(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116655799 A
(43)申请公布日 2023.08.29

(21)申请号 202310017475.0
(22)申请日 2021.01.14
(30)优先权数据
62/961,537 2020.01.15 US
(62)分案原申请数据
202180021141.X 2021.01.14
(71)申请人 特鲁提诺生物科学公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 P·S·金 E·兰利 H·陆 X·刘
(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所 11517
专利代理师 张璐 顾云峰
(51)Int.Cl.
C07K 19/00(2006.01)
A61K 47/60(2017.01)
A61K 47/68(2017.01)
A61K 47/65(2017.01)
A61P 37/04(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

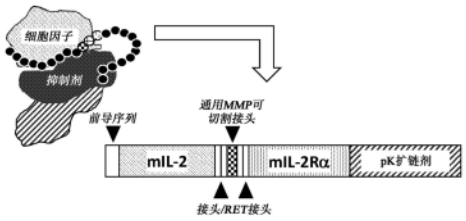
权利要求书1页 说明书116页
序列表（电子公布） 附图63页

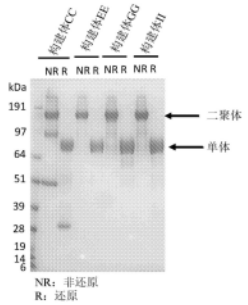
(54)发明名称

包括可切割接头的IL-2细胞因子前药

(57)摘要

本公开涉及蛋白酶可切割细胞因子前药。在一些实施方式中，所述前药包括靶向序列。在一些实施方式中，所述前药包括药代动力学调节剂。





CN 116655799 A

1.一种蛋白酶激活的细胞因子前体,其包括:

细胞因子多肽序列;

能够阻碍所述细胞因子多肽序列的活性的抑制性多肽序列;

位于所述细胞因子多肽序列与所述抑制性多肽序列之间的接头,所述接头包括蛋白酶可切割多肽序列;以及

靶向序列,其中所述靶向序列被配置成与细胞外基质组分、整合素或多配体聚糖结合;或者被配置成以pH敏感方式与细胞外基质组分、IgB(CD79b)、整合素、钙粘素、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖、多配体聚糖或纤连蛋白结合;或者所述靶向序列包括SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列或相对于SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体。

2.根据紧接着的前一权利要求所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其进一步包括药代动力学调节剂。

3.根据紧接着的前一权利要求所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述药代动力学调节剂包括免疫球蛋白恒定结构域。

4.根据权利要求2所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述药代动力学调节剂包括免疫球蛋白Fc区。

5.根据紧接着的前一权利要求所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述免疫球蛋白是人免疫球蛋白。

6.根据权利要求4到5中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述免疫球蛋白是IgG。

7.根据紧接着的前一权利要求所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IgG是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

8.根据权利要求2所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述药代动力学调节剂包括白蛋白。

9.根据紧接着的前一权利要求所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述白蛋白是血清白蛋白。

10.根据权利要求8到9中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述白蛋白是人白蛋白。

包括可切割接头的IL-2细胞因子前药

[0001] 本申请是申请号为202180021141.X、申请日为2021年1月14日、发明名称为“包括可切割接头的IL-2细胞因子前药”的中国发明专利申请的分案申请，原申请为国际申请号为PCT/US2021/013478的国家阶段申请，该国际申请要求申请日为2020年1月15日，申请号为62/961,537的美国临时专利申请的优先权。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求于2020年1月15日提交的美国临时专利申请第62/961,537号的优先权权益，所述美国临时专利申请出于所有目的以全文引用的方式并入本文中。

[0004] 背景技术和发明内容

[0005] 本公开涉及细胞因子治疗领域，特别是包括可切割接头的细胞因子前药。

[0006] 细胞因子(如IL-2)是在维持有效的免疫细胞应答方面发挥着重要作用的强大的免疫生长因子。据报道，IL-2可在癌症患者中诱导完全和持久的消退，但免疫相关副作用降低了其治疗潜力。然而，在一些情况下，全身性IL-2施用可能激活全身的免疫细胞。全身性激活可能导致全身性毒性和免疫细胞(包括对多种表位、抗原和刺激做出应答的免疫细胞)的无差别的激活。IL-2疗法的治疗潜力可能会受到这些严重毒性的影响。

[0007] IL-2疗法还可能经受短的血清半衰期，有时为约几分钟。因此，实现最佳免疫调节作用所需的高剂量IL-2可能导致严重的毒性。

[0008] 因此，需要克服全身性或非靶向功能、严重毒性和药代动力学不良的障碍的细胞因子治疗。本公开旨在满足这些需求中的一个或多个，提供其它益处，或者至少为公众提供有用的选择。

[0009] 在一些方面，提供了蛋白酶激活的细胞因子前体(也称为细胞因子前药)，所述细胞因子前体可以以非活性形式施用于受试者。所述非活性形式可以包括细胞因子多肽序列、蛋白酶可切割多肽序列和能够阻碍所述细胞因子多肽序列的活性的抑制性多肽序列。当所述蛋白酶可切割多肽序列被蛋白酶切割时，此类前药可以被激活。切割所述蛋白酶可切割多肽可以使抑制性多肽序列从细胞因子多肽序列解离。

