170 175
[2387] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2388] 180 185 190
[2389] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2390] 195 200 205
[2391] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2392] 210 215 220
[2393] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2394] 225 230 235 240
[2395] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2396] 245 250 255
[2397] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2398] 260 265 270
[2399] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2400] 275 280 285
[2401] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2402] 290 295 300
[2403] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2404] 305 310 315 320
[2405] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2406] 325 330 335
[2407] <210> 52
[2408] <211> 336
[2409] <212> PRT
[2410] <213> 人工序列
[2411] <220>
[2412] <223> IL2-C145S-CD25(22-212)
[2413] <400> 52
[2414] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2415] 1 5 10 15
[2416] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2417] 20 25 30

[2418] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2419] 35 40 45
[2420] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2421] 50 55 60
[2422] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2423] 65 70 75 80
[2424] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2425] 85 90 95
[2426] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2427] 100 105 110
[2428] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2429] 115 120 125
[2430] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2431] 130 135 140
[2432] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2433] 145 150 155 160
[2434] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2435] 165 170 175
[2436] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2437] 180 185 190
[2438] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2439] 195 200 205
[2440] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu
[2441] 210 215 220
[2442] Gln Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2443] 225 230 235 240
[2444] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2445] 245 250 255
[2446] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2447] 260 265 270
[2448] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2449] 275 280 285
[2450] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2451] 290 295 300
[2452] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2453] 305 310 315 320
[2454] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2455] 325 330 335
[2456] <210> 53

[2457] <211> 338

[2458] <212> PRT

[2459] <213> 人工序列

[2460] <220>

[2461] <223> IL2-T23A-CD25(22-212)-PG

[2462] <400> 53

[2463] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[2464] 1 5 10 15

[2465] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

[2466] 20 25 30

[2467] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

[2468] 35 40 45

[2469] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

[2470] 50 55 60

[2471] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[2472] 65 70 75 80

[2473] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[2474] 85 90 95

[2475] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[2476] 100 105 110

[2477] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

[2478] 115 120 125

[2479] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[2480] 130 135 140

[2481] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

[2482] 145 150 155 160

[2483] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[2484] 165 170 175

[2485] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

[2486] 180 185 190

[2487] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[2488] 195 200 205

[2489] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

[2490] 210 215 220

[2491] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[2492] 225 230 235 240

[2493] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

[2494] 245 250 255

[2495] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

[2496] 260 265 270
[2497] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2498] 275 280 285
[2499] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2500] 290 295 300
[2501] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2502] 305 310 315 320
[2503] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2504] 325 330 335
[2505] Pro Gly
[2506] <210> 54
[2507] <211> 311
[2508] <212> PRT
[2509] <213> 人工序列
[2510] <220>
[2511] <223> IL2-CD25(22-187)
[2512] <400> 54
[2513] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2514] 1 5 10 15
[2515] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2516] 20 25 30
[2517] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2518] 35 40 45
[2519] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2520] 50 55 60
[2521] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2522] 65 70 75 80
[2523] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2524] 85 90 95
[2525] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2526] 100 105 110
[2527] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2528] 115 120 125
[2529] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2530] 130 135 140
[2531] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2532] 145 150 155 160
[2533] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2534] 165 170 175

[2535] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2536] 180 185 190
[2537] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2538] 195 200 205
[2539] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2540] 210 215 220
[2541] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2542] 225 230 235 240
[2543] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2544] 245 250 255
[2545] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2546] 260 265 270
[2547] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2548] 275 280 285
[2549] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2550] 290 295 300
[2551] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2552] 305 310
[2553] <210> 55
[2554] <211> 311
[2555] <212> PRT
[2556] <213> 人工序列
[2557] <220>
[2558] <223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)
[2559] <400> 55
[2560] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2561] 1 5 10 15
[2562] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2563] 20 25 30
[2564] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2565] 35 40 45
[2566] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2567] 50 55 60
[2568] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2569] 65 70 75 80
[2570] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2571] 85 90 95
[2572] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2573] 100 105 110

[2574] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2575] 115 120 125
[2576] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2577] 130 135 140
[2578] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2579] 145 150 155 160
[2580] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2581] 165 170 175
[2582] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2583] 180 185 190
[2584] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2585] 195 200 205
[2586] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2587] 210 215 220
[2588] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2589] 225 230 235 240
[2590] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2591] 245 250 255
[2592] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2593] 260 265 270
[2594] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2595] 275 280 285
[2596] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2597] 290 295 300
[2598] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2599] 305 310
[2600] <210> 56
[2601] <211> 364
[2602] <212> PRT
[2603] <213> 人工序列
[2604] <220>
[2605] <223> IL2-CD25(22-240, C213S)
[2606] <400> 56
[2607] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2608] 1 5 10 15
[2609] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2610] 20 25 30
[2611] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2612] 35 40 45

[2613] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2614] 50 55 60
[2615] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2616] 65 70 75 80
[2617] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2618] 85 90 95
[2619] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2620] 100 105 110
[2621] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2622] 115 120 125
[2623] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2624] 130 135 140
[2625] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2626] 145 150 155 160
[2627] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2628] 165 170 175
[2629] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2630] 180 185 190
[2631] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2632] 195 200 205
[2633] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2634] 210 215 220
[2635] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2636] 225 230 235 240
[2637] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2638] 245 250 255
[2639] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2640] 260 265 270
[2641] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2642] 275 280 285
[2643] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2644] 290 295 300
[2645] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2646] 305 310 315 320
[2647] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2648] 325 330 335
[2649] Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
[2650] 340 345 350
[2651] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

[2652] 355 360

[2653] <210> 57

[2654] <211> 335

[2655] <212> PRT

[2656] <213> 人工序列

[2657] <220>

[2658] <223> Del-A21-IL2-CD(22-212)

[2659] <400> 57

[2660] Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu

[2661] 1 5 10 15

[2662] Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn

[2663] 20 25 30

[2664] Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys

[2665] 35 40 45

[2666] Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

[2667] 50 55 60

[2668] Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

[2669] 65 70 75 80

[2670] Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

[2671] 85 90 95

[2672] Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

[2673] 100 105 110

[2674] Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile

[2675] 115 120 125

[2676] Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

[2677] 130 135 140

[2678] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[2679] 145 150 155 160

[2680] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[2681] 165 170 175

[2682] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[2683] 180 185 190

[2684] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

[2685] 195 200 205

[2686] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

[2687] 210 215 220

[2688] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[2689] 225 230 235 240

[2690] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[2691] 245 250 255
[2692] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[2693] 260 265 270
[2694] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[2695] 275 280 285
[2696] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[2697] 290 295 300
[2698] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[2699] 305 310 315 320
[2700] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2701] 325 330 335
[2702] <210> 58
[2703] <211> 336
[2704] <212> PRT
[2705] <213> 人工序列
[2706] <220>
[2707] <223> IL2-T23A-L2-CD25(22-212)
[2708] <400> 58
[2709] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2710] 1 5 10 15
[2711] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2712] 20 25 30
[2713] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2714] 35 40 45
[2715] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2716] 50 55 60
[2717] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2718] 65 70 75 80
[2719] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2720] 85 90 95
[2721] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2722] 100 105 110
[2723] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[2724] 115 120 125
[2725] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
[2726] 130 135 140
[2727] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2728] 145 150 155 160
[2729] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

[2730] 165 170 175
[2731] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2732] 180 185 190
[2733] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2734] 195 200 205
[2735] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2736] 210 215 220
[2737] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2738] 225 230 235 240
[2739] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2740] 245 250 255
[2741] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2742] 260 265 270
[2743] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2744] 275 280 285
[2745] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2746] 290 295 300
[2747] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[2748] 305 310 315 320
[2749] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[2750] 325 330 335
[2751] <210> 59
[2752] <211> 344
[2753] <212> PRT
[2754] <213> 人工序列
[2755] <220>
[2756] <223> IL2-T23A-L3-CD25(22-212)
[2757] <400> 59
[2758] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2759] 1 5 10 15
[2760] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2761] 20 25 30
[2762] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2763] 35 40 45
[2764] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2765] 50 55 60
[2766] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2767] 65 70 75 80
[2768] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[2769] 85 90 95

[2770] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

[2771] 100 105 110

[2772] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

[2773] 115 120 125

[2774] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[2775] 130 135 140

[2776] Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro

[2777] 145 150 155 160

[2778] Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly

[2779] 165 170 175

[2780] Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser

[2781] 180 185 190

[2782] Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp

[2783] 195 200 205

[2784] Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys

[2785] 210 215 220

[2786] Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu

[2787] 225 230 235 240

[2788] Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His

[2789] 245 250 255

[2790] Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr

[2791] 260 265 270

[2792] His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr

[2793] 275 280 285

[2794] Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His

[2795] 290 295 300

[2796] Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met

[2797] 305 310 315 320

[2798] Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu

[2799] 325 330 335

[2800] Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

[2801] 340

[2802] <210> 60

[2803] <211> 311

[2804] <212> PRT

[2805] <213> 人工序列

[2806] <220>

[2807] <223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q

[2808] <400> 60

[2809] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2810] 1 5 10 15
[2811] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2812] 20 25 30
[2813] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2814] 35 40 45
[2815] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2816] 50 55 60
[2817] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2818] 65 70 75 80
[2819] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2820] 85 90 95
[2821] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2822] 100 105 110
[2823] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2824] 115 120 125
[2825] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2826] 130 135 140
[2827] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2828] 145 150 155 160
[2829] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2830] 165 170 175
[2831] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2832] 180 185 190
[2833] Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2834] 195 200 205
[2835] Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2836] 210 215 220
[2837] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2838] 225 230 235 240
[2839] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2840] 245 250 255
[2841] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2842] 260 265 270
[2843] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2844] 275 280 285
[2845] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2846] 290 295 300

[2847] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2848] 305 310
[2849] <210> 61
[2850] <211> 311
[2851] <212> PRT
[2852] <213> 人工序列
[2853] <220>
[2854] <223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q
[2855] <400> 61
[2856] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2857] 1 5 10 15
[2858] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2859] 20 25 30
[2860] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2861] 35 40 45
[2862] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2863] 50 55 60
[2864] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2865] 65 70 75 80
[2866] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2867] 85 90 95
[2868] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2869] 100 105 110
[2870] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2871] 115 120 125
[2872] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2873] 130 135 140
[2874] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2875] 145 150 155 160
[2876] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2877] 165 170 175
[2878] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2879] 180 185 190
[2880] Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2881] 195 200 205
[2882] Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2883] 210 215 220
[2884] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2885] 225 230 235 240

[2886] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2887] 245 250 255
[2888] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2889] 260 265 270
[2890] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2891] 275 280 285
[2892] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2893] 290 295 300
[2894] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2895] 305 310
[2896] <210> 62
[2897] <211> 311
[2898] <212> PRT
[2899] <213> 人工序列
[2900] <220>
[2901] <223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)-N89Q
[2902] <400> 62
[2903] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2904] 1 5 10 15
[2905] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2906] 20 25 30
[2907] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2908] 35 40 45
[2909] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2910] 50 55 60
[2911] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2912] 65 70 75 80
[2913] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2914] 85 90 95
[2915] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2916] 100 105 110
[2917] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2918] 115 120 125
[2919] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2920] 130 135 140
[2921] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2922] 145 150 155 160
[2923] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2924] 165 170 175

[2925] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2926] 180 185 190
[2927] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2928] 195 200 205
[2929] Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2930] 210 215 220
[2931] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2932] 225 230 235 240
[2933] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2934] 245 250 255
[2935] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2936] 260 265 270
[2937] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2938] 275 280 285
[2939] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2940] 290 295 300
[2941] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2942] 305 310
[2943] <210> 63
[2944] <211> 311
[2945] <212> PRT
[2946] <213> 人工序列
[2947] <220>
[2948] <223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)-N70Q
[2949] <400> 63
[2950] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2951] 1 5 10 15
[2952] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[2953] 20 25 30
[2954] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[2955] 35 40 45
[2956] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[2957] 50 55 60
[2958] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[2959] 65 70 75 80
[2960] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[2961] 85 90 95
[2962] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[2963] 100 105 110

[2964] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[2965] 115 120 125
[2966] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[2967] 130 135 140
[2968] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[2969] 145 150 155 160
[2970] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[2971] 165 170 175
[2972] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[2973] 180 185 190
[2974] Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[2975] 195 200 205
[2976] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[2977] 210 215 220
[2978] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[2979] 225 230 235 240
[2980] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[2981] 245 250 255
[2982] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[2983] 260 265 270
[2984] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[2985] 275 280 285
[2986] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[2987] 290 295 300
[2988] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[2989] 305 310
[2990] <210> 64
[2991] <211> 311
[2992] <212> PRT
[2993] <213> 人工序列
[2994] <220>
[2995] <223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N89Q
[2996] <400> 64
[2997] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[2998] 1 5 10 15
[2999] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3000] 20 25 30
[3001] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3002] 35 40 45

[3003] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3004] 50 55 60
[3005] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3006] 65 70 75 80
[3007] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3008] 85 90 95
[3009] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3010] 100 105 110
[3011] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[3012] 115 120 125
[3013] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[3014] 130 135 140
[3015] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[3016] 145 150 155 160
[3017] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[3018] 165 170 175
[3019] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[3020] 180 185 190
[3021] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[3022] 195 200 205
[3023] Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[3024] 210 215 220
[3025] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[3026] 225 230 235 240
[3027] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[3028] 245 250 255
[3029] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[3030] 260 265 270
[3031] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[3032] 275 280 285
[3033] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[3034] 290 295 300
[3035] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[3036] 305 310
[3037] <210> 65
[3038] <211> 311
[3039] <212> PRT
[3040] <213> 人工序列
[3041] <220>

[3042] <223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q

[3043] <400> 65

[3044] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3045] 1 5 10 15
[3046] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3047] 20 25 30
[3048] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3049] 35 40 45
[3050] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3051] 50 55 60
[3052] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3053] 65 70 75 80
[3054] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3055] 85 90 95
[3056] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3057] 100 105 110
[3058] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[3059] 115 120 125
[3060] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[3061] 130 135 140
[3062] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[3063] 145 150 155 160
[3064] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[3065] 165 170 175
[3066] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[3067] 180 185 190
[3068] Gly Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[3069] 195 200 205
[3070] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[3071] 210 215 220
[3072] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[3073] 225 230 235 240
[3074] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[3075] 245 250 255
[3076] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[3077] 260 265 270
[3078] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[3079] 275 280 285
[3080] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

[3081] 290 295 300
[3082] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[3083] 305 310
[3084] <210> 66
[3085] <211> 311
[3086] <212> PRT
[3087] <213> 人工序列
[3088] <220>
[3089] <223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)
[3090] <400> 66
[3091] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3092] 1 5 10 15
[3093] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3094] 20 25 30
[3095] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3096] 35 40 45
[3097] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3098] 50 55 60
[3099] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3100] 65 70 75 80
[3101] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3102] 85 90 95
[3103] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3104] 100 105 110
[3105] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[3106] 115 120 125
[3107] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[3108] 130 135 140
[3109] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[3110] 145 150 155 160
[3111] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[3112] 165 170 175
[3113] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[3114] 180 185 190
[3115] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[3116] 195 200 205
[3117] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[3118] 210 215 220
[3119] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

[3120] 225 230 235 240
[3121] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[3122] 245 250 255
[3123] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[3124] 260 265 270
[3125] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[3126] 275 280 285
[3127] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[3128] 290 295 300
[3129] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[3130] 305 310
[3131] <210> 67
[3132] <211> 569
[3133] <212> PRT
[3134] <213> 人工序列
[3135] <220>
[3136] <223> Fc1.1-7接头-IL2-CD25(22-212)
[3137] <400> 67
[3138] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[3139] 1 5 10 15
[3140] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[3141] 20 25 30
[3142] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[3143] 35 40 45
[3144] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[3145] 50 55 60
[3146] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[3147] 65 70 75 80
[3148] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[3149] 85 90 95
[3150] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
[3151] 100 105 110
[3152] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[3153] 115 120 125
[3154] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[3155] 130 135 140
[3156] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[3157] 145 150 155 160
[3158] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[3159] 165 170 175