[0010] 许多肿瘤和肿瘤微环境表现出蛋白酶的异常表达。本公开提供了细胞因子前药，所述细胞因子前药可通过蛋白水解切割激活，使得其在与肿瘤或肿瘤微环境中的蛋白酶接触时被激活。在一些情况下，相对于受试者身体的其它部位或健康组织，这可能导致所述肿瘤或肿瘤微环境中和周围的活性细胞因子增加。可以产生的一个示例性优势是细胞因子梯度的形成。当施用细胞因子前药并且所述细胞因子前药选择性地或优先地在所述肿瘤或肿瘤微环境中被激活并随后从这些区域中扩散到身体的其它部位时，可以形成此类梯度。这些梯度可以增加免疫细胞向所述肿瘤和肿瘤微环境的转运。转运到所述肿瘤的免疫细胞可以浸润所述肿瘤。浸润的免疫细胞可以对所述癌症产生免疫应答。浸润的免疫细胞也可以分泌其自身的趋化因子和细胞因子。所述细胞因子可以在所述肿瘤和肿瘤微环境中具有自分泌和旁分泌作用中的一种或两种。在一些情况下，所述免疫细胞包括T细胞(如T效应子细胞或细胞毒性T细胞)或NK细胞。

[0011] 本文还描述了治疗方法和施用本文所描述的细胞因子前药的方法。此类施用可以

是全身性的或局部的。在一些实施方式中，本文所描述的细胞因子前药被全身性或局部施用以治疗癌症。

[0012] 局部施用的另外的实例是施用细胞因子前药，如IL-2细胞因子前药，以加强T调节细胞。在一些情况下，IL-2细胞因子前药的局部施用是针对炎症区域的。此类方法可以用于治疗慢性自身免疫性疾病和/或炎性疾病。

[0013] 涵盖了以下实施方式。

[0014] 实施方式1是一种蛋白酶激活的细胞因子前体，其包括：

[0015] 细胞因子多肽序列；

[0016] 能够阻碍所述细胞因子多肽序列的活性的抑制性多肽序列；

[0017] 位于所述细胞因子多肽序列与所述抑制性多肽序列之间的接头，所述接头包括蛋白酶可切割多肽序列；以及

[0018] 靶向序列，其中所述靶向序列被配置成与细胞外基质组分、整合素或多配体聚糖结合；或者被配置成以pH敏感方式与细胞外基质组分、IgB(CD79b)、整合素、钙粘素、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖、多配体聚糖或纤连蛋白结合；或者所述靶向序列包括SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列或相对于SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体。

[0019] 实施方式2是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其进一步包括药代动力学调节剂。

[0020] 实施方式3是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述药代动力学调节剂包括免疫球蛋白恒定结构域。

[0021] 实施方式4是根据实施例2所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述药代动力学调节剂包括免疫球蛋白Fc区。

[0022] 实施方式5是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述免疫球蛋白是人免疫球蛋白。

[0023] 实施方式6是根据实施方式4至5中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述免疫球蛋白是IgG。

[0024] 实施方式7是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述IgG是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

[0025] 实施方式8是根据实施方式2所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述药代动力学调节剂包括白蛋白。

[0026] 实施方式9是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述白蛋白是血清白蛋白。

[0027] 实施方式10是根据实施方式8至9中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述白蛋白是人白蛋白。

[0028] 实施方式11是根据实施方式2所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述药代动力学调节剂包括PEG。

[0029] 实施方式12是根据实施方式2所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述药代动力学调节剂包括XTEN。

[0030] 实施方式13是根据实施方式2所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述药代

动力学调节剂包括CTP。

[0031] 实施方式14是根据实施方式2至13中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列位于所述细胞因子多肽序列与所述药代动力学调节剂之间。

[0032] 实施方式15是根据实施方式2至13中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述药代动力学调节剂位于所述细胞因子多肽序列与所述蛋白酶可切割多肽序列之间。

[0033] 实施方式16是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其包括多个蛋白酶可切割多肽序列。

[0034] 实施方式17是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞因子多肽序列侧接有蛋白酶可切割多肽序列。

[0035] 实施方式18是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其具有结构PM-CL-CY-CL-IN(从N端到C端或从C端到N端)，其中PM是所述药代动力学调节剂，每个CL独立地是蛋白酶可切割多肽序列，CY是所述细胞因子多肽序列，并且IN是所述抑制性多肽序列。

[0036] 实施方式19是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其包括所述靶向序列，其中所述靶向序列位于所述细胞因子多肽序列与所述蛋白酶可切割多肽序列或所述蛋白酶可切割多肽序列中的一个之间。

[0037] 实施方式20是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞因子多肽序列包括防止二硫键形成的修饰，并且任选地在其它方面包括野生型序列。

[0038] 实施方式21是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞因子多肽序列与野生型细胞因子多肽序列的序列或表1中的细胞因子多肽序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性。

[0039] 实施方式22是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞因子多肽序列是野生型细胞因子多肽序列。

[0040] 实施方式23是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞因子多肽序列是单体细胞因子，或者其中所述细胞因子多肽序列是二聚体细胞因子多肽序列，所述二聚体细胞因子多肽序列包括(任选地通过多肽接头)共价缔合或非共价缔合的单体。

[0041] 实施方式24是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述抑制性多肽序列包括细胞因子结合结构域。

[0042] 实施方式25是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞因子结合结构域是细胞因子受体的细胞因子结合结构域或纤连蛋白的细胞因子结合结构域。

[0043] 实施方式26是根据实施方式24所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞因子结合结构域是免疫球蛋白细胞因子结合结构域。

[0044] 实施方式27是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述免疫球蛋白细胞因子结合结构域包括与所述细胞因子结合的轻链可变结构域和重

链可变结构域。

[0045] 实施方式28是根据实施方式26至27中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述免疫球蛋白细胞因子结合结构域是scFv、Fab或VHH。

[0046] 实施方式29是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、苏氨酸蛋白酶、谷氨酸蛋白酶、明胶酶、天冬酰胺肽裂解酶、组织蛋白酶、激肽释放酶、纤溶酶、胶原酶、hK1、hK10、hK15、间质溶解素、因子Xa、胰凝乳蛋白酶样蛋白酶、胰蛋白酶样蛋白酶、弹性蛋白酶样蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶样蛋白酶、猕猴桃蛋白酶、菠萝蛋白酶、钙蛋白酶、半胱天冬酶、Mir 1-CP、木瓜蛋白酶、HIV-1蛋白酶、HSV蛋白酶、CMV蛋白酶、凝乳酶、肾素、胃蛋白酶、蛋白裂解酶、豆荚蛋白、疟原虫蛋白酶(plasmepsin)、猪笼草蛋白酶(nepenthesin)、金属外肽酶、金属内肽酶、ADAM 10、ADAM17、ADAM 12、尿激酶纤溶酶原激活剂(uPA)、肠激酶、前列腺特异性靶标(PSA、hK3)、白介素-1b转换酶、凝血酶、FAP(FAP-a)、二肽基肽酶或二肽基肽酶IV(DPPIV/CD26)、II型跨膜丝氨酸蛋白酶(TTSP)、中性粒细胞弹性蛋白酶、蛋白酶3、肥大细胞糜酶、肥大细胞类胰蛋白酶或二肽基肽酶识别。

[0047] 实施方式30是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:700-741中的任何一个的序列或相对于SEQ ID NO:700-741中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体。

[0048] 实施方式31是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被基质金属蛋白酶识别。

[0049] 实施方式32是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-1识别。

[0050] 实施方式33是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-2识别。

[0051] 实施方式34是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-3识别。

[0052] 实施方式35是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-7识别。

[0053] 实施方式36是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-8识别。

[0054] 实施方式37是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-9识别。

[0055] 实施方式38是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-12识别。

[0056] 实施方式39是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-13识别。

[0057] 实施方式40是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-14识别。

[0058] 实施方式41是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列被多于一个MMP识别。

[0059] 实施方式42是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列被MMP-2、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MMP-12、MMP-13和MMP-14中的两个、三个、四个、五个、六个或七个识别。

[0060] 实施方式43是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:80-94中的任何一个的序列或相对于SEQ ID NO:80-90中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0061] 实施方式44是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:80的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0062] 实施方式45是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:81的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0063] 实施方式46是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:82的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0064] 实施方式47是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:83的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0065] 实施方式48是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:84的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0066] 实施方式49是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:85的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0067] 实施方式50是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:86的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0068] 实施方式51是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:87的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0069] 实施方式52是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:88的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0070] 实施方式53是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:89的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0071] 实施方式54是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:90的序列或相对于所述序列具有一个或两个错配的变体序列。

[0072] 实施方式55是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:80-89或90的序列。

[0073] 实施方式56是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:91的序列。

[0074] 实施方式57是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:92的序列。

[0075] 实施方式58是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:93的序列。

[0076] 实施方式59是根据实施方式1至43中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述蛋白酶可切割多肽序列包括SEQ ID NO:94的序列。

[0077] 实施方式60是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列包括SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列或相对于SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体。

[0078] 实施方式61是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列包括SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列。

[0079] 实施方式62是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与变性胶原蛋白结合。

[0080] 实施方式63是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与胶原蛋白结合。

[0081] 实施方式64是根据实施方式62至63中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述胶原蛋白是胶原蛋白I。

[0082] 实施方式65是根据实施方式62至63中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述胶原蛋白是胶原蛋白II。

[0083] 实施方式66是根据实施方式62至63中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述胶原蛋白是胶原蛋白III。

[0084] 实施方式67是根据实施方式62至63中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述胶原蛋白是胶原蛋白IV。

[0085] 实施方式68是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与整合素结合。

[0086] 实施方式69是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述整合素是α1β1整合素、α2β1整合素、α3β1整合素、α4β1整合素、α5β1整合素、α6β1整合素、α7β1整合素、α9β1整合素、α4β7整合素、αvβ3整合素、αvβ5整合素、αIIbβ3整合素、αIIIbβ3整合素、αMβ2整合素或αIIbβ3整合素中的一种或多种。

[0087] 实施方式70是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与冯·维勒布兰德因子(von Willebrand factor)结合。

[0088] 实施方式71是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与IgB结合。

[0089] 实施方式72是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与肝素结合。

[0090] 实施方式73是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与肝素和多配体聚糖、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖或整合素结合，任选地其中所述整合素是α1β1整合素、α2β1整合素、α3β1整合素、α4β1整合素、α5β1整合素、α6β1整合素、α7β1整合素、α9β1整合素、α4β7整合素、αvβ3整合素、αvβ5整合素、αIIbβ3整合素、αIIIbβ3整合素、αMβ2整合素或αIIbβ3整合素中的一种或多种。

[0091] 实施方式74是根据实施方式72至73中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述多配体聚糖是多配体聚糖-1、多配体聚糖-4和多配体聚糖-2(w)中的一种或多种。