[3160] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[3161] 180 185 190

[3162] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[3163] 195 200 205

[3164] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[3165] 210 215 220

[3166] Pro Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr

[3167] 225 230 235 240

[3168] Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met

[3169] 245 250 255

[3170] Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met

[3171] 260 265 270

[3172] Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His

[3173] 275 280 285

[3174] Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn

[3175] 290 295 300

[3176] Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser

[3177] 305 310 315 320

[3178] Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe

[3179] 325 330 335

[3180] Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn

[3181] 340 345 350

[3182] Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly

[3183] 355 360 365

[3184] Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp

[3185] 370 375 380

[3186] Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu

[3187] 385 390 395 400

[3188] Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys

[3189] 405 410 415

[3190] Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser

[3191] 420 425 430

[3192] Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr

[3193] 435 440 445

[3194] Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr

[3195] 450 455 460

[3196] Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly

[3197] 465 470 475 480

[3198] His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile
[3199] 485 490 495
[3200] Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly
[3201] 500 505 510
[3202] Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr
[3203] 515 520 525
[3204] His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[3205] 530 535 540
[3206] Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro
[3207] 545 550 555 560
[3208] Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[3209] 565
[3210] <210> 68
[3211] <211> 562
[3212] <212> PRT
[3213] <213> 人工序列
[3214] <220>
[3215] <223> IL2-CD25(22-212)-Fc1.1
[3216] <400> 68
[3217] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3218] 1 5 10 15
[3219] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3220] 20 25 30
[3221] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3222] 35 40 45
[3223] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3224] 50 55 60
[3225] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3226] 65 70 75 80
[3227] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3228] 85 90 95
[3229] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3230] 100 105 110
[3231] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[3232] 115 120 125
[3233] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[3234] 130 135 140
[3235] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[3236] 145 150 155 160

[3237] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[3238] 165 170 175
[3239] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[3240] 180 185 190
[3241] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[3242] 195 200 205
[3243] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[3244] 210 215 220
[3245] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[3246] 225 230 235 240
[3247] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[3248] 245 250 255
[3249] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[3250] 260 265 270
[3251] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[3252] 275 280 285
[3253] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[3254] 290 295 300
[3255] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[3256] 305 310 315 320
[3257] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[3258] 325 330 335
[3259] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[3260] 340 345 350
[3261] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[3262] 355 360 365
[3263] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[3264] 370 375 380
[3265] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[3266] 385 390 395 400
[3267] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[3268] 405 410 415
[3269] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[3270] 420 425 430
[3271] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
[3272] 435 440 445
[3273] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[3274] 450 455 460
[3275] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

[3276] 465 470 475 480
[3277] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[3278] 485 490 495
[3279] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[3280] 500 505 510
[3281] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[3282] 515 520 525
[3283] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[3284] 530 535 540
[3285] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[3286] 545 550 555 560
[3287] Pro Gly
[3288] <210> 69
[3289] <211> 336
[3290] <212> PRT
[3291] <213> 人工序列
[3292] <220>
[3293] <223> IL2(V111K)-CD25(22-212)
[3294] <400> 69
[3295] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3296] 1 5 10 15
[3297] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3298] 20 25 30
[3299] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3300] 35 40 45
[3301] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3302] 50 55 60
[3303] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3304] 65 70 75 80
[3305] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Lys Ile Val Leu Glu Leu
[3306] 85 90 95
[3307] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3308] 100 105 110
[3309] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[3310] 115 120 125
[3311] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[3312] 130 135 140
[3313] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[3314] 145 150 155 160

[3315] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[3316] 165 170 175
[3317] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[3318] 180 185 190
[3319] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[3320] 195 200 205
[3321] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[3322] 210 215 220
[3323] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[3324] 225 230 235 240
[3325] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[3326] 245 250 255
[3327] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[3328] 260 265 270
[3329] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[3330] 275 280 285
[3331] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[3332] 290 295 300
[3333] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[3334] 305 310 315 320
[3335] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[3336] 325 330 335
[3337] <210> 70
[3338] <211> 336
[3339] <212> PRT
[3340] <213> 人工序列
[3341] <220>
[3342] <223> IL2(D40T)-CD25(22-212)
[3343] <400> 70
[3344] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3345] 1 5 10 15
[3346] Leu Leu Leu Thr Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3347] 20 25 30
[3348] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3349] 35 40 45
[3350] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3351] 50 55 60
[3352] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3353] 65 70 75 80

[3354] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3355] 85 90 95
[3356] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3357] 100 105 110
[3358] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[3359] 115 120 125
[3360] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[3361] 130 135 140
[3362] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[3363] 145 150 155 160
[3364] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[3365] 165 170 175
[3366] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[3367] 180 185 190
[3368] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[3369] 195 200 205
[3370] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[3371] 210 215 220
[3372] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[3373] 225 230 235 240
[3374] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[3375] 245 250 255
[3376] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[3377] 260 265 270
[3378] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[3379] 275 280 285
[3380] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[3381] 290 295 300
[3382] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[3383] 305 310 315 320
[3384] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[3385] 325 330 335
[3386] <210> 71
[3387] <211> 12
[3388] <212> PRT
[3389] <213> 人工序列
[3390] <220>
[3391] <223> 甘氨酸接头
[3392] <400> 71

[3393] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
[3394] 1 5 10
[3395] <210> 72
[3396] <211> 5
[3397] <212> PRT
[3398] <213> 人工序列
[3399] <220>
[3400] <223> 甘氨酸接头
[3401] <400> 72
[3402] Gly Gly Gly Gly Ser
[3403] 1 5
[3404] <210> 73
[3405] <211> 8
[3406] <212> PRT
[3407] <213> 人工序列
[3408] <220>
[3409] <223> 甘氨酸接头
[3410] <400> 73
[3411] Gly Gly His His His His His His
[3412] 1 5
[3413] <210> 74
[3414] <211> 16
[3415] <212> PRT
[3416] <213> 人工序列
[3417] <220>
[3418] <223> 甘氨酸接头
[3419] <400> 74
[3420] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
[3421] 1 5 10 15
[3422] <210> 75
[3423] <211> 20
[3424] <212> PRT
[3425] <213> 人工序列
[3426] <220>
[3427] <223> 甘氨酸接头
[3428] <400> 75
[3429] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
[3430] 1 5 10 15
[3431] Gly Gly Gly Ser

[3432] 20

[3433] <210> 76

[3434] <211> 24

[3435] <212> PRT

[3436] <213> 人工序列

[3437] <220>

[3438] <223> 甘氨酸接头

[3439] <400> 76

[3440] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

[3441] 1 5 10 15

[3442] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

[3443] 20

[3444] <210> 77

[3445] <211> 28

[3446] <212> PRT

[3447] <213> 人工序列

[3448] <220>

[3449] <223> 甘氨酸接头

[3450] <400> 77

[3451] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

[3452] 1 5 10 15

[3453] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

[3454] 20 25

[3455] <210> 78

[3456] <211> 15

[3457] <212> PRT

[3458] <213> 人工序列

[3459] <220>

[3460] <223> 甘氨酸接头

[3461] <400> 78

[3462] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

[3463] 1 5 10 15

[3464] <210> 79

[3465] <211> 20

[3466] <212> PRT

[3467] <213> 人工序列

[3468] <220>

[3469] <223> 甘氨酸接头

[3470] <400> 79

[3471] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[3472] 1 5 10 15
[3473] Gly Gly Gly Ser
[3474] 20
[3475] <210> 80
[3476] <211> 25
[3477] <212> PRT
[3478] <213> 人工序列
[3479] <220>
[3480] <223> 甘氨酸接头
[3481] <400> 80
[3482] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[3483] 1 5 10 15
[3484] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[3485] 20 25
[3486] <210> 81
[3487] <211> 10
[3488] <212> PRT
[3489] <213> 人工序列
[3490] <220>
[3491] <223> 甘氨酸接头
[3492] <400> 81
[3493] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[3494] 1 5 10
[3495] <210> 82
[3496] <211> 5
[3497] <212> PRT
[3498] <213> 人工序列
[3499] <220>
[3500] <223> 甘氨酸接头
[3501] <400> 82
[3502] Gly Gly Gly Gly Ser
[3503] 1 5
[3504] <210> 83
[3505] <211> 30
[3506] <212> PRT
[3507] <213> 人工序列
[3508] <220>
[3509] <223> 甘氨酸接头

[3510] <400> 83

[3511] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

[3512] 1 5 10 15

[3513] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

[3514] 20 25 30

[3515] <210> 84

[3516] <211> 25

[3517] <212> PRT

[3518] <213> 人工序列

[3519] <220>

[3520] <223> 甘氨酸接头

[3521] <400> 84

[3522] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

[3523] 1 5 10 15

[3524] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

[3525] 20 25

[3526] <210> 85

[3527] <211> 20

[3528] <212> PRT

[3529] <213> 人工序列

[3530] <220>

[3531] <223> 聚腺苷酸化信号序列

[3532] <400> 85

[3533] Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro

[3534] 1 5 10 15

[3535] Ser Ala Pro Ala

[3536] 20

[3537] <210> 86

[3538] <211> 20

[3539] <212> PRT

[3540] <213> 人工序列

[3541] <220>

[3542] <223> 聚腺苷酸化信号序列

[3543] <400> 86

[3544] Ala Ala Pro Ala Ser Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Ala Pro

[3545] 1 5 10 15

[3546] Ala Ala Pro Ser

[3547] 20

[3548] <210> 87

[3549] <211> 20
[3550] <212> PRT
[3551] <213> 人工序列
[3552] <220>
[3553] <223> 聚腺苷酸化信号序列
[3554] <400> 87
[3555] Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala
[3556] 1 5 10 15
[3557] Ser Pro Ser Ser
[3558] 20
[3559] <210> 88
[3560] <211> 19
[3561] <212> PRT
[3562] <213> 人工序列
[3563] <220>
[3564] <223> 聚腺苷酸化信号序列
[3565] <400> 88
[3566] Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala
[3567] 1 5 10 15
[3568] Ser Pro Ser
[3569] <210> 89
[3570] <211> 20
[3571] <212> PRT
[3572] <213> 人工序列
[3573] <220>
[3574] <223> 聚腺苷酸化信号序列
[3575] <400> 89
[3576] Ser Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Ser Ser Pro Ala Ser Pro Ser Pro
[3577] 1 5 10 15
[3578] Ser Ser Pro Ala
[3579] 20
[3580] <210> 90
[3581] <211> 24
[3582] <212> PRT
[3583] <213> 人工序列
[3584] <220>
[3585] <223> 聚腺苷酸化信号序列
[3586] <400> 90
[3587] Ala Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Pro

[3588] 1 5 10 15
[3589] Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala
[3590] 20
[3591] <210> 91
[3592] <211> 20
[3593] <212> PRT
[3594] <213> 人工序列
[3595] <220>
[3596] <223> 聚腺苷酸化信号序列
[3597] <400> 91
[3598] Ala Ser Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ser Ala Pro
[3599] 1 5 10 15
[3600] Ser Ala Ala Ala
[3601] 20
[3602] <210> 92
[3603] <211> 66
[3604] <212> DNA
[3605] <213> 人工序列
[3606] <220>
[3607] <223> IL2前导序列优化的Kozak序列
[3608] <400> 92
[3609] gccaccatgg acaggatgca actcctgtct tgcattgcac taagtcttgc acttgtcaca 60
[3610] aacagt 66
[3611] <210> 93
[3612] <211> 7
[3613] <212> PRT
[3614] <213> 人工序列
[3615] <220>
[3616] <223> FC区
[3617] <400> 93
[3618] His Gln Ser Leu Gly Thr Gln
[3619] 1 5
[3620] <210> 94
[3621] <211> 8
[3622] <212> PRT
[3623] <213> 人工序列
[3624] <220>
[3625] <223> FC区
[3626] <400> 94

[3627] His Gln Asn Leu Ser Asp Gly Lys
[3628] 1 5
[3629] <210> 95
[3630] <211> 8
[3631] <212> PRT
[3632] <213> 人工序列
[3633] <220>
[3634] <223> FC区
[3635] <400> 95
[3636] His Gln Asn Ile Ser Asp Gly Lys
[3637] 1 5
[3638] <210> 96
[3639] <211> 8
[3640] <212> PRT
[3641] <213> 人工序列
[3642] <220>
[3643] <223> FC区
[3644] <400> 96
[3645] Val Ile Ser Ser His Leu Gly Gln
[3646] 1 5
[3647] <210> 97
[3648] <211> 35
[3649] <212> PRT
[3650] <213> 人工序列
[3651] <220>
[3652] <223> 甘氨酸接头
[3653] <400> 97
[3654] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[3655] 1 5 10 15
[3656] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[3657] 20 25 30
[3658] Gly Gly Ser
[3659] 35
[3660] <210> 98
[3661] <211> 11
[3662] <212> PRT
[3663] <213> 人工序列
[3664] <220>
[3665] <223> FC区

[3666] <400> 98
[3667] Pro Lys Asn Ser Ser Met Ile Ser Asn Thr Pro
[3668] 1 5 10
[3669] <210> 99
[3670] <211> 10
[3671] <212> DNA
[3672] <213> 人工序列
[3673] <220>
[3674] <223> kozak序列
[3675] <400> 99
[3676] gccaccatgg 10
[3677] <210> 100
[3678] <211> 8
[3679] <212> PRT
[3680] <213> 人工序列
[3681] <220>
[3682] <223> His标签
[3683] <400> 100
[3684] Gly Gly His His His His His His
[3685] 1 5
[3686] <210> 101
[3687] <211> 133
[3688] <212> PRT
[3689] <213> 人工序列
[3690] <220>
[3691] <223> IL2(21-153)
[3692] <400> 101
[3693] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3694] 1 5 10 15
[3695] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3696] 20 25 30
[3697] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3698] 35 40 45
[3699] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3700] 50 55 60
[3701] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3702] 65 70 75 80
[3703] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3704] 85 90 95

[3705] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3706] 100 105 110
[3707] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[3708] 115 120 125
[3709] Ile Ser Thr Leu Thr
[3710] 130
[3711] <210> 102
[3712] <211> 133
[3713] <212> PRT
[3714] <213> 人工序列
[3715] <220>
[3716] <223> IL2(21-153)(C145S)
[3717] <400> 102
[3718] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3719] 1 5 10 15
[3720] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3721] 20 25 30
[3722] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3723] 35 40 45
[3724] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3725] 50 55 60
[3726] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3727] 65 70 75 80
[3728] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3729] 85 90 95
[3730] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3731] 100 105 110
[3732] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[3733] 115 120 125
[3734] Ile Ser Thr Leu Thr
[3735] 130
[3736] <210> 103
[3737] <211> 133
[3738] <212> PRT
[3739] <213> 人工序列
[3740] <220>
[3741] <223> IL2(21-153)(C145A)
[3742] <400> 103
[3743] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

[3744] 1 5 10 15
[3745] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3746] 20 25 30
[3747] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3748] 35 40 45
[3749] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3750] 50 55 60
[3751] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3752] 65 70 75 80
[3753] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3754] 85 90 95
[3755] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3756] 100 105 110
[3757] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
[3758] 115 120 125
[3759] Ile Ser Thr Leu Thr
[3760] 130
[3761] <210> 104
[3762] <211> 133
[3763] <212> PRT
[3764] <213> 人工序列
[3765] <220>
[3766] <223> IL2(21-153)(C145V)
[3767] <400> 104
[3768] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3769] 1 5 10 15
[3770] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3771] 20 25 30
[3772] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3773] 35 40 45
[3774] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3775] 50 55 60
[3776] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3777] 65 70 75 80
[3778] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3779] 85 90 95
[3780] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3781] 100 105 110
[3782] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Val Gln Ser Ile

[3783] 115 120 125
[3784] Ile Ser Thr Leu Thr
[3785] 130
[3786] <210> 105
[3787] <211> 133
[3788] <212> PRT
[3789] <213> 人工序列
[3790] <220>
[3791] <223> IL2(21-153)(T23A)
[3792] <400> 105
[3793] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3794] 1 5 10 15
[3795] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3796] 20 25 30
[3797] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3798] 35 40 45
[3799] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3800] 50 55 60
[3801] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3802] 65 70 75 80
[3803] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3804] 85 90 95
[3805] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3806] 100 105 110
[3807] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[3808] 115 120 125
[3809] Ile Ser Thr Leu Thr
[3810] 130
[3811] <210> 106
[3812] <211> 133
[3813] <212> PRT
[3814] <213> 人工序列
[3815] <220>
[3816] <223> IL2(21-153)(T23A+C145S)
[3817] <400> 106
[3818] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3819] 1 5 10 15
[3820] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3821] 20 25 30