[0092] 实施方式75是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与硫酸乙酰肝素蛋白聚糖结合。

[0093] 实施方式76是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与硫酸化糖蛋白结合。

[0094] 实施方式77是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与透明质酸结合。

[0095] 实施方式78是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与纤连蛋白结合。

[0096] 实施方式79是根据实施方式1至61中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列与钙粘素结合。

[0097] 实施方式80是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列被配置成以pH敏感方式与其靶标结合。

[0098] 实施方式81是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列在低于正常生理pH的pH下对其靶标的亲和力高于在正常生理pH下的亲和力，任选地其中所述低于正常生理pH的pH低于7或低于6。

[0099] 实施方式82是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中与在正常生理pH下相比，所述靶向序列在范围为5到7的pH下，例如，5到5.5、5.5到6、6到6.5或6.5到7，对其靶标具有更高的亲和力。

[0100] 实施方式83是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列包括一个或多个组氨酸，例如，1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个组氨酸。

[0101] 实施方式84是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列包括SEQ ID NO:641-662中的任何一个的序列或相对于SEQ ID NO:641-662中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体。

[0102] 实施方式85是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列包括SEQ ID NO:641-662中的任何一个的序列。

[0103] 实施方式86是根据实施方式80至86中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向序列被配置成以pH敏感方式与细胞外基质组分、IgB(CD79b)、整合素、钙粘素、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖、多配体聚糖或纤连蛋白结合。

[0104] 实施方式87是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述细胞外基质组分是透明质酸、肝素、硫酸乙酰肝素或硫酸化糖蛋白。

[0105] 实施方式88是根据实施方式86所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述靶向

序列被配置成以pH敏感方式与纤连蛋白结合。

[0106] 实施方式89是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述细胞因子多肽序列是白介素多肽序列。

[0107] 实施方式90是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述细胞因子多肽序列能够与包括CD132的受体结合。

[0108] 实施方式91是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述细胞因子多肽序列能够与包括CD122的受体结合。

[0109] 实施方式92是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述细胞因子多肽序列能够与包括CD25的受体结合。

[0110] 实施方式93是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述细胞因子多肽序列是IL-2多肽序列。

[0111] 实施方式94是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2多肽序列与SEQ ID NO:1-4中的任何一个的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%的同一性。

[0112] 实施方式95是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2多肽序列包括SEQ ID NO:1-4中的任何一个的序列。

[0113] 实施方式96是根据实施方式93至95中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2多肽序列是人IL-2多肽序列。

[0114] 实施方式97是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2多肽序列包括SEQ ID NO:1的序列。

[0115] 实施方式98是根据实施方式93至95中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2多肽序列包括SEQ ID NO:2的序列。

[0116] 实施方式99是根据实施方式93至98中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述抑制性多肽序列包括IL-2受体(IL-2R)的IL-2结合结构域。

[0117] 实施方式100是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述抑制性多肽序列包括与SEQ ID NO:10-19中的任何一个的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%的同一性的氨基酸序列。

[0118] 实施方式101是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2R是人IL-2R。

[0119] 实施方式102是根据实施方式93至98中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述抑制性多肽序列包括IL-2结合免疫球蛋白结构域。

[0120] 实施方式103是根据实施方式93至98中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2结合免疫球蛋白结构域是人IL-2结合免疫球蛋白结构域。

[0121] 实施方式104是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2结合免疫球蛋白结构域包括:包含分别具有SEQ ID NO:33、34和35的序列的高变区(HVR)HVR-1、HVR-2和HVR-3的VL区以及包含分别具有SEQ ID NO:36、37和38的序列的HVR-1、HVR-2和HVR-3的VH区。

[0122] 实施方式105是根据实施方式102至104中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2结合免疫球蛋白结构域包括:包含与SEQ ID NO:32的序列具有至少80%、

85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性的氨基酸序列的VL区以及包含与SEQ ID NO:33的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性的氨基酸序列的VH区。

[0123] 实施方式106是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述IL-2结合免疫球蛋白结构域包括:包含SEQ ID NO:32的序列的VL区以及包含SEQ ID NO:33的序列的VH区。

[0124] 实施方式107是根据实施方式102至104中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述IL-2结合免疫球蛋白结构域是scFv。

[0125] 实施方式108是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述IL-2结合免疫球蛋白结构域包括与SEQ ID NO:30或31的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性的氨基酸序列。

[0126] 实施方式109是根据紧接着的前一实施方式所述的蛋白酶激活的细胞因子前体，其中所述IL-2结合免疫球蛋白结构域包括SEQ ID NO:30或31的序列。

[0127] 实施方式110是根据实施方式1所述的蛋白酶激活的细胞因子前体,其包括SEQ ID NO:803-852中的任何一个的序列。

[0128] 实施方式111是一种药物组合物,其包含根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体。

[0129] 实施方式112是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体或药物组合物,其用于在疗法中使用。

[0130] 实施方式113是根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体或药物组合物,其用于治疗癌症。

[0131] 实施方式114是一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用根据前述实施方式中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体或药物组合物。

[0132] 实施方式115是一种根据实施方式1至110中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体或药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0133] 实施方式116是根据实施方式113至115中任一项所述的方法、用途或供使用的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述癌症是实体瘤。

[0134] 实施方式117是根据紧接着的前一实施方式所述的方法、用途或供使用的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述实体瘤是转移性的和/或不可切除的。