[3822] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3823] 35 40 45
[3824] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3825] 50 55 60
[3826] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3827] 65 70 75 80
[3828] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3829] 85 90 95
[3830] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3831] 100 105 110
[3832] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
[3833] 115 120 125
[3834] Ile Ser Thr Leu Thr
[3835] 130
[3836] <210> 107
[3837] <211> 133
[3838] <212> PRT
[3839] <213> 人工序列
[3840] <220>
[3841] <223> IL2(21-153)(T23A+C145A)
[3842] <400> 107
[3843] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[3844] 1 5 10 15
[3845] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[3846] 20 25 30
[3847] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[3848] 35 40 45
[3849] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[3850] 50 55 60
[3851] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[3852] 65 70 75 80
[3853] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[3854] 85 90 95
[3855] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[3856] 100 105 110
[3857] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
[3858] 115 120 125
[3859] Ile Ser Thr Leu Thr
[3860] 130

[3861] <210> 108
[3862] <211> 153
[3863] <212> PRT
[3864] <213> 人工序列
[3865] <220>
[3866] <223> 天然SigPep-IL2(1-153)
[3867] <400> 108
[3868] Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
[3869] 1 5 10 15
[3870] Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
[3871] 20 25 30
[3872] Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
[3873] 35 40 45
[3874] Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
[3875] 50 55 60
[3876] Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
[3877] 65 70 75 80
[3878] Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
[3879] 85 90 95
[3880] Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
[3881] 100 105 110
[3882] Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
[3883] 115 120 125
[3884] Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
[3885] 130 135 140
[3886] Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
[3887] 145 150
[3888] <210> 109
[3889] <211> 134
[3890] <212> PRT
[3891] <213> 人工序列
[3892] <220>
[3893] <223> M-IL2(C145S)
[3894] <400> 109
[3895] Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
[3896] 1 5 10 15
[3897] His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
[3898] 20 25 30
[3899] Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro

[3900] 35 40 45
[3901] Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
[3902] 50 55 60
[3903] Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
[3904] 65 70 75 80
[3905] Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
[3906] 85 90 95
[3907] Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
[3908] 100 105 110
[3909] Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser
[3910] 115 120 125
[3911] Ile Ile Ser Thr Leu Thr
[3912] 130
[3913] <210> 110
[3914] <211> 134
[3915] <212> PRT
[3916] <213> 人工序列
[3917] <220>
[3918] <223> M-IL2(C145A)
[3919] <400> 110
[3920] Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
[3921] 1 5 10 15
[3922] His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
[3923] 20 25 30
[3924] Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
[3925] 35 40 45
[3926] Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
[3927] 50 55 60
[3928] Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
[3929] 65 70 75 80
[3930] Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
[3931] 85 90 95
[3932] Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
[3933] 100 105 110
[3934] Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
[3935] 115 120 125
[3936] Ile Ile Ser Thr Leu Thr
[3937] 130
[3938] <210> 111

[3939] <211> 132
[3940] <212> PRT
[3941] <213> 人工序列
[3942] <220>
[3943] <223> Del-A21-IL2
[3944] <400> 111
[3945] Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
[3946] 1 5 10 15
[3947] Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
[3948] 20 25 30
[3949] Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
[3950] 35 40 45
[3951] Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
[3952] 50 55 60
[3953] Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
[3954] 65 70 75 80
[3955] Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
[3956] 85 90 95
[3957] Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
[3958] 100 105 110
[3959] Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
[3960] 115 120 125
[3961] Ser Thr Leu Thr
[3962] 130
[3963] <210> 112
[3964] <211> 132
[3965] <212> PRT
[3966] <213> 人工序列
[3967] <220>
[3968] <223> Del-A21-IL2(C145S)
[3969] <400> 112
[3970] Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
[3971] 1 5 10 15
[3972] Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
[3973] 20 25 30
[3974] Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
[3975] 35 40 45
[3976] Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
[3977] 50 55 60

[3978] Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
[3979] 65 70 75 80
[3980] Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
[3981] 85 90 95
[3982] Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
[3983] 100 105 110
[3984] Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
[3985] 115 120 125
[3986] Ser Thr Leu Thr
[3987] 130
[3988] <210> 113
[3989] <211> 132
[3990] <212> PRT
[3991] <213> 人工序列
[3992] <220>
[3993] <223> Del-A21-IL2(C145A)
[3994] <400> 113
[3995] Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
[3996] 1 5 10 15
[3997] Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
[3998] 20 25 30
[3999] Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
[4000] 35 40 45
[4001] Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
[4002] 50 55 60
[4003] Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
[4004] 65 70 75 80
[4005] Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
[4006] 85 90 95
[4007] Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
[4008] 100 105 110
[4009] Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile
[4010] 115 120 125
[4011] Ser Thr Leu Thr
[4012] 130
[4013] <210> 114
[4014] <211> 133
[4015] <212> PRT
[4016] <213> 人工序列

[4017] <220>
[4018] <223> IL2(V111K)
[4019] <400> 114
[4020] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[4021] 1 5 10 15
[4022] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[4023] 20 25 30
[4024] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[4025] 35 40 45
[4026] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[4027] 50 55 60
[4028] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[4029] 65 70 75 80
[4030] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Lys Ile Val Leu Glu Leu
[4031] 85 90 95
[4032] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[4033] 100 105 110
[4034] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[4035] 115 120 125
[4036] Ile Ser Thr Leu Thr
[4037] 130
[4038] <210> 115
[4039] <211> 133
[4040] <212> PRT
[4041] <213> 人工序列
[4042] <220>
[4043] <223> IL2(D40T)
[4044] <400> 115
[4045] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[4046] 1 5 10 15
[4047] Leu Leu Leu Thr Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[4048] 20 25 30
[4049] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[4050] 35 40 45
[4051] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[4052] 50 55 60
[4053] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[4054] 65 70 75 80
[4055] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

[4056] 85 90 95
[4057] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[4058] 100 105 110
[4059] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[4060] 115 120 125
[4061] Ile Ser Thr Leu Thr
[4062] 130
[4063] <210> 116
[4064] <211> 12
[4065] <212> PRT
[4066] <213> 人工序列
[4067] <220>
[4068] <223> L1-(G3S)3
[4069] <400> 116
[4070] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
[4071] 1 5 10
[4072] <210> 117
[4073] <211> 12
[4074] <212> PRT
[4075] <213> 人工序列
[4076] <220>
[4077] <223> L2-G2S2
[4078] <400> 117
[4079] Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser
[4080] 1 5 10
[4081] <210> 118
[4082] <211> 20
[4083] <212> PRT
[4084] <213> 人工序列
[4085] <220>
[4086] <223> L3-(G3S)5
[4087] <400> 118
[4088] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
[4089] 1 5 10 15
[4090] Gly Gly Gly Ser
[4091] 20
[4092] <210> 119
[4093] <211> 9
[4094] <212> PRT

[4095] <213> 人工序列
[4096] <220>
[4097] <223> L4-(G2S)3
[4098] <400> 119
[4099] Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
[4100] 1 5
[4101] <210> 120
[4102] <211> 15
[4103] <212> PRT
[4104] <213> 人工序列
[4105] <220>
[4106] <223> L5-(G2S)5
[4107] <400> 120
[4108] Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
[4109] 1 5 10 15
[4110] <210> 121
[4111] <211> 12
[4112] <212> PRT
[4113] <213> 人工序列
[4114] <220>
[4115] <223> L6-GGEEE
[4116] <400> 121
[4117] Gly Gly Glu Glu Glu Gly Gly Glu Glu Glu Gly Ser
[4118] 1 5 10
[4119] <210> 122
[4120] <211> 12
[4121] <212> PRT
[4122] <213> 人工序列
[4123] <220>
[4124] <223> L7-12mer_刚性
[4125] <400> 122
[4126] Glu Ser Pro Glu Pro Glu Thr Pro Glu Asp Glu Ser
[4127] 1 5 10
[4128] <210> 123
[4129] <211> 22
[4130] <212> PRT
[4131] <213> 人工序列
[4132] <220>
[4133] <223> L8-22mer_螺旋

[4134] <400> 123

[4135] Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln

[4136] 1 5 10 15

[4137] Glu Glu Arg Glu Thr Lys

[4138] 20

[4139] <210> 124

[4140] <211> 1

[4141] <212> PRT

[4142] <213> 人工序列

[4143] <220>

[4144] <223> L9-G

[4145] <400> 124

[4146] Gly

[4147] 1

[4148] <210> 125

[4149] <211> 2

[4150] <212> PRT

[4151] <213> 人工序列

[4152] <220>

[4153] <223> L10-GG

[4154] <400> 125

[4155] Gly Gly

[4156] 1

[4157] <210> 126

[4158] <211> 1

[4159] <212> PRT

[4160] <213> 人工序列

[4161] <220>

[4162] <223> L11-S

[4163] <400> 126

[4164] Ser

[4165] 1

[4166] <210> 127

[4167] <211> 2

[4168] <212> PRT

[4169] <213> 人工序列

[4170] <220>

[4171] <223> L12-GS

[4172] <400> 127

[4173] Gly Ser

[4174] 1

[4175] <210> 128

[4176] <211> 219

[4177] <212> PRT

[4178] <213> 人工序列

[4179] <220>

[4180] <223> CD25(22-240)

[4181] <400> 128

[4182] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[4183] 1 5 10 15

[4184] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[4185] 20 25 30

[4186] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[4187] 35 40 45

[4188] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

[4189] 50 55 60

[4190] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

[4191] 65 70 75 80

[4192] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[4193] 85 90 95

[4194] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[4195] 100 105 110

[4196] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[4197] 115 120 125

[4198] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

[4199] 130 135 140

[4200] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

[4201] 145 150 155 160

[4202] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu

[4203] 165 170 175

[4204] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys

[4205] 180 185 190

[4206] Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr

[4207] 195 200 205

[4208] Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

[4209] 210 215

[4210] <210> 129

[4211] <211> 191

[4212] <212> PRT
[4213] <213> 人工序列
[4214] <220>
[4215] <223> CD25(22-212)
[4216] <400> 129
[4217] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4218] 1 5 10 15
[4219] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4220] 20 25 30
[4221] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4222] 35 40 45
[4223] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4224] 50 55 60
[4225] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4226] 65 70 75 80
[4227] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4228] 85 90 95
[4229] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4230] 100 105 110
[4231] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4232] 115 120 125
[4233] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4234] 130 135 140
[4235] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4236] 145 150 155 160
[4237] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4238] 165 170 175
[4239] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[4240] 180 185 190
[4241] <210> 130
[4242] <211> 166
[4243] <212> PRT
[4244] <213> 人工序列
[4245] <220>
[4246] <223> CD25(22-187)
[4247] <400> 130
[4248] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4249] 1 5 10 15
[4250] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[4251] 20 25 30
[4252] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4253] 35 40 45
[4254] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4255] 50 55 60
[4256] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4257] 65 70 75 80
[4258] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4259] 85 90 95
[4260] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4261] 100 105 110
[4262] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4263] 115 120 125
[4264] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4265] 130 135 140
[4266] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4267] 145 150 155 160
[4268] Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[4269] 165
[4270] <210> 131
[4271] <211> 219
[4272] <212> PRT
[4273] <213> 人工序列
[4274] <220>
[4275] <223> CD25(22-240)(C213S)
[4276] <400> 131
[4277] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4278] 1 5 10 15
[4279] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4280] 20 25 30
[4281] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4282] 35 40 45
[4283] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4284] 50 55 60
[4285] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4286] 65 70 75 80
[4287] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4288] 85 90 95
[4289] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[4290] 100 105 110
[4291] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4292] 115 120 125
[4293] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4294] 130 135 140
[4295] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4296] 145 150 155 160
[4297] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4298] 165 170 175
[4299] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Ser
[4300] 180 185 190
[4301] Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
[4302] 195 200 205
[4303] Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[4304] 210 215
[4305] <210> 132
[4306] <211> 174
[4307] <212> PRT
[4308] <213> 人工序列
[4309] <220>
[4310] <223> CD25(22-192)-GGC
[4311] <400> 132
[4312] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4313] 1 5 10 15
[4314] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4315] 20 25 30
[4316] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4317] 35 40 45
[4318] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4319] 50 55 60
[4320] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4321] 65 70 75 80
[4322] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4323] 85 90 95
[4324] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4325] 100 105 110
[4326] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4327] 115 120 125
[4328] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

[4329] 130 135 140
[4330] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4331] 145 150 155 160
[4332] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Gly Gly Cys
[4333] 165 170
[4334] <210> 133
[4335] <211> 192
[4336] <212> PRT
[4337] <213> 人工序列
[4338] <220>
[4339] <223> CD25(22-213)
[4340] <400> 133
[4341] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4342] 1 5 10 15
[4343] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4344] 20 25 30
[4345] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4346] 35 40 45
[4347] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4348] 50 55 60
[4349] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4350] 65 70 75 80
[4351] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4352] 85 90 95
[4353] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4354] 100 105 110
[4355] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4356] 115 120 125
[4357] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4358] 130 135 140
[4359] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4360] 145 150 155 160
[4361] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4362] 165 170 175
[4363] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
[4364] 180 185 190
[4365] <210> 134
[4366] <211> 166
[4367] <212> PRT

[4368] <213> 人工序列
[4369] <220>
[4370] <223> CD25(22-187)(N70C)
[4371] <400> 134
[4372] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4373] 1 5 10 15
[4374] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4375] 20 25 30
[4376] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4377] 35 40 45
[4378] Cys Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4379] 50 55 60
[4380] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4381] 65 70 75 80
[4382] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4383] 85 90 95
[4384] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4385] 100 105 110
[4386] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4387] 115 120 125
[4388] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4389] 130 135 140
[4390] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4391] 145 150 155 160
[4392] Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[4393] 165
[4394] <210> 135
[4395] <211> 166
[4396] <212> PRT
[4397] <213> 人工序列
[4398] <220>
[4399] <223> CD25(22-187)(N89C)
[4400] <400> 135
[4401] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4402] 1 5 10 15
[4403] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4404] 20 25 30
[4405] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4406] 35 40 45

[4407] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4408] 50 55 60
[4409] Ala Thr Arg Cys Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4410] 65 70 75 80
[4411] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4412] 85 90 95
[4413] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4414] 100 105 110
[4415] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4416] 115 120 125
[4417] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4418] 130 135 140
[4419] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4420] 145 150 155 160
[4421] Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[4422] 165
[4423] <210> 136
[4424] <211> 167
[4425] <212> PRT
[4426] <213> 人工序列
[4427] <220>
[4428] <223> CD25(22-187)-C
[4429] <400> 136
[4430] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4431] 1 5 10 15
[4432] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4433] 20 25 30
[4434] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4435] 35 40 45
[4436] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4437] 50 55 60
[4438] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4439] 65 70 75 80
[4440] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4441] 85 90 95
[4442] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4443] 100 105 110
[4444] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4445] 115 120 125

[4446] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4447] 130 135 140
[4448] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4449] 145 150 155 160
[4450] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Cys
[4451] 165
[4452] <210> 137
[4453] <211> 167
[4454] <212> PRT
[4455] <213> 人工序列
[4456] <220>
[4457] <223> CD25(22-187)-G
[4458] <400> 137
[4459] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4460] 1 5 10 15
[4461] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4462] 20 25 30
[4463] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4464] 35 40 45
[4465] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4466] 50 55 60
[4467] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4468] 65 70 75 80
[4469] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4470] 85 90 95
[4471] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4472] 100 105 110
[4473] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4474] 115 120 125
[4475] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4476] 130 135 140
[4477] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4478] 145 150 155 160
[4479] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Gly
[4480] 165
[4481] <210> 138
[4482] <211> 193
[4483] <212> PRT
[4484] <213> 人工序列

[4485] <220>
[4486] <223> CD25(22-212)-PP
[4487] <400> 138
[4488] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4489] 1 5 10 15
[4490] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4491] 20 25 30
[4492] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4493] 35 40 45
[4494] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4495] 50 55 60
[4496] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4497] 65 70 75 80
[4498] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4499] 85 90 95
[4500] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4501] 100 105 110
[4502] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4503] 115 120 125
[4504] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4505] 130 135 140
[4506] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4507] 145 150 155 160
[4508] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4509] 165 170 175
[4510] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Pro
[4511] 180 185 190
[4512] Pro
[4513] <210> 139
[4514] <211> 191
[4515] <212> PRT
[4516] <213> 人工序列
[4517] <220>
[4518] <223> CD25(22-212)(T106A)
[4519] <400> 139
[4520] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4521] 1 5 10 15
[4522] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4523] 20 25 30

[4524] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4525] 35 40 45
[4526] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4527] 50 55 60
[4528] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4529] 65 70 75 80
[4530] Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4531] 85 90 95
[4532] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4533] 100 105 110
[4534] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4535] 115 120 125
[4536] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4537] 130 135 140
[4538] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4539] 145 150 155 160
[4540] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4541] 165 170 175
[4542] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[4543] 180 185 190
[4544] <210> 140
[4545] <211> 191
[4546] <212> PRT
[4547] <213> 人工序列
[4548] <220>
[4549] <223> CD25(22-212)(T95A)
[4550] <400> 140
[4551] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4552] 1 5 10 15
[4553] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4554] 20 25 30
[4555] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4556] 35 40 45
[4557] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4558] 50 55 60
[4559] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4560] 65 70 75 80
[4561] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4562] 85 90 95

[4563] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4564] 100 105 110
[4565] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4566] 115 120 125
[4567] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4568] 130 135 140
[4569] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4570] 145 150 155 160
[4571] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4572] 165 170 175
[4573] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[4574] 180 185 190
[4575] <210> 141
[4576] <211> 191
[4577] <212> PRT
[4578] <213> 人工序列
[4579] <220>
[4580] <223> CD25(22-212)(T95A+T106A)
[4581] <400> 141
[4582] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4583] 1 5 10 15
[4584] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4585] 20 25 30
[4586] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4587] 35 40 45
[4588] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4589] 50 55 60
[4590] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4591] 65 70 75 80
[4592] Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4593] 85 90 95
[4594] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4595] 100 105 110
[4596] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4597] 115 120 125
[4598] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4599] 130 135 140
[4600] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4601] 145 150 155 160

[4602] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4603] 165 170 175
[4604] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[4605] 180 185 190
[4606] <210> 142
[4607] <211> 193
[4608] <212> PRT
[4609] <213> 人工序列
[4610] <220>
[4611] <223> CD25(22-212)-PG
[4612] <400> 142
[4613] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4614] 1 5 10 15
[4615] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4616] 20 25 30
[4617] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4618] 35 40 45
[4619] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4620] 50 55 60
[4621] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4622] 65 70 75 80
[4623] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4624] 85 90 95
[4625] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4626] 100 105 110
[4627] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4628] 115 120 125
[4629] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4630] 130 135 140
[4631] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4632] 145 150 155 160
[4633] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4634] 165 170 175
[4635] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Pro
[4636] 180 185 190
[4637] Gly
[4638] <210> 143
[4639] <211> 166
[4640] <212> PRT

[4641] <213> 人工序列

[4642] <220>

[4643] <223> CD25(22-187)(N70Q+N89Q)

[4644] <400> 143

[4645] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[4646] 1 5 10 15

[4647] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[4648] 20 25 30

[4649] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[4650] 35 40 45

[4651] Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

[4652] 50 55 60

[4653] Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

[4654] 65 70 75 80

[4655] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[4656] 85 90 95

[4657] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[4658] 100 105 110

[4659] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[4660] 115 120 125

[4661] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

[4662] 130 135 140

[4663] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

[4664] 145 150 155 160

[4665] Leu Ile Cys Thr Gly Glu

[4666] 165

[4667] <210> 144

[4668] <211> 166

[4669] <212> PRT

[4670] <213> 人工序列

[4671] <220>

[4672] <223> CD25(22-187)(N89Q)

[4673] <400> 144

[4674] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[4675] 1 5 10 15

[4676] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[4677] 20 25 30

[4678] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[4679] 35 40 45

[4680] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4681] 50 55 60
[4682] Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4683] 65 70 75 80
[4684] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4685] 85 90 95
[4686] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4687] 100 105 110
[4688] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4689] 115 120 125
[4690] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4691] 130 135 140
[4692] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4693] 145 150 155 160
[4694] Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[4695] 165
[4696] <210> 145
[4697] <211> 166
[4698] <212> PRT
[4699] <213> 人工序列
[4700] <220>
[4701] <223> CD25(22-187)(N70Q)
[4702] <400> 145
[4703] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4704] 1 5 10 15
[4705] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4706] 20 25 30
[4707] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4708] 35 40 45
[4709] Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4710] 50 55 60
[4711] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4712] 65 70 75 80
[4713] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4714] 85 90 95
[4715] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4716] 100 105 110
[4717] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4718] 115 120 125

[4719] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4720] 130 135 140
[4721] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4722] 145 150 155 160
[4723] Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[4724] 165
[4725] <210> 146
[4726] <211> 190
[4727] <212> PRT
[4728] <213> 人工序列
[4729] <220>
[4730] <223> CD25(22-211)
[4731] <400> 146
[4732] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4733] 1 5 10 15
[4734] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4735] 20 25 30
[4736] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4737] 35 40 45
[4738] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4739] 50 55 60
[4740] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4741] 65 70 75 80
[4742] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4743] 85 90 95
[4744] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4745] 100 105 110
[4746] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4747] 115 120 125
[4748] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4749] 130 135 140
[4750] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4751] 145 150 155 160
[4752] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4753] 165 170 175
[4754] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
[4755] 180 185 190
[4756] <210> 147
[4757] <211> 189

[4758] <212> PRT
[4759] <213> 人工序列
[4760] <220>
[4761] <223> CD25(22-210)
[4762] <400> 147
[4763] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4764] 1 5 10 15
[4765] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4766] 20 25 30
[4767] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4768] 35 40 45
[4769] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4770] 50 55 60
[4771] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4772] 65 70 75 80
[4773] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4774] 85 90 95
[4775] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4776] 100 105 110
[4777] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4778] 115 120 125
[4779] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4780] 130 135 140
[4781] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4782] 145 150 155 160
[4783] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4784] 165 170 175
[4785] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu
[4786] 180 185
[4787] <210> 148
[4788] <211> 188
[4789] <212> PRT
[4790] <213> 人工序列
[4791] <220>
[4792] <223> CD25(22-209)
[4793] <400> 148
[4794] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4795] 1 5 10 15
[4796] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[4797] 20 25 30
[4798] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4799] 35 40 45
[4800] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4801] 50 55 60
[4802] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4803] 65 70 75 80
[4804] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4805] 85 90 95
[4806] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4807] 100 105 110
[4808] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4809] 115 120 125
[4810] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4811] 130 135 140
[4812] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4813] 145 150 155 160
[4814] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4815] 165 170 175
[4816] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser
[4817] 180 185
[4818] <210> 149
[4819] <211> 187
[4820] <212> PRT
[4821] <213> 人工序列
[4822] <220>
[4823] <223> CD25(22-208)
[4824] <400> 149
[4825] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4826] 1 5 10 15
[4827] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4828] 20 25 30
[4829] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4830] 35 40 45
[4831] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4832] 50 55 60
[4833] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4834] 65 70 75 80
[4835] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[4836] 85 90 95
[4837] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4838] 100 105 110
[4839] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4840] 115 120 125
[4841] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4842] 130 135 140
[4843] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4844] 145 150 155 160
[4845] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4846] 165 170 175
[4847] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
[4848] 180 185
[4849] <210> 150
[4850] <211> 186
[4851] <212> PRT
[4852] <213> 人工序列
[4853] <220>
[4854] <223> CD25(22-207)
[4855] <400> 150
[4856] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4857] 1 5 10 15
[4858] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4859] 20 25 30
[4860] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4861] 35 40 45
[4862] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4863] 50 55 60
[4864] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4865] 65 70 75 80
[4866] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4867] 85 90 95
[4868] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4869] 100 105 110
[4870] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4871] 115 120 125
[4872] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4873] 130 135 140
[4874] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

[4875] 145 150 155 160
[4876] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4877] 165 170 175
[4878] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro
[4879] 180 185
[4880] <210> 151
[4881] <211> 185
[4882] <212> PRT
[4883] <213> 人工序列
[4884] <220>
[4885] <223> CD25(22-206)
[4886] <400> 151
[4887] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4888] 1 5 10 15
[4889] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4890] 20 25 30
[4891] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4892] 35 40 45
[4893] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4894] 50 55 60
[4895] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4896] 65 70 75 80
[4897] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4898] 85 90 95
[4899] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4900] 100 105 110
[4901] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4902] 115 120 125
[4903] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4904] 130 135 140
[4905] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4906] 145 150 155 160
[4907] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4908] 165 170 175
[4909] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg
[4910] 180 185
[4911] <210> 152
[4912] <211> 184
[4913] <212> PRT

[4914] <213> 人工序列
[4915] <220>
[4916] <223> CD25(22-205)
[4917] <400> 152
[4918] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4919] 1 5 10 15
[4920] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4921] 20 25 30
[4922] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4923] 35 40 45
[4924] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4925] 50 55 60
[4926] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4927] 65 70 75 80
[4928] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4929] 85 90 95
[4930] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4931] 100 105 110
[4932] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4933] 115 120 125
[4934] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4935] 130 135 140
[4936] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4937] 145 150 155 160
[4938] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4939] 165 170 175
[4940] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly
[4941] 180
[4942] <210> 153
[4943] <211> 183
[4944] <212> PRT
[4945] <213> 人工序列
[4946] <220>
[4947] <223> CD25(22-204)
[4948] <400> 153
[4949] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4950] 1 5 10 15
[4951] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4952] 20 25 30

[4953] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4954] 35 40 45
[4955] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4956] 50 55 60
[4957] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4958] 65 70 75 80
[4959] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4960] 85 90 95
[4961] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4962] 100 105 110
[4963] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4964] 115 120 125
[4965] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4966] 130 135 140
[4967] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4968] 145 150 155 160
[4969] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[4970] 165 170 175
[4971] Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
[4972] 180
[4973] <210> 154
[4974] <211> 182
[4975] <212> PRT
[4976] <213> 人工序列
[4977] <220>
[4978] <223> CD25(22-203)
[4979] <400> 154
[4980] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[4981] 1 5 10 15
[4982] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[4983] 20 25 30
[4984] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[4985] 35 40 45
[4986] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[4987] 50 55 60
[4988] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[4989] 65 70 75 80
[4990] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[4991] 85 90 95

[4992] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[4993] 100 105 110
[4994] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[4995] 115 120 125
[4996] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[4997] 130 135 140
[4998] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[4999] 145 150 155 160
[5000] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[5001] 165 170 175
[5002] Lys Pro Gln Ala Ser Pro
[5003] 180
[5004] <210> 155
[5005] <211> 181
[5006] <212> PRT
[5007] <213> 人工序列
[5008] <220>
[5009] <223> CD25(22-202)
[5010] <400> 155
[5011] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5012] 1 5 10 15
[5013] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5014] 20 25 30
[5015] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5016] 35 40 45
[5017] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5018] 50 55 60
[5019] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5020] 65 70 75 80
[5021] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5022] 85 90 95
[5023] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5024] 100 105 110
[5025] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5026] 115 120 125
[5027] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5028] 130 135 140
[5029] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5030] 145 150 155 160

[5031] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[5032] 165 170 175
[5033] Lys Pro Gln Ala Ser
[5034] 180
[5035] <210> 156
[5036] <211> 180
[5037] <212> PRT
[5038] <213> 人工序列
[5039] <220>
[5040] <223> CD25(22-201)
[5041] <400> 156
[5042] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5043] 1 5 10 15
[5044] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5045] 20 25 30
[5046] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5047] 35 40 45
[5048] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5049] 50 55 60
[5050] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5051] 65 70 75 80
[5052] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5053] 85 90 95
[5054] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5055] 100 105 110
[5056] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5057] 115 120 125
[5058] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5059] 130 135 140
[5060] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5061] 145 150 155 160
[5062] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[5063] 165 170 175
[5064] Lys Pro Gln Ala
[5065] 180
[5066] <210> 157
[5067] <211> 179
[5068] <212> PRT
[5069] <213> 人工序列

[5070] <220>

[5071] <223> CD25(22-200)

[5072] <400> 157

[5073] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[5074] 1 5 10 15

[5075] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[5076] 20 25 30

[5077] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[5078] 35 40 45

[5079] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

[5080] 50 55 60

[5081] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

[5082] 65 70 75 80

[5083] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

[5084] 85 90 95

[5085] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

[5086] 100 105 110

[5087] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[5088] 115 120 125

[5089] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

[5090] 130 135 140

[5091] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

[5092] 145 150 155 160

[5093] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu

[5094] 165 170 175

[5095] Lys Pro Gln

[5096] <210> 158

[5097] <211> 178

[5098] <212> PRT

[5099] <213> 人工序列

[5100] <220>

[5101] <223> CD25(22-199)

[5102] <400> 158

[5103] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

[5104] 1 5 10 15

[5105] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

[5106] 20 25 30

[5107] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[5108] 35 40 45

[5109] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5110] 50 55 60
[5111] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5112] 65 70 75 80
[5113] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5114] 85 90 95
[5115] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5116] 100 105 110
[5117] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5118] 115 120 125
[5119] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5120] 130 135 140
[5121] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5122] 145 150 155 160
[5123] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[5124] 165 170 175
[5125] Lys Pro
[5126] <210> 159
[5127] <211> 177
[5128] <212> PRT
[5129] <213> 人工序列
[5130] <220>
[5131] <223> CD25(22-198)
[5132] <400> 159
[5133] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5134] 1 5 10 15
[5135] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5136] 20 25 30
[5137] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5138] 35 40 45
[5139] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5140] 50 55 60
[5141] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5142] 65 70 75 80
[5143] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5144] 85 90 95
[5145] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5146] 100 105 110
[5147] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[5148] 115 120 125
[5149] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5150] 130 135 140
[5151] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5152] 145 150 155 160
[5153] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[5154] 165 170 175
[5155] Lys
[5156] <210> 160
[5157] <211> 176
[5158] <212> PRT
[5159] <213> 人工序列
[5160] <220>
[5161] <223> CD25(22-197)
[5162] <400> 160
[5163] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5164] 1 5 10 15
[5165] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5166] 20 25 30
[5167] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5168] 35 40 45
[5169] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5170] 50 55 60
[5171] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5172] 65 70 75 80
[5173] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5174] 85 90 95
[5175] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5176] 100 105 110
[5177] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5178] 115 120 125
[5179] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5180] 130 135 140
[5181] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5182] 145 150 155 160
[5183] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
[5184] 165 170 175
[5185] <210> 161
[5186] <211> 175

[5187] <212> PRT
[5188] <213> 人工序列
[5189] <220>
[5190] <223> CD25(22-196)
[5191] <400> 161
[5192] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5193] 1 5 10 15
[5194] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5195] 20 25 30
[5196] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5197] 35 40 45
[5198] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5199] 50 55 60
[5200] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5201] 65 70 75 80
[5202] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5203] 85 90 95
[5204] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5205] 100 105 110
[5206] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5207] 115 120 125
[5208] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5209] 130 135 140
[5210] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5211] 145 150 155 160
[5212] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[5213] 165 170 175
[5214] <210> 162
[5215] <211> 174
[5216] <212> PRT
[5217] <213> 人工序列
[5218] <220>
[5219] <223> CD25(22-195)
[5220] <400> 162
[5221] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5222] 1 5 10 15
[5223] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5224] 20 25 30
[5225] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

[5226] 35 40 45
[5227] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5228] 50 55 60
[5229] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5230] 65 70 75 80
[5231] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5232] 85 90 95
[5233] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5234] 100 105 110
[5235] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5236] 115 120 125
[5237] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5238] 130 135 140
[5239] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5240] 145 150 155 160
[5241] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
[5242] 165 170
[5243] <210> 163
[5244] <211> 173
[5245] <212> PRT
[5246] <213> 人工序列
[5247] <220>
[5248] <223> CD25(22-194)
[5249] <400> 163
[5250] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5251] 1 5 10 15
[5252] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5253] 20 25 30
[5254] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5255] 35 40 45
[5256] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5257] 50 55 60
[5258] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5259] 65 70 75 80
[5260] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5261] 85 90 95
[5262] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5263] 100 105 110
[5264] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

[5265] 115 120 125
[5266] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5267] 130 135 140
[5268] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5269] 145 150 155 160
[5270] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro
[5271] 165 170
[5272] <210> 164
[5273] <211> 172
[5274] <212> PRT
[5275] <213> 人工序列
[5276] <220>
[5277] <223> CD25(22-193)
[5278] <400> 164
[5279] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5280] 1 5 10 15
[5281] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5282] 20 25 30
[5283] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5284] 35 40 45
[5285] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5286] 50 55 60
[5287] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5288] 65 70 75 80
[5289] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5290] 85 90 95
[5291] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5292] 100 105 110
[5293] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5294] 115 120 125
[5295] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5296] 130 135 140
[5297] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5298] 145 150 155 160
[5299] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe
[5300] 165 170
[5301] <210> 165
[5302] <211> 171
[5303] <212> PRT