[0135] 实施方式118是根据实施方式113至117中任一项所述的方法、用途或供使用的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述癌症是表达PD-L1的癌症。

[0136] 实施方式119是根据实施方式113至118中任一项所述的方法、用途或供使用的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述癌症是黑色素瘤、结直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌或胃肠道癌、淋巴瘤、结肠癌或结直肠癌、子宫内膜癌、甲状腺癌或膀胱癌。

[0137] 实施方式120是根据实施方式113至119中任一项所述的方法、用途或供使用的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述癌症是高度微卫星不稳定性癌症。

[0138] 实施方式121是根据实施方式113至120中任一项所述的方法、用途或供使用的蛋白酶激活的细胞因子前体,其中所述癌症是错配修复缺陷型的。

[0139] 实施方式122是一种编码根据实施方式1至110中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体的核酸。

[0140] 实施方式123是一种表达载体,其包括根据实施方式121所述的核酸。

[0141] 实施方式124是一种宿主细胞,其包括根据实施方式121所述的核酸或根据实施方式122所述的载体。

[0142] 实施方式125是一种产生蛋白酶激活的细胞因子前体的方法,所述方法包括在产生所述蛋白酶激活的细胞因子前体的条件下培养根据实施方式124所述的宿主细胞。

[0143] 实施方式126是根据紧接着的前一实施方式所述的方法,其进一步包括分离所述蛋白酶激活的细胞因子前体。

[0144] 实施方式127是一种加强T调节细胞和/或减少炎症或自身免疫活性的方法,所述方法包括向受试者的所关注区域,例如所述受试者的炎症区域施用根据实施方式1至110中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体。

[0145] 实施方式128是一种治疗受试者的炎症或自身免疫性疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者的所关注区域,例如所述受试者的炎症或自身免疫活性区域施用根据实施方式1至110中任一项所述的蛋白酶激活的细胞因子前体。

[0146] 附图简要说明

[0147] 图1A示出了示例性细胞因子前药结构和表征纯化的细胞因子前药(构建体B)的SDS-PAGE凝胶的图示。缩写:PM,药代动力学调节剂(pharmacokinetic modulator);HMW,高分子量(high molecular weight)。

[0148] 图1B示出了示例性细胞因子前药结构以及表征纯化的细胞因子前药(构建体E)的SDS-PAGE凝胶和蛋白质印迹的图示,所述示例性细胞因子前药结构包括人IL-2和IL-2Rα序列和MMP可切割接头。缩写:Hu,人(human);MMP,基质金属蛋白酶(matrix metalloprotease);其它缩写同上。

[0149] 图1C示出了示例性细胞因子前药结构和表征指定的纯化的细胞因子前药的SDS-PAGE凝胶的图示,所述示例性细胞因子前药结构包括鼠类IL-2和IL-2Rα序列、MMP可切割接头、包括靶向序列的另外的接头(“RET接头”)。

[0150] 图1D示出了示例性细胞因子前药结构和表征指定的纯化的细胞因子前药的SDS-PAGE凝胶的图示,所述示例性细胞因子前药结构包括人IL-2和IL-2Rα序列、MMP可切割接头、包括靶向序列的另外的接头(“RET接头”)。

[0151] 图2A展示了蛋白酶对细胞因子前药的切割反应,并且示出了在1小时、2小时和4小时以及过夜的时间点MMP-9切割构建体A的蛋白质印迹证据。所述蛋白质印迹中的每个蛋白质印迹包括+MMP消化泳道和-MMP模拟消化泳道。在1小时时可检测到切割产物,而在过夜+MMP时间点基本上检测不到全长细胞因子前药。

[0152] 图2B展示了蛋白酶对包括药代动力学调节剂的细胞因子前药的切割反应,并且示出了在1小时、4小时和20小时的时间点MMP-9切割构建体B的蛋白质印迹证据。所述蛋白质印迹中的每个蛋白质印迹包括+MMP消化泳道和-MMP模拟消化泳道。在1小时时可检测到切割产物,并且全长细胞因子前药在20小时+MMP时间点仅产生微弱条带。

[0153] 图2C至E展示了蛋白酶对包括药代动力学调节剂的细胞因子前药的切割反应,并且示出了在1小时、4小时和22小时的时间点MMP-9切割构建体E的蛋白质印迹证据(2C);以

及在18小时时切割指定的构建体的蛋白质印迹证据(2D和2E)。图2E中未示出实质性切割的构建体BBB、CCC和FFF扰乱了MMP位点。每个所述蛋白质印迹包括+MMP9消化泳道和-MMP9模拟消化泳道。在1小时时可检测到切割产物,并且全长细胞因子前药在22小时+MMP时间点基本不产生条带。

[0154] 图3A示出了使用构建体A或其切割产物的CTLL-2增殖测定的结果。构建体A被MMP-9切割,并且将所得产物与CTLL-2细胞一起温育。数据显示,MMP-9处理的构建体A以剂量依赖性方式刺激CTLL-2细胞增殖,并且表现出的活性是未处理的构建体A的活性的10倍(EC50比较)。EC50值以nM为单位示出。

[0155] 图3B示出了使用构建体B或其切割产物的CTLL-2增殖测定的结果。构建体B被MMP-9切割,并且将所得产物与CTLL-2细胞一起温育。为了比较,mIL2也与CTLL-2细胞一起温育。数据显示,MMP-9处理的构建体B以剂量依赖性方式刺激CTLL-2细胞增殖。未切割的构建体B具有最小的刺激性。EC50值以nM为单位示出。

[0156] 图3C至图3J示出了HEK-Blue™IL2测定结果。用不同浓度的以下物质处理细胞:构建体E,所述构建体E未切割或用mMMP9切割22小时(图3C);人IL2(图3D);构建体B,所述构建体B未切割或用mMMP9切割19小时;构建体J、构建体K、构建体F、构建体L或构建体I,所述构建体各自未切割或用mMMP9切割22小时(分别为图3E至J);并且基于OD630作为IL-2刺激的读数确定EC50。

[0157] 图3K至图3L示出了使用构建体M、构建体N或其切割产物的CTLL-2增殖测定的结果。通过MMP-2切割2小时,并且将所得产物与CTLL-2细胞一起温育。数据显示,MMP-2处理的构建体M和构建体N以剂量依赖性方式刺激CTLL-2细胞增殖。EC50值以nM为单位示出。

[0158] 图3M示出了比较构建体E、构建体M和构建体N的考马斯染色(Coomassie-stained)的SDS-PAGE结果。构建体M和构建体N显示出降低的聚集以及更高的稳定性和均质性。

[0159] 图3N至图3P示出了使用构建体O、构建体P、构建体Q或其切割产物的CTLL-2增殖测定的结果。通过MMP2切割2小时,并且将所得产物与CTLL-2细胞一起温育。数据显示,MMP2处理的构建体O、构建体P和构建体Q以剂量依赖性方式刺激CTLL-2细胞增殖。EC50值以nM为单位示出。

[0160] 图3Q至图3Y示出了使用指定的构建体或其切割产物的HEK-Blue™IL2测定的结果。通过MMP9切割18小时或22小时,并且将所得产物与HEK-Blue™IL2细胞一起温育。基于OD630作为IL-2刺激的读数确定EC50。数据显示,MMP9处理的构建体以剂量依赖性方式刺激IL-2。EC50值以nM为单位示出。

[0161] 图4展示了使用构建体B的血清稳定性测定并提供了其结果,表明构建体B与从对照或荷瘤收集的血清一起温育超过72小时是稳定的。使用mIL2捕获抗体和mIL2Rα检测抗体,通过定量夹心ELISA测量浓度。

[0162] 图5示出了构建体B在小鼠中的研究设计、图形结果和药代动力学(PK)参数。使用WinNonlin 7.0(非区室模型)计算PK参数。

[0163] 图6A示出了在第-7天皮下注射MC38细胞并且然后在第0天到第4天和第7天到第11天中的每一天用构建体A、媒剂或人IL-2处理的小鼠中构建体A的瘤内给药的研究设计和结果。构建体A基本上抑制了肿瘤生长。相比之下,相对于媒剂,人IL-2对肿瘤对照产生不利影响。在对照组和人IL-2组中观察到归因于肿瘤生长的坏死。

[0164] 图6B示出了一种研究设计，其中如图6A中处理的小鼠在第40天用2×10^6个MC38细胞再激发。肿瘤生长被拒绝，表明处理产生了持久性应答，包括抗肿瘤免疫记忆。

[0165] 图7A示出了在第-10天皮下注射MC38细胞的小鼠中的研究设计，其中在三周时间段期间每三天一次(Q3D)静脉内施用构建体B或媒剂(总共施用八次)。基本上没有观察到全身性毒性。构建体B处理的小鼠在处理开始后几乎没有示出肿瘤生长，相比之下，媒剂处理的小鼠肿瘤生长持续到第21天。在第21天后，由于肿瘤体积超过3000mm^3，若干只媒剂处理的小鼠被安乐死，并且因此未示出媒剂处理的小鼠的后续肿瘤体积数据，因为这将偏向于相对于持续到第21天的群体平均值而言肿瘤体积较小的小鼠。

[0166] 图7B示出了与图7A相同的小鼠的体重数据。在用构建体B处理期间，小鼠体重基本上恒定，与缺乏任何明显毒性一致。

[0167] 图8示出了上文描述的图7A研究中媒剂组组织在第21天和构建体B处理的肿瘤在第25天的肿瘤浸润免疫细胞的免疫组织化学结果。与媒剂处理的小鼠相比，在构建体B处理的小鼠中观察到所有被测类型的免疫细胞显著更多。另外，具有与效应子T细胞表型一致的标志物的细胞比例显著大于CD4+Foxp3+(调节性T)细胞的比例。通过Prism 5.0软件，使用非配对t检验进行统计分析。计算组间的P值，并且p值<0.05的差异被认为是统计学上显著的。*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001。

[0168] 图9示出了在MMPSense 680™注射后在指定的荷瘤小鼠模型中以随时间推移的荧光强度表示的MMP活性的定量。

[0169] 图10A至图10D示出了用媒剂或构建体B处理的小鼠随时间推移的肿瘤体积，如指定的癌症模型中所指示的。

[0170] 图11A至图11D示出了用媒剂或构建体B处理的小鼠随时间推移的肿瘤体积(11A)和指定的酶水平(11B至D)，如B16F10黑色素瘤模型中所指示的。