[5304] <213> 人工序列
[5305] <220>
[5306] <223> CD25(22-192)
[5307] <400> 165
[5308] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5309] 1 5 10 15
[5310] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5311] 20 25 30
[5312] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5313] 35 40 45
[5314] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5315] 50 55 60
[5316] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5317] 65 70 75 80
[5318] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5319] 85 90 95
[5320] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5321] 100 105 110
[5322] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5323] 115 120 125
[5324] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5325] 130 135 140
[5326] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5327] 145 150 155 160
[5328] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
[5329] 165 170
[5330] <210> 166
[5331] <211> 170
[5332] <212> PRT
[5333] <213> 人工序列
[5334] <220>
[5335] <223> CD25(22-191)
[5336] <400> 166
[5337] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5338] 1 5 10 15
[5339] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5340] 20 25 30
[5341] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5342] 35 40 45

[5343] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5344] 50 55 60
[5345] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5346] 65 70 75 80
[5347] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5348] 85 90 95
[5349] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5350] 100 105 110
[5351] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5352] 115 120 125
[5353] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5354] 130 135 140
[5355] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5356] 145 150 155 160
[5357] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser
[5358] 165 170
[5359] <210> 167
[5360] <211> 169
[5361] <212> PRT
[5362] <213> 人工序列
[5363] <220>
[5364] <223> CD25(22-190)
[5365] <400> 167
[5366] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5367] 1 5 10 15
[5368] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5369] 20 25 30
[5370] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5371] 35 40 45
[5372] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5373] 50 55 60
[5374] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5375] 65 70 75 80
[5376] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5377] 85 90 95
[5378] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5379] 100 105 110
[5380] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5381] 115 120 125

[5382] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5383] 130 135 140
[5384] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5385] 145 150 155 160
[5386] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr
[5387] 165
[5388] <210> 168
[5389] <211> 168
[5390] <212> PRT
[5391] <213> 人工序列
[5392] <220>
[5393] <223> CD25(22-189)
[5394] <400> 168
[5395] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5396] 1 5 10 15
[5397] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5398] 20 25 30
[5399] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5400] 35 40 45
[5401] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5402] 50 55 60
[5403] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5404] 65 70 75 80
[5405] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5406] 85 90 95
[5407] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5408] 100 105 110
[5409] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5410] 115 120 125
[5411] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5412] 130 135 140
[5413] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5414] 145 150 155 160
[5415] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu
[5416] 165
[5417] <210> 169
[5418] <211> 167
[5419] <212> PRT
[5420] <213> 人工序列

[5421] <220>
[5422] <223> CD25(22-188)
[5423] <400> 169
[5424] Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
[5425] 1 5 10 15
[5426] Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
[5427] 20 25 30
[5428] Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
[5429] 35 40 45
[5430] Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
[5431] 50 55 60
[5432] Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
[5433] 65 70 75 80
[5434] Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
[5435] 85 90 95
[5436] Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
[5437] 100 105 110
[5438] Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
[5439] 115 120 125
[5440] Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
[5441] 130 135 140
[5442] Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
[5443] 145 150 155 160
[5444] Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
[5445] 165
[5446] <210> 170
[5447] <211> 1
[5448] <212> PRT
[5449] <213> 人工序列
[5450] <220>
[5451] <223> 接头序列
[5452] <400> 170
[5453] Gly
[5454] 1
[5455] <210> 171
[5456] <211> 2
[5457] <212> PRT
[5458] <213> 人工序列
[5459] <220>

[5460] <223> 接头序列

[5461] <400> 171

[5462] Gly Gly

[5463] 1

[5464] <210> 172

[5465] <211> 2

[5466] <212> PRT

[5467] <213> 人工序列

[5468] <220>

[5469] <223> 接头序列

[5470] <400> 172

[5471] Gly Ser

[5472] 1

[5473] <210> 173

[5474] <211> 3

[5475] <212> PRT

[5476] <213> 人工序列

[5477] <220>

[5478] <223> 接头序列

[5479] <400> 173

[5480] Gly Gly Ser

[5481] 1

[5482] <210> 174

[5483] <211> 4

[5484] <212> PRT

[5485] <213> 人工序列

[5486] <220>

[5487] <223> 接头序列

[5488] <400> 174

[5489] Gly Gly Gly Ser

[5490] 1

[5491] <210> 175

[5492] <211> 5

[5493] <212> PRT

[5494] <213> 人工序列

[5495] <220>

[5496] <223> 接头序列

[5497] <400> 175

[5498] Gly Gly Ser Gly Gly

[5499] 1 5

[5500] <210> 176

[5501] <211> 6

[5502] <212> PRT

[5503] <213> 人工序列

[5504] <220>

[5505] <223> 接头序列

[5506] <400> 176

[5507] Gly Gly Gly Ser Gly Gly

[5508] 1 5

[5509] <210> 177

[5510] <211> 7

[5511] <212> PRT

[5512] <213> 人工序列

[5513] <220>

[5514] <223> 接头序列

[5515] <400> 177

[5516] Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

[5517] 1 5

[5518] <210> 178

[5519] <211> 8

[5520] <212> PRT

[5521] <213> 人工序列

[5522] <220>

[5523] <223> 接头序列

[5524] <400> 178

[5525] Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

[5526] 1 5

[5527] <210> 179

[5528] <211> 9

[5529] <212> PRT

[5530] <213> 人工序列

[5531] <220>

[5532] <223> 接头序列

[5533] <400> 179

[5534] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

[5535] 1 5

[5536] <210> 180

[5537] <211> 10

[5538] <212> PRT
[5539] <213> 人工序列
[5540] <220>
[5541] <223> 接头序列
[5542] <400> 180
[5543] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5544] 1 5 10
[5545] <210> 181
[5546] <211> 11
[5547] <212> PRT
[5548] <213> 人工序列
[5549] <220>
[5550] <223> 接头序列
[5551] <400> 181
[5552] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[5553] 1 5 10
[5554] <210> 182
[5555] <211> 5
[5556] <212> PRT
[5557] <213> 人工序列
[5558] <220>
[5559] <223> 接头序列
[5560] <400> 182
[5561] Glu Pro Lys Ser Ser
[5562] 1 5
[5563] <210> 183
[5564] <211> 4
[5565] <212> PRT
[5566] <213> 人工序列
[5567] <220>
[5568] <223> 接头序列
[5569] <400> 183
[5570] Pro Lys Ser Ser
[5571] 1
[5572] <210> 184
[5573] <211> 3
[5574] <212> PRT
[5575] <213> 人工序列
[5576] <220>

[5577] <223> 接头序列
[5578] <400> 184
[5579] Lys Ser Ser
[5580] 1
[5581] <210> 185
[5582] <211> 2
[5583] <212> PRT
[5584] <213> 人工序列
[5585] <220>
[5586] <223> 接头序列
[5587] <400> 185
[5588] Ser Ser
[5589] 1
[5590] <210> 186
[5591] <211> 1
[5592] <212> PRT
[5593] <213> 人工序列
[5594] <220>
[5595] <223> 接头序列
[5596] <400> 186
[5597] Ser
[5598] 1
[5599] <210> 187
[5600] <211> 226
[5601] <212> PRT
[5602] <213> 人工序列
[5603] <220>
[5604] <223> IgG1-Fc
[5605] <400> 187
[5606] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[5607] 1 5 10 15
[5608] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5609] 20 25 30
[5610] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5611] 35 40 45
[5612] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5613] 50 55 60
[5614] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5615] 65 70 75 80

[5616] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5617] 85 90 95
[5618] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[5619] 100 105 110
[5620] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5621] 115 120 125
[5622] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5623] 130 135 140
[5624] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5625] 145 150 155 160
[5626] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5627] 165 170 175
[5628] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[5629] 180 185 190
[5630] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5631] 195 200 205
[5632] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5633] 210 215 220
[5634] Pro Gly
[5635] 225
[5636] <210> 188
[5637] <211> 226
[5638] <212> PRT
[5639] <213> 人工序列
[5640] <220>
[5641] <223> IgG1.1-Fc
[5642] <400> 188
[5643] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[5644] 1 5 10 15
[5645] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5646] 20 25 30
[5647] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5648] 35 40 45
[5649] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5650] 50 55 60
[5651] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5652] 65 70 75 80
[5653] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5654] 85 90 95

[5655] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
[5656] 100 105 110
[5657] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5658] 115 120 125
[5659] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5660] 130 135 140
[5661] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5662] 145 150 155 160
[5663] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5664] 165 170 175
[5665] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[5666] 180 185 190
[5667] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5668] 195 200 205
[5669] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5670] 210 215 220
[5671] Pro Gly
[5672] 225
[5673] <210> 189
[5674] <211> 226
[5675] <212> PRT
[5676] <213> 人工序列
[5677] <220>
[5678] <223> IgG1.3-Fc
[5679] <400> 189
[5680] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[5681] 1 5 10 15
[5682] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5683] 20 25 30
[5684] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5685] 35 40 45
[5686] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5687] 50 55 60
[5688] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5689] 65 70 75 80
[5690] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5691] 85 90 95
[5692] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[5693] 100 105 110

[5694] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5695] 115 120 125
[5696] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5697] 130 135 140
[5698] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5699] 145 150 155 160
[5700] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5701] 165 170 175
[5702] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[5703] 180 185 190
[5704] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5705] 195 200 205
[5706] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5707] 210 215 220
[5708] Pro Gly
[5709] 225
[5710] <210> 190
[5711] <211> 226
[5712] <212> PRT
[5713] <213> 人工序列
[5714] <220>
[5715] <223> IgG1-Fc(P238K)
[5716] <400> 190
[5717] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[5718] 1 5 10 15
[5719] Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5720] 20 25 30
[5721] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5722] 35 40 45
[5723] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5724] 50 55 60
[5725] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5726] 65 70 75 80
[5727] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5728] 85 90 95
[5729] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[5730] 100 105 110
[5731] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5732] 115 120 125

[5733] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5734] 130 135 140
[5735] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5736] 145 150 155 160
[5737] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5738] 165 170 175
[5739] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[5740] 180 185 190
[5741] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5742] 195 200 205
[5743] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5744] 210 215 220
[5745] Pro Gly
[5746] 225
[5747] <210> 191
[5748] <211> 229
[5749] <212> PRT
[5750] <213> 人工序列
[5751] <220>
[5752] <223> IgG4-Fc
[5753] <400> 191
[5754] Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
[5755] 1 5 10 15
[5756] Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[5757] 20 25 30
[5758] Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[5759] 35 40 45
[5760] Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[5761] 50 55 60
[5762] Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
[5763] 65 70 75 80
[5764] Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[5765] 85 90 95
[5766] Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
[5767] 100 105 110
[5768] Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[5769] 115 120 125
[5770] Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[5771] 130 135 140

[5772] Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[5773] 145 150 155 160
[5774] Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[5775] 165 170 175
[5776] Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
[5777] 180 185 190
[5778] Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[5779] 195 200 205
[5780] Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[5781] 210 215 220
[5782] Leu Ser Leu Gly Lys
[5783] 225
[5784] <210> 192
[5785] <211> 229
[5786] <212> PRT
[5787] <213> 人工序列
[5788] <220>
[5789] <223> IgG4.1-F c
[5790] <400> 192
[5791] Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
[5792] 1 5 10 15
[5793] Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[5794] 20 25 30
[5795] Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[5796] 35 40 45
[5797] Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[5798] 50 55 60
[5799] Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
[5800] 65 70 75 80
[5801] Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[5802] 85 90 95
[5803] Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
[5804] 100 105 110
[5805] Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[5806] 115 120 125
[5807] Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[5808] 130 135 140
[5809] Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[5810] 145 150 155 160

[5811] Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[5812] 165 170 175
[5813] Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
[5814] 180 185 190
[5815] Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[5816] 195 200 205
[5817] Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[5818] 210 215 220
[5819] Leu Ser Leu Gly Lys
[5820] 225
[5821] <210> 193
[5822] <211> 226
[5823] <212> PRT
[5824] <213> 人工序列
[5825] <220>
[5826] <223> IgG1.3-Fc-杵
[5827] <400> 193
[5828] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[5829] 1 5 10 15
[5830] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5831] 20 25 30
[5832] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5833] 35 40 45
[5834] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5835] 50 55 60
[5836] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5837] 65 70 75 80
[5838] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5839] 85 90 95
[5840] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[5841] 100 105 110
[5842] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5843] 115 120 125
[5844] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5845] 130 135 140
[5846] Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5847] 145 150 155 160
[5848] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5849] 165 170 175

[5850] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[5851] 180 185 190
[5852] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5853] 195 200 205
[5854] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5855] 210 215 220
[5856] Pro Gly
[5857] 225
[5858] <210> 194
[5859] <211> 226
[5860] <212> PRT
[5861] <213> 人工序列
[5862] <220>
[5863] <223> IgG1.3-Fc-臼
[5864] <400> 194
[5865] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[5866] 1 5 10 15
[5867] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5868] 20 25 30
[5869] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5870] 35 40 45
[5871] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5872] 50 55 60
[5873] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5874] 65 70 75 80
[5875] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5876] 85 90 95
[5877] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[5878] 100 105 110
[5879] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5880] 115 120 125
[5881] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5882] 130 135 140
[5883] Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5884] 145 150 155 160
[5885] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5886] 165 170 175
[5887] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
[5888] 180 185 190

[5889] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5890] 195 200 205
[5891] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5892] 210 215 220
[5893] Pro Gly
[5894] 225
[5895] <210> 195
[5896] <211> 226
[5897] <212> PRT
[5898] <213> 人工序列
[5899] <220>
[5900] <223> IgG1-Fc(P238K)-杵
[5901] <400> 195
[5902] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[5903] 1 5 10 15
[5904] Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5905] 20 25 30
[5906] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5907] 35 40 45
[5908] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5909] 50 55 60
[5910] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5911] 65 70 75 80
[5912] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5913] 85 90 95
[5914] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[5915] 100 105 110
[5916] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5917] 115 120 125
[5918] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5919] 130 135 140
[5920] Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5921] 145 150 155 160
[5922] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5923] 165 170 175
[5924] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[5925] 180 185 190
[5926] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5927] 195 200 205

[5928] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5929] 210 215 220
[5930] Pro Gly
[5931] 225
[5932] <210> 196
[5933] <211> 226
[5934] <212> PRT
[5935] <213> 人工序列
[5936] <220>
[5937] <223> IgG1-Fc(P238K)-臼
[5938] <400> 196
[5939] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[5940] 1 5 10 15
[5941] Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5942] 20 25 30
[5943] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5944] 35 40 45
[5945] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5946] 50 55 60
[5947] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5948] 65 70 75 80
[5949] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5950] 85 90 95
[5951] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[5952] 100 105 110
[5953] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5954] 115 120 125
[5955] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5956] 130 135 140
[5957] Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5958] 145 150 155 160
[5959] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5960] 165 170 175
[5961] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
[5962] 180 185 190
[5963] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5964] 195 200 205
[5965] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5966] 210 215 220

[5967] Pro Gly
[5968] 225
[5969] <210> 197
[5970] <211> 226
[5971] <212> PRT
[5972] <213> 人工序列
[5973] <220>
[5974] <223> IgG1.1-Fc(AZ1)
[5975] <400> 197
[5976] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[5977] 1 5 10 15
[5978] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[5979] 20 25 30
[5980] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5981] 35 40 45
[5982] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5983] 50 55 60
[5984] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5985] 65 70 75 80
[5986] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5987] 85 90 95
[5988] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
[5989] 100 105 110
[5990] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5991] 115 120 125
[5992] Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5993] 130 135 140
[5994] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5995] 145 150 155 160
[5996] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5997] 165 170 175
[5998] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
[5999] 180 185 190
[6000] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[6001] 195 200 205
[6002] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[6003] 210 215 220
[6004] Pro Gly
[6005] 225

[6006] <210> 198
[6007] <211> 226
[6008] <212> PRT
[6009] <213> 人工序列
[6010] <220>
[6011] <223> IgG1.1-Fc(AZ2)
[6012] <400> 198
[6013] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[6014] 1 5 10 15
[6015] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[6016] 20 25 30
[6017] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[6018] 35 40 45
[6019] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[6020] 50 55 60
[6021] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[6022] 65 70 75 80
[6023] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[6024] 85 90 95
[6025] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
[6026] 100 105 110
[6027] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[6028] 115 120 125
[6029] Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[6030] 130 135 140
[6031] Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[6032] 145 150 155 160
[6033] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro
[6034] 165 170 175
[6035] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[6036] 180 185 190
[6037] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[6038] 195 200 205
[6039] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[6040] 210 215 220
[6041] Pro Gly
[6042] 225
[6043] <210> 199
[6044] <211> 585

[6045] <212> PRT

[6046] <213> 人工序列

[6047] <220>

[6048] <223> 人血清白蛋白

[6049] <400> 199

[6050] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

[6051] 1 5 10 15

[6052] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

[6053] 20 25 30

[6054] Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

[6055] 35 40 45

[6056] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

[6057] 50 55 60

[6058] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

[6059] 65 70 75 80

[6060] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

[6061] 85 90 95

[6062] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

[6063] 100 105 110

[6064] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

[6065] 115 120 125

[6066] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[6067] 130 135 140

[6068] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

[6069] 145 150 155 160

[6070] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

[6071] 165 170 175

[6072] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

[6073] 180 185 190

[6074] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[6075] 195 200 205

[6076] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[6077] 210 215 220

[6078] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[6079] 225 230 235 240

[6080] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[6081] 245 250 255

[6082] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

[6083] 260 265 270

[6084] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[6085] 275 280 285
[6086] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[6087] 290 295 300
[6088] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[6089] 305 310 315 320
[6090] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[6091] 325 330 335
[6092] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[6093] 340 345 350
[6094] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[6095] 355 360 365
[6096] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[6097] 370 375 380
[6098] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[6099] 385 390 395 400
[6100] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[6101] 405 410 415
[6102] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[6103] 420 425 430
[6104] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[6105] 435 440 445
[6106] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[6107] 450 455 460
[6108] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[6109] 465 470 475 480
[6110] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[6111] 485 490 495
[6112] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[6113] 500 505 510
[6114] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[6115] 515 520 525
[6116] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[6117] 530 535 540
[6118] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[6119] 545 550 555 560
[6120] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[6121] 565 570 575
[6122] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

[6123] 580 585

[6124] <210> 200

[6125] <211> 585

[6126] <212> PRT

[6127] <213> 人工序列

[6128] <220>

[6129] <223> HSA(C34S)

[6130] <400> 200

[6131] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

[6132] 1 5 10 15

[6133] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

[6134] 20 25 30

[6135] Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

[6136] 35 40 45

[6137] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

[6138] 50 55 60

[6139] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

[6140] 65 70 75 80

[6141] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

[6142] 85 90 95

[6143] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

[6144] 100 105 110

[6145] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

[6146] 115 120 125

[6147] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[6148] 130 135 140

[6149] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

[6150] 145 150 155 160

[6151] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

[6152] 165 170 175

[6153] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

[6154] 180 185 190

[6155] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[6156] 195 200 205

[6157] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[6158] 210 215 220

[6159] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[6160] 225 230 235 240

[6161] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[6162] 245 250 255
[6163] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[6164] 260 265 270
[6165] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[6166] 275 280 285
[6167] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[6168] 290 295 300
[6169] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[6170] 305 310 315 320
[6171] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[6172] 325 330 335
[6173] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[6174] 340 345 350
[6175] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[6176] 355 360 365
[6177] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[6178] 370 375 380
[6179] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[6180] 385 390 395 400
[6181] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[6182] 405 410 415
[6183] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[6184] 420 425 430
[6185] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[6186] 435 440 445
[6187] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[6188] 450 455 460
[6189] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[6190] 465 470 475 480
[6191] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[6192] 485 490 495
[6193] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[6194] 500 505 510
[6195] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[6196] 515 520 525
[6197] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[6198] 530 535 540
[6199] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[6200] 545 550 555 560

[6201] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[6202] 565 570 575
[6203] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[6204] 580 585
[6205] <210> 201
[6206] <211> 585
[6207] <212> PRT
[6208] <213> 人工序列
[6209] <220>
[6210] <223> HSA(C35A)
[6211] <400> 201
[6212] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[6213] 1 5 10 15
[6214] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[6215] 20 25 30
[6216] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[6217] 35 40 45
[6218] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[6219] 50 55 60
[6220] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[6221] 65 70 75 80
[6222] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[6223] 85 90 95
[6224] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[6225] 100 105 110
[6226] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[6227] 115 120 125
[6228] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[6229] 130 135 140
[6230] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[6231] 145 150 155 160
[6232] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[6233] 165 170 175
[6234] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[6235] 180 185 190
[6236] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[6237] 195 200 205
[6238] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[6239] 210 215 220

[6240] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[6241] 225 230 235 240
[6242] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[6243] 245 250 255
[6244] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[6245] 260 265 270
[6246] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[6247] 275 280 285
[6248] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[6249] 290 295 300
[6250] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[6251] 305 310 315 320
[6252] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[6253] 325 330 335
[6254] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[6255] 340 345 350
[6256] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[6257] 355 360 365
[6258] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[6259] 370 375 380
[6260] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[6261] 385 390 395 400
[6262] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[6263] 405 410 415
[6264] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[6265] 420 425 430
[6266] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[6267] 435 440 445
[6268] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[6269] 450 455 460
[6270] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[6271] 465 470 475 480
[6272] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[6273] 485 490 495
[6274] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[6275] 500 505 510
[6276] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[6277] 515 520 525
[6278] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

[6279] 530 535 540
[6280] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[6281] 545 550 555 560
[6282] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[6283] 565 570 575
[6284] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[6285] 580 585
[6286] <210> 202
[6287] <211> 311
[6288] <212> PRT
[6289] <213> 人工序列
[6290] <220>
[6291] <223> IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A
[6292] <400> 202
[6293] Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[6294] 1 5 10 15
[6295] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[6296] 20 25 30
[6297] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[6298] 35 40 45
[6299] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[6300] 50 55 60
[6301] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[6302] 65 70 75 80
[6303] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[6304] 85 90 95
[6305] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[6306] 100 105 110
[6307] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[6308] 115 120 125
[6309] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[6310] 130 135 140
[6311] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[6312] 145 150 155 160
[6313] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[6314] 165 170 175
[6315] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[6316] 180 185 190
[6317] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

[6318] 195 200 205
[6319] Ser Ala Thr Arg Gln Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu
[6320] 210 215 220
[6321] Gln Lys Glu Arg Lys Ala Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[6322] 225 230 235 240
[6323] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[6324] 245 250 255
[6325] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[6326] 260 265 270
[6327] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[6328] 275 280 285
[6329] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[6330] 290 295 300
[6331] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[6332] 305 310
[6333] <210> 203
[6334] <211> 569
[6335] <212> PRT
[6336] <213> 人工序列
[6337] <220>
[6338] <223> Fc-(IL2(V91K)CD25)2 二价
[6339] <400> 203
[6340] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[6341] 1 5 10 15
[6342] Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[6343] 20 25 30
[6344] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[6345] 35 40 45
[6346] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[6347] 50 55 60
[6348] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[6349] 65 70 75 80
[6350] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[6351] 85 90 95
[6352] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[6353] 100 105 110
[6354] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[6355] 115 120 125
[6356] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[6357] 130 135 140

[6358] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[6359] 145 150 155 160

[6360] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[6361] 165 170 175

[6362] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[6363] 180 185 190

[6364] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[6365] 195 200 205

[6366] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[6367] 210 215 220

[6368] Pro Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr

[6369] 225 230 235 240

[6370] Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met

[6371] 245 250 255

[6372] Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met

[6373] 260 265 270

[6374] Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His

[6375] 275 280 285

[6376] Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn

[6377] 290 295 300

[6378] Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser

[6379] 305 310 315 320

[6380] Asn Ile Asn Lys Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe

[6381] 325 330 335

[6382] Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn

[6383] 340 345 350

[6384] Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly

[6385] 355 360 365

[6386] Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp

[6387] 370 375 380

[6388] Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu

[6389] 385 390 395 400

[6390] Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys

[6391] 405 410 415

[6392] Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser

[6393] 420 425 430

[6394] Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr

[6395] 435 440 445

[6396] Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr
[6397] 450 455 460
[6398] Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly
[6399] 465 470 475 480
[6400] His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile
[6401] 485 490 495
[6402] Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly
[6403] 500 505 510
[6404] Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr
[6405] 515 520 525
[6406] His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
[6407] 530 535 540
[6408] Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro
[6409] 545 550 555 560
[6410] Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[6411] 565
[6412] <210> 204
[6413] <211> 364
[6414] <212> PRT
[6415] <213> 人工序列
[6416] <220>
[6417] <223> IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)
[6418] <400> 204
[6419] Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[6420] 1 5 10 15
[6421] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[6422] 20 25 30
[6423] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[6424] 35 40 45
[6425] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[6426] 50 55 60
[6427] Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[6428] 65 70 75 80
[6429] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[6430] 85 90 95
[6431] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[6432] 100 105 110
[6433] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[6434] 115 120 125

[6435] Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[6436] 130 135 140
[6437] Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
[6438] 145 150 155 160
[6439] Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
[6440] 165 170 175
[6441] Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
[6442] 180 185 190
[6443] Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
[6444] 195 200 205
[6445] Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
[6446] 210 215 220
[6447] Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
[6448] 225 230 235 240
[6449] Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
[6450] 245 250 255
[6451] Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
[6452] 260 265 270
[6453] Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
[6454] 275 280 285
[6455] Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
[6456] 290 295 300
[6457] Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
[6458] 305 310 315 320
[6459] Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
[6460] 325 330 335
[6461] Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
[6462] 340 345 350
[6463] Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
[6464] 355 360

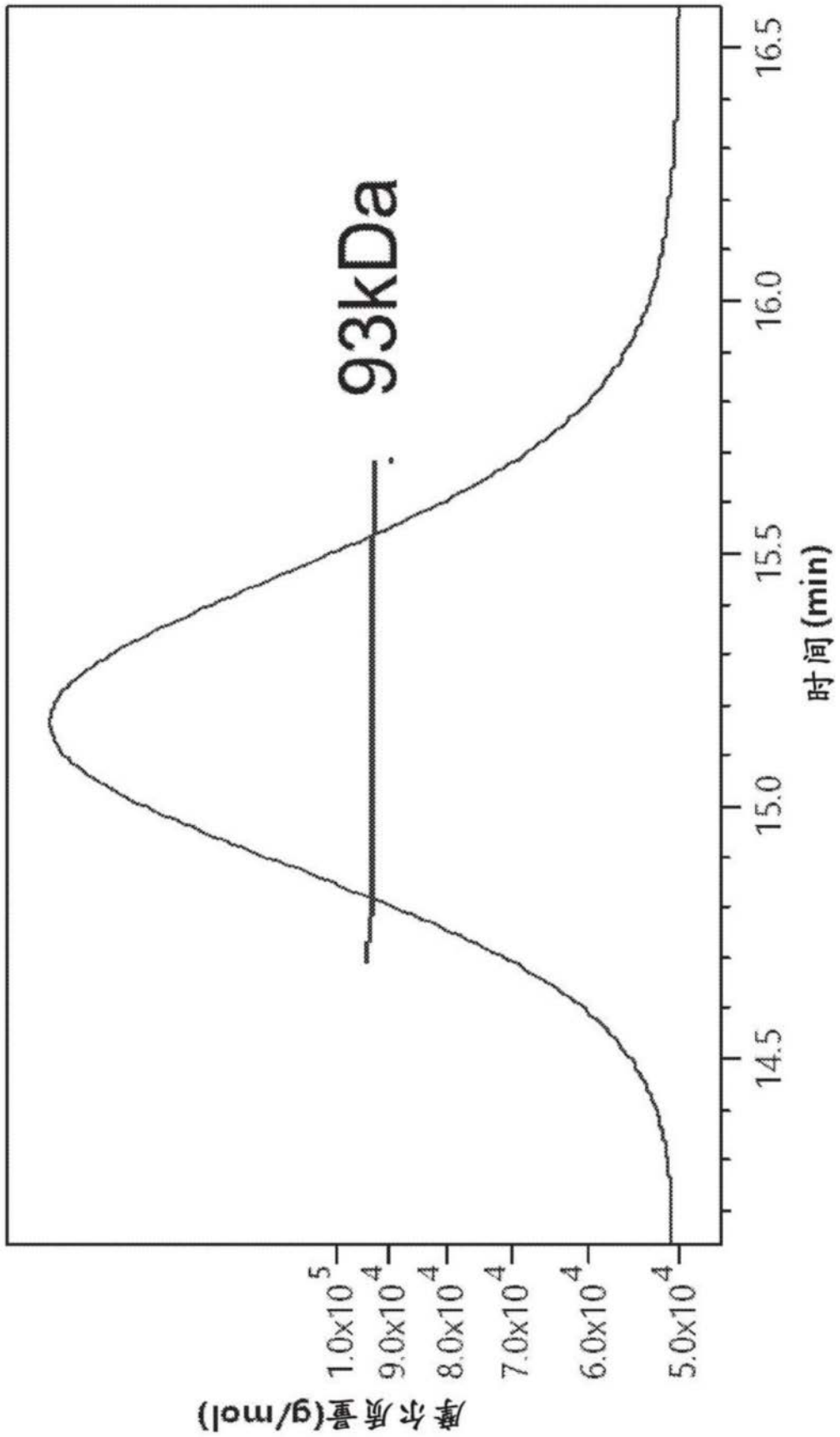
93kDa
摩尔质量(g/mol)
1.0x10^5
9.0x10^4
8.0x10^4
7.0x10^4
6.0x10^4
5.0x10^4
14.5
15.0
15.5
16.0
16.5
时间(min)