[0171] 图12A至图12D示出了用媒剂或构建体B处理的小鼠随时间推移的肿瘤体积(12A)和指定的酶水平(12B至D)，如RM-1前列腺癌模型中所指示的。

[0172] 图13A示出了在指定组中的如针对图9所描述的测量的MMP活性。

[0173] 图13B至图13C示出了用媒剂或构建体B处理的小鼠随时间推移的肿瘤体积，如指定的癌症模型中所指示的。

[0174] 图14A至B示出了指定接头的示意性结构以及包括肝素结合基序的MMP接头肽与肝素-琼脂糖珠粒的结合。

[0175] 图14C示出了指定构建体的结构的草图和指定构建体的肝素结合测定结果。除非指明在pH 6下进行，否则测定在pH 7.5下进行。

[0176] 图14D示出了指定接头的示意性结构和指定肽在指定pH值下与纤连蛋白的结合。

[0177] 图14E示出了指定构建体的纤连蛋白结合测定结果。除非指明在pH 6下进行，否则测定在pH 7.5下进行。

[0178] 图14F示出了指定接头的示意性结构以及包括胶原蛋白结合基序的MMP接头肽与和胶原蛋白IV缔合的珠粒的结合。

[0179] 图14G示出了来自用指定构建体进行的下拉测定的输入级分(I)、上清液级分(S)、胶原蛋白结合级分(C)和对照琼脂糖结合级分(A)的抗mIL2蛋白质印迹。

[0180] 图15A示出了用如实施例15中所描述的指定构建体处理的小鼠的荧光图像。

[0181] 图15B示出了在用如实施例15中所描述的指定构建体处理的小鼠中测量的肿瘤相关荧光。

[0182] 图15C至H示出了如实施例16中所描述的制备的肿瘤裂解物中存在的指定构建体的量。此处以及贯穿全文，mpk意指mg/kg。

[0183] 图15I至K示出了如实施例16中所描述的制备的血清样品中存在的指定构建体的量。

[0184] 图16A至B示出了用如实施例17中所描述的指定构建体处理的组的随时间推移的肿瘤体积。

[0185] 图17A至B示出了用如实施例18中所描述的指定构建体处理后肿瘤中的IFN-γ水平。

[0186] 图18A至E示出了细胞因子前药中元件的示例性布置，所述细胞因子前药包括细胞因子多肽序列(CYTOKINE)、药代动力学调节剂(PK EXT)、接头中的蛋白酶可切割多肽序列(PRO-LNK)、抑制性多肽序列(INHIBITOR)以及在一些情况下一个或多个靶向序列(RET LNK)或另外的接头(LNK)的各种组合。所述靶向序列在深色背景上示出为白色文本。在图18A和18C中，所述药代动力学调节剂与所述抑制性多肽序列位于所述蛋白酶可切割序列的同一侧，使得其将不影响所述细胞因子多肽序列的药代动力学。在图18B和18D中，所述药代动力学调节剂与所述细胞因子多肽序列位于所述蛋白酶可切割序列的同一侧，使得其将影响所述细胞因子多肽序列的药代动力学。在图18E中，蛋白酶可切割序列存在于所述药代动力学调节剂的每一侧。此布置可以产生中间结果，因为所述药代动力学调节剂与所述细胞因子多肽序列的分离将比与所述抑制性多肽序列的分离更慢。

具体实施方式

[0187] 本说明书描述了本公开的示例性实施方式和应用。然而，本公开不限于这些示例性实施方式和应用或示例性实施方式和应用的操作方式或在本文中描述的方式。术语“或”以开放性意义使用，也就是说，相当于“和/或”，除非上下文另外明确指示。注意，如在本说明书和所附权利要求中所使用的，单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“所述(the)”以及任何词语的任何单数使用包含复数指示物，除非明确和确切地限于一个指示物。如本文所使用的，术语“包括”、“包含”和其语法变体旨在是非限制性的，使得列表中项的列举并不排除可以被替代或添加到所列项的其它相似项。本说明书中的部分划分仅为了方便读者而提供，并不限制所讨论的元件的任何组合。在通过引用并入的材料与本文提供的明确描述的内容之间存在任何矛盾或冲突的情况下，以明确描述的内容为准。

[0188] 概述

[0189] 本文提供了蛋白酶激活的细胞因子前体(本文也称为细胞因子前药)，所述细胞因子前体包括接头，所述接头包括蛋白酶可切割接头和本文所描述的靶向序列，例如，被配置成与细胞外基质组分、整合素或多配体聚糖结合的靶向序列；或者被配置成以pH敏感方式与细胞外基质组分、IgB(CD79b)、整合素、钙粘素、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖、多配体聚糖或纤连蛋白结合的靶向序列；或者包括SEQ ID NO:180-662中的任何一个的序列的靶向序列。所述可切割接头可以位于细胞因子多肽序列与抑制性多肽序列之间，使得与游离细胞因子多肽序列相比，细胞因子多肽序列激活免疫细胞的能力降低或消除。所述接头的蛋白水解可

以释放所述细胞因子,使得其可以激活免疫细胞。

[0190] 在一些实施方式中,所述蛋白酶可切割接头可被蛋白酶切割,所述蛋白酶在肿瘤微环境(TME)中以比在相同类型的健康组织中更高的水平表达。在一些实施方式中,所述蛋白酶可切割接头是基质金属蛋白酶(MMP)可切割接头,如本文所描述的任何MMP可切割接头。在不希望受任何特定理论束缚的情况下,肿瘤微环境(TME)中蛋白酶(包括但不限于MMP)的增加的表达可以提供一种用于在肿瘤部位处或附近实现细胞因子前药的选择性或优先激活的机制。本文所描述的某些蛋白酶可切割接头被认为特别适于实现此类选择性或优先激活。