图1

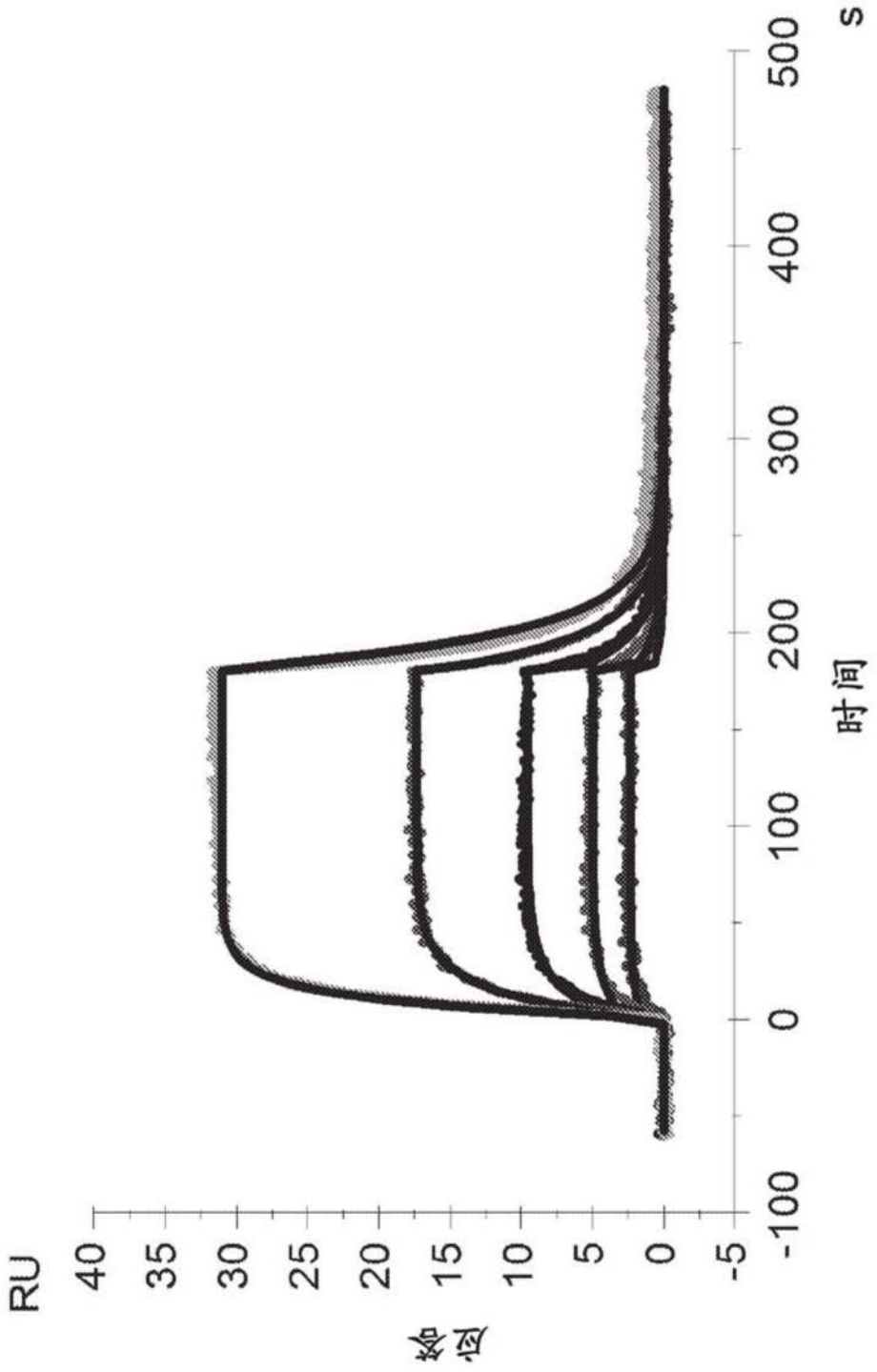

图2

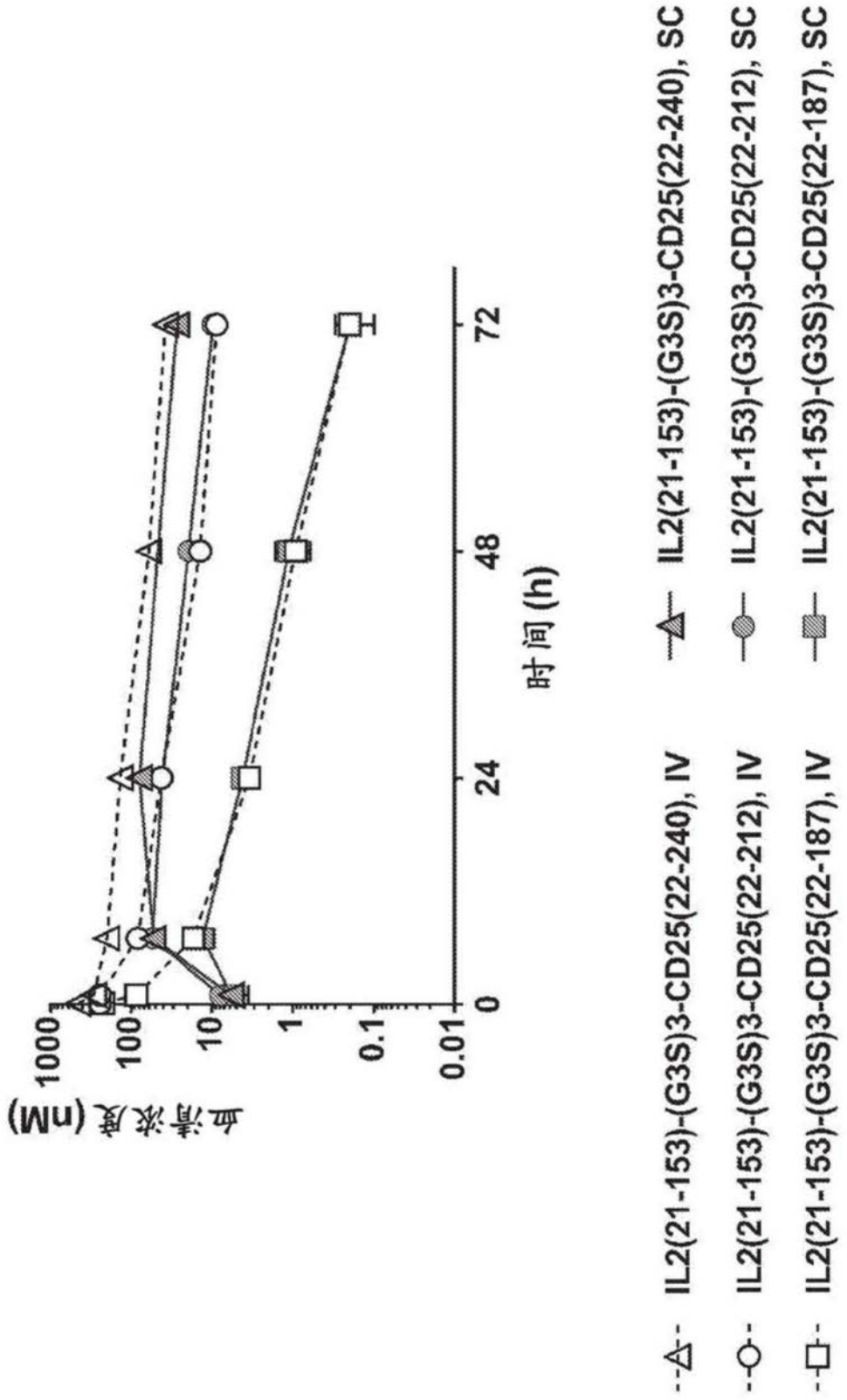
血清浓度 (nM)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
24
48
72
时间 (h)
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187), SC

图3

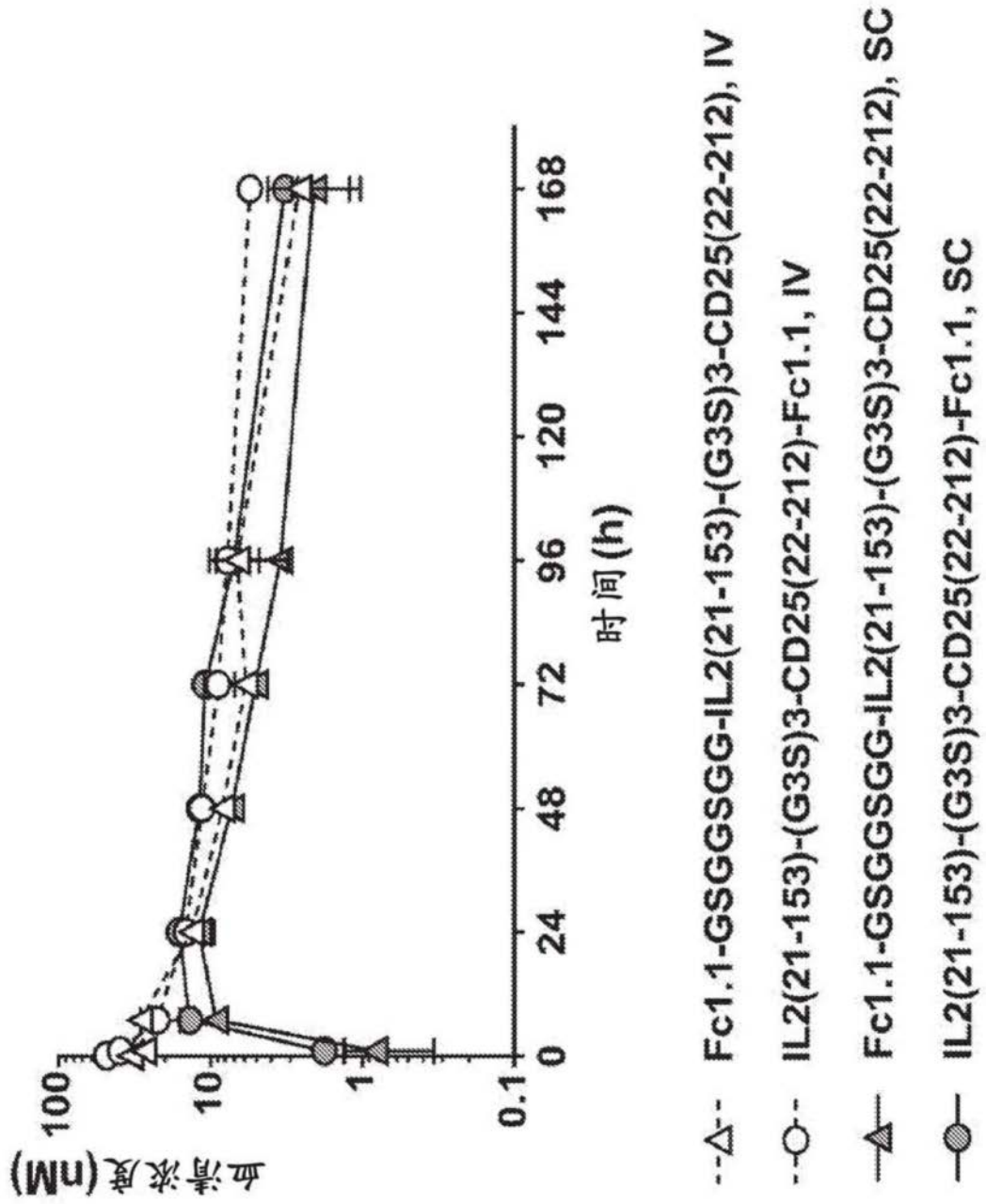
血清浓度(nM)
100
10
1
0.1
0
24
48
72
96
120
144
168
时间(h)
Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1, IV
Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1, SC

图4

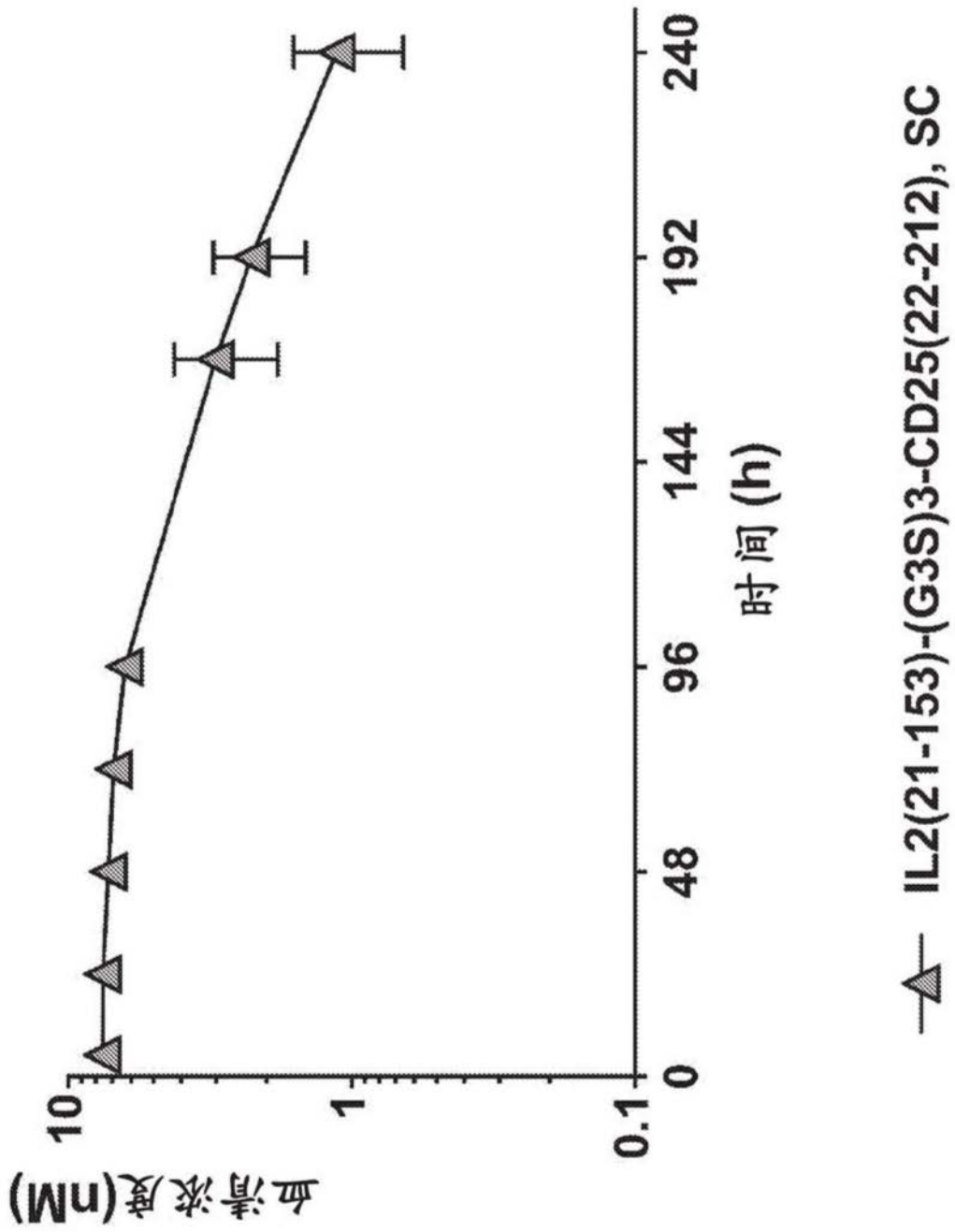
血清浓度(nM)
10
1
0.1
0
48
96
144
192
240
时间 (h)
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC

图5

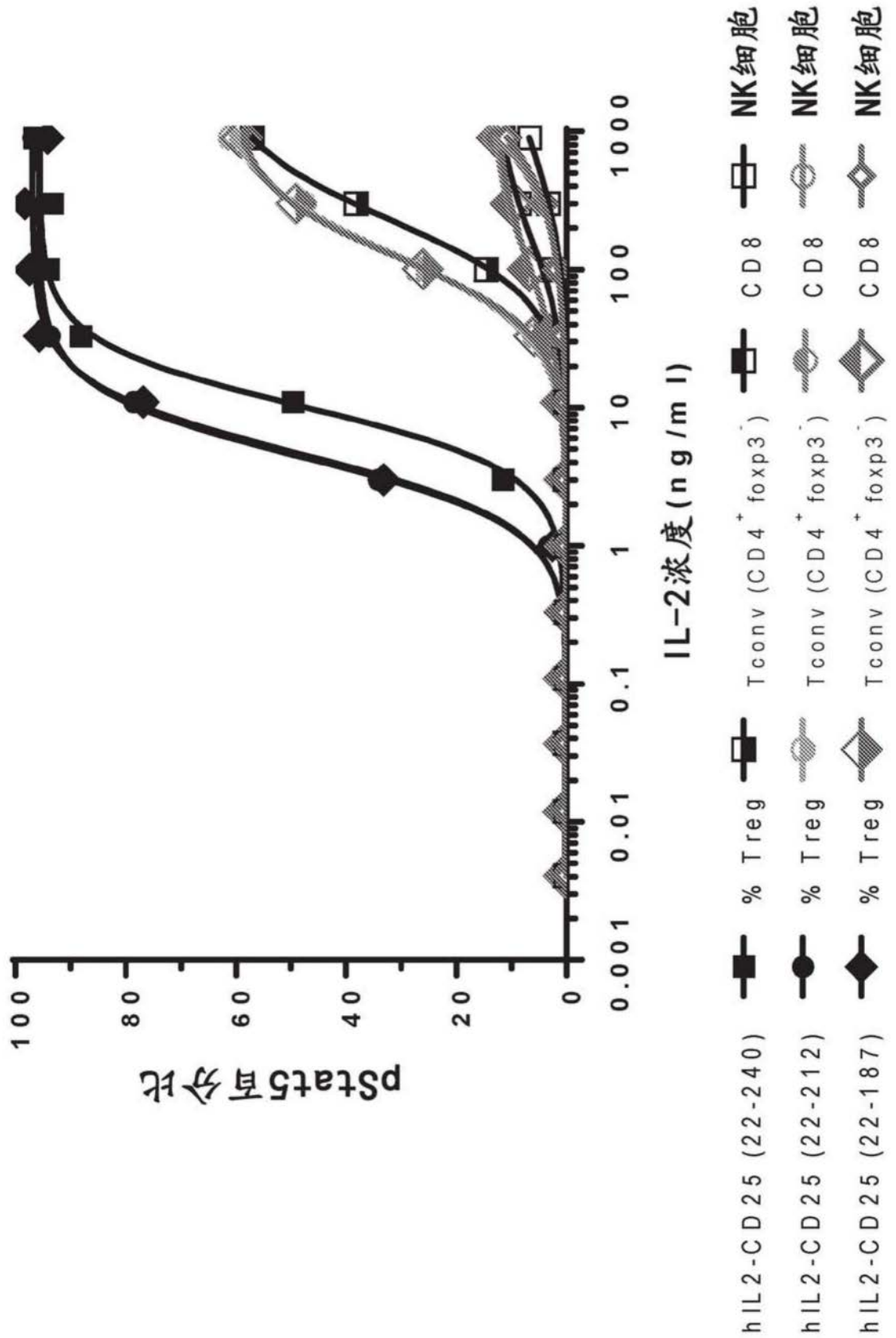
pStat5百分比
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2浓度(ng/ml)
hIL2-CD25 (22-240)
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK细胞
hIL2-CD25 (22-212)
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK细胞
hIL2-CD25 (22-187)
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK细胞

图6

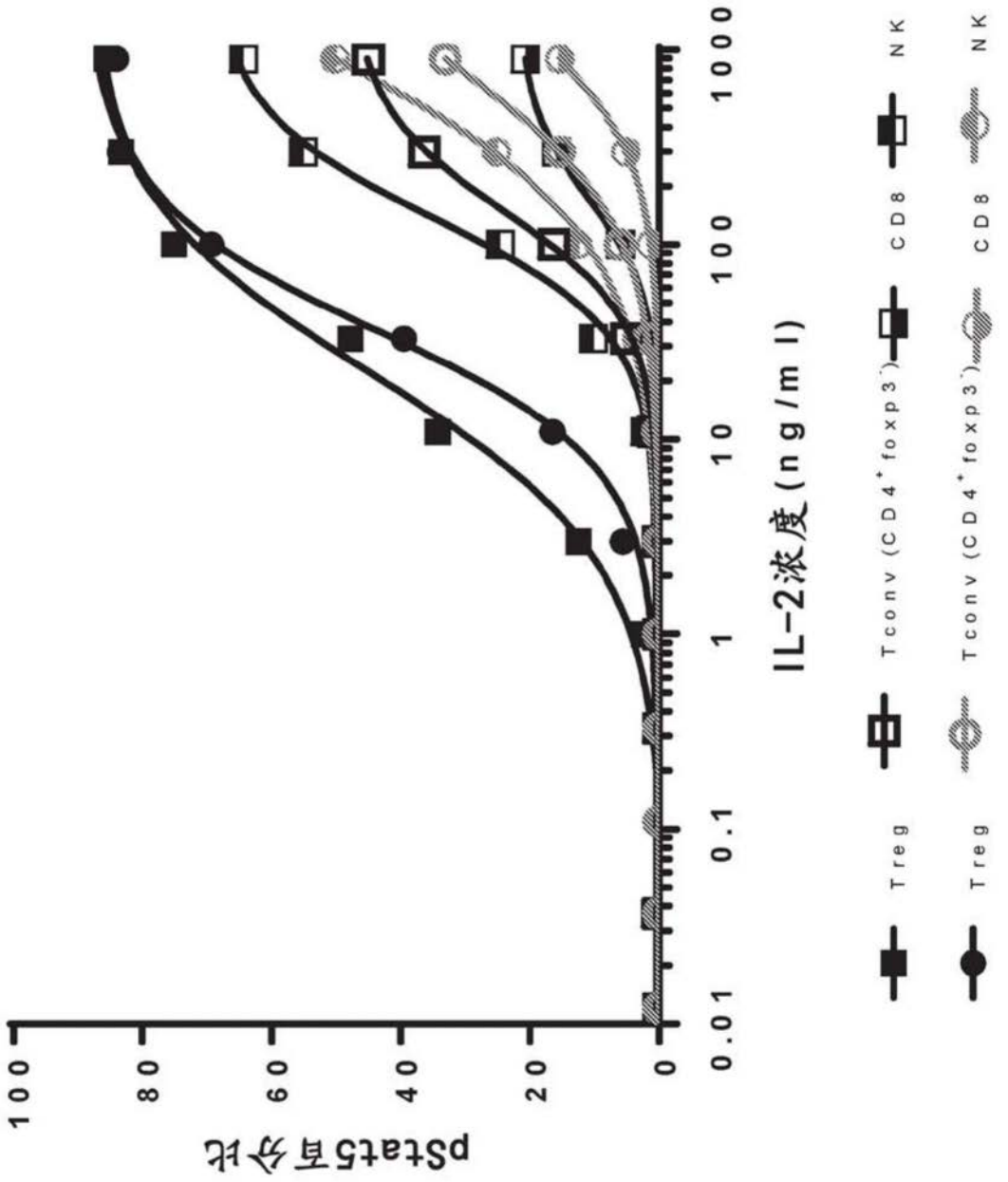
pStat5百分比
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2浓度(ng/ml)
Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK
Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK

图7

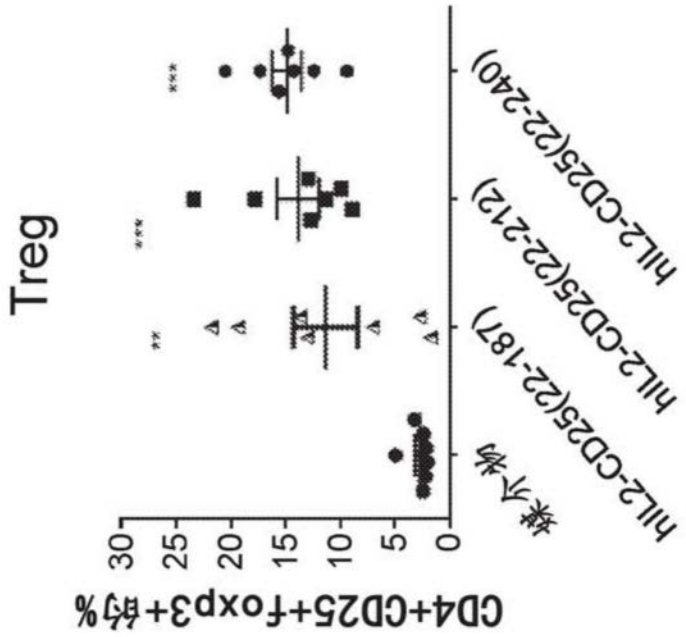
Treg
CD4+CD25+FoxP3+的%
30
25
20
15
10
5
0
**
***
***
媒介物
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)

图8A

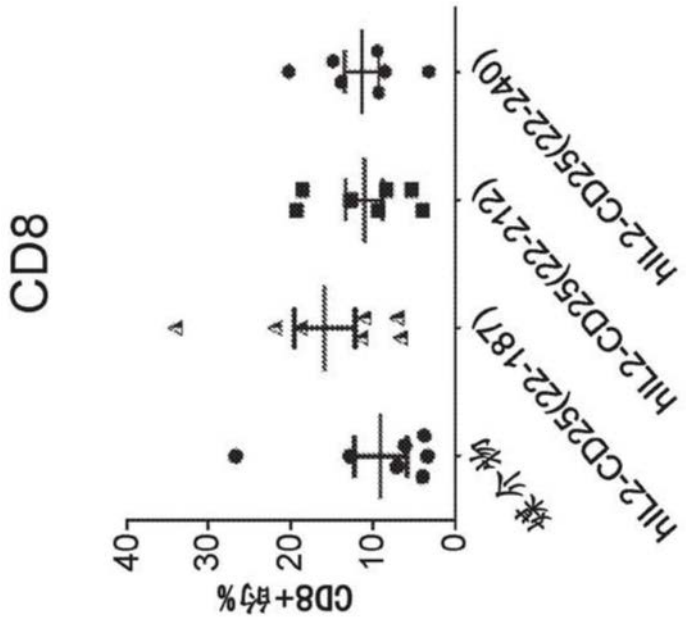
CD8
CD8+的%
40
30
20
10
0
媒介物
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)

图8B

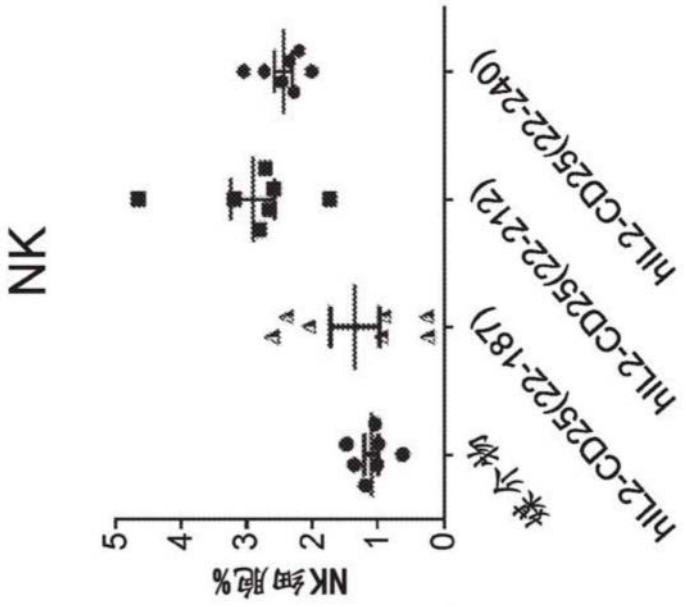
NK
NK细胞%
5
4
3
2
1
0
媒介物
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)

图8C

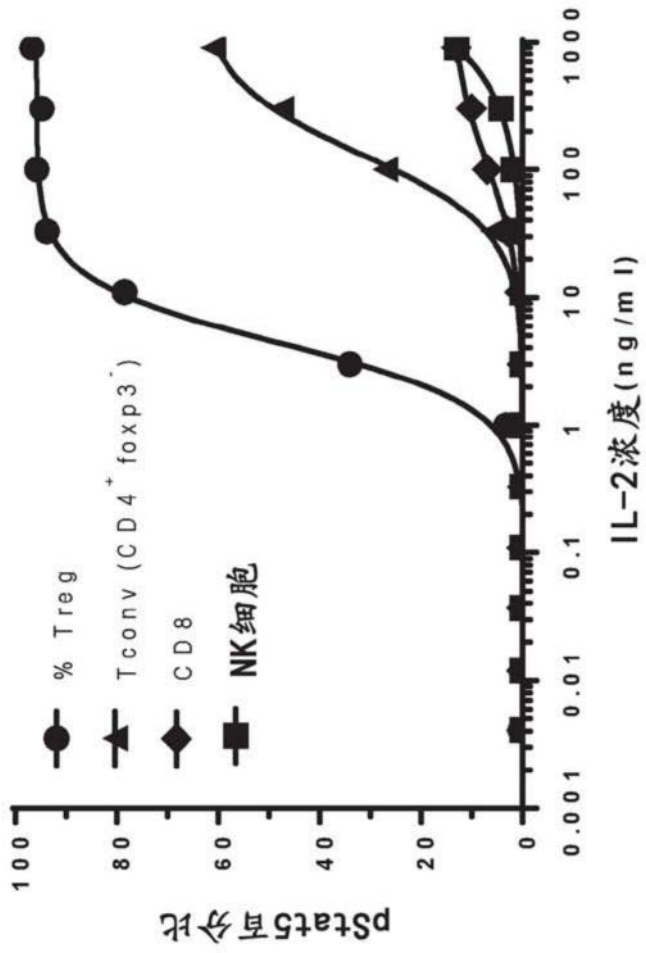
pStat5百分比
100
80
60
40
20
0
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK细胞
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2浓度(ng/ml)

图9A

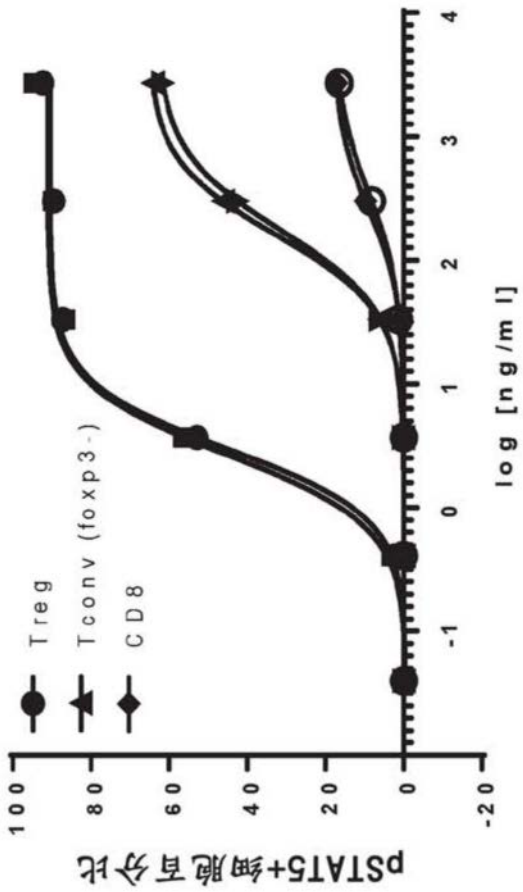
pSTAT5+细胞百分比
100
80
60
40
20
0
-20
-1
0
1
2
3
4
log [ng/ml]
Treg
Tconv (foxp3-)
CD8

图9B

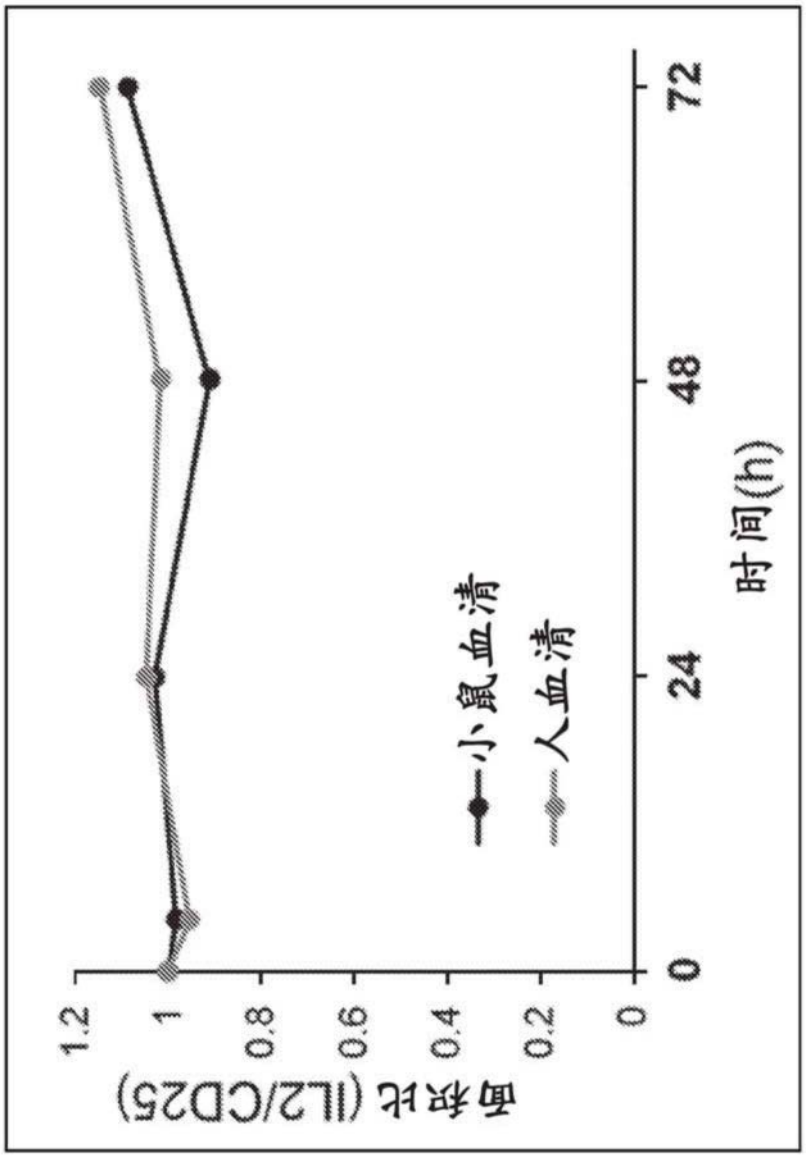

图10

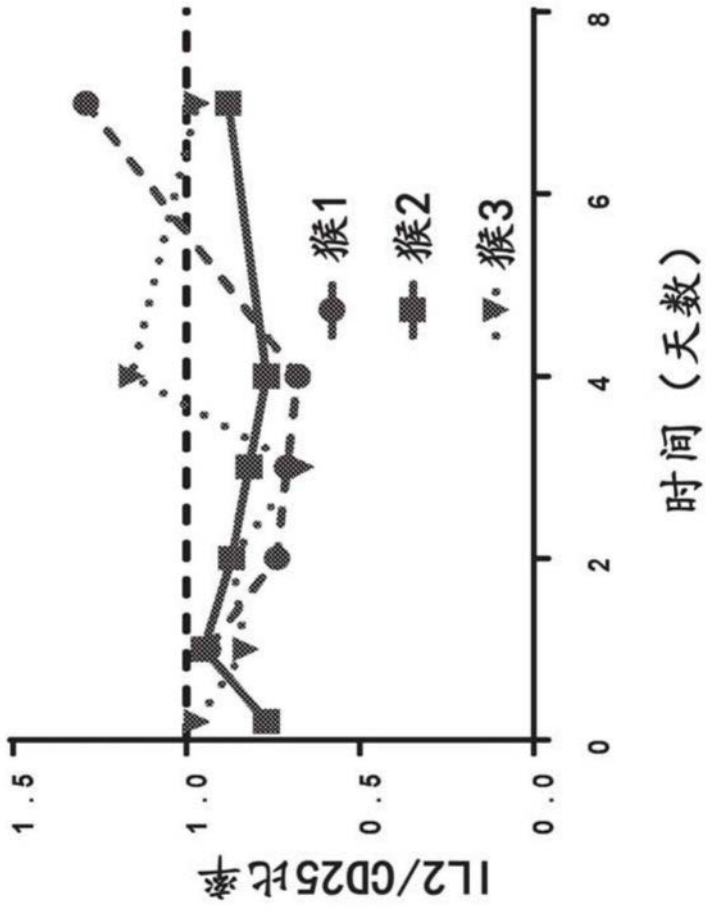

图11