[0191] 在其它实施方式中,所述细胞因子前药包括靶向序列,例如,与细胞外基质组分、整合素或多配体聚糖结合或被配置成以pH敏感方式与纤连蛋白结合的靶向序列。所述靶向序列可以促进所述细胞因子前药和/或所述活性细胞因子在ECM中的累积和/或增加驻留时间。在一些实施方式中,靶向序列与蛋白酶可切割接头组合,所述蛋白酶可切割接头可被在TME中以较高水平表达的蛋白酶切割和/或可被MMP切割。

[0192] 在任何前述实施方式中,所述细胞因子前药可以进一步包括药代动力学调节剂,所述药代动力学调节剂例如延长所述前药的半衰期并且还可以任选地延长所述活性细胞因子的半衰期。

[0193] 表1和表2中示出了示例性细胞因子前药以及其组分的序列。在表1中,“X_{Hy}”表示疏水氨基酸残基。在一些实施方式中,所述疏水氨基酸残基是甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、脯氨酸(Pro)、苯丙氨酸(Phe)、甲硫氨酸(Met)和色氨酸(Trp)中的任何一种。在一些实施方式中,所述疏水氨基酸残基是Ala、Leu、Val、Ile、Pro、Phe、Met和Trp中的任何一种。在一些实施方式中,所述疏水氨基酸残基是Leu、Val、Ile、Pro、Phe、Met和Trp中的任何一种。在一些实施方式中,所述疏水氨基酸残基是Ala、Leu、Val、Ile、Phe、Met和Trp中的任何一种。在一些实施方式中,所述疏水氨基酸残基是Leu、Val、Ile、Phe、Met和Trp中的任何一种。“(Pip)”表示哌啶。“(Hof)”表示高苯丙氨酸。“(Cit)”表示瓜氨酸。“(Et)”表示乙硫氨酸。“C(me)”表示甲基半胱氨酸。在某些序列中,下划线用于指示突变位置。

[0194] 本公开进一步提供了这些细胞因子前药的用途,例如用于治疗癌症。在一些实施方式中,所述细胞因子前药在肿瘤微环境中被选择性地或优先地切割,这可以产生有益效果,例如,改进所述肿瘤附近免疫细胞的募集和/或激活和/或减少对活性细胞因子的全身性暴露。

[0195] 表1.细胞因子前药以及其组分的序列表

[0196]

SEQ ID NO	描述	序列	物种	功能	注释
IL-2 序列					
1	h IL-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLT	人	细胞因子	野生型
2	h IL-2（C125S）	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLT	人	细胞因子	C125 到 S 突变
3	m IL-2	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ	小鼠	细胞因子	野生型
4	m IL-2（C140S）	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFSQSIISTSPQ	小鼠	细胞因子	C140 到 S 突变
5-9	未使用				
阻断剂：IL-2R 序列					
10	h IL-2Rα	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG	人	阻断剂	野生型氨基酸 1-219

[0197]

		QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTE YQ			
11	h IL-2Rα（1-63）	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT S	人	阻断剂	sushi 结构域 1 野生型
12	h IL-2Rα（M25I）	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTE YQ	人	阻断剂	M25 到 I 突变
13	h IL-2Rα（L42V）	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSVYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTE YQ	人	阻断剂	L42 到 V 突变
14	h IL-2Rα（M25I; L42V）	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECK RGFRRIKSGSVYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTE YQ	人	阻断剂	M25 到 I 突变；L42 到 V 突变
15	人 IL2Rγ 多肽序列	LNTTILTPNGNEDTTADFFLTTMPTDSLSVS TLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTN LTLHYWYKNSDNDKVQKCSHYLFSEEITSGC QLQKKEIHLYQTFVVQLQDPREPRRQATQML KLQNLVIPWAPENLTLHKLSESQLELNWNNR FLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKF SLPSVDGQKRYTFRVRSRFNPLCGSAQHWSE WSHPIHWGSNTSKENPFLFALEA	人	阻断剂	
16	人 IL2Rβ 多肽序列	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDT SCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNL ILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVM AIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNI SWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKP LQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKDT	人	阻断剂	
17	嵌合 IL-2Rα	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECK RGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSSATR NTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQA SLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYY QCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS CLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ	人/小鼠	阻断剂	小鼠 IL2Rα（1-58） - hu IL2Rα（64-219）
18	m IL-2Rα	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECK RGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHD	小鼠	阻断剂	野生型氨基酸

[0198]

		KSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQ ENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVH YECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQP QLTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESET SCPITTTDFPQPTETTAMTETFVLTMEYK			1-215
19	m IL-2Rα（1-58）	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECK RGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTS	小鼠	阻断剂	sushi结构域1野生型
20	h IL-2Rα（1-219）M25I/D4L/D5Y	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQ IQTEMAATMETSIFTTEYQ	人	阻断剂	D4到L突变；D5到Y突变；M25到I突变
21	h IL-2Rα（1-219）L42V/D4L/D5Y	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQ IQTEMAATMETSIFTTEYQ	人	阻断剂	D4到L突变；D5到Y突变；L42到V突变
22	h IL-2Rα（1-219）M25I/L42V/D4L/D5Y	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECK RGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQ IQTEMAATMETSIFTTEYQ	人	阻断剂	D4到L突变；D5到Y突变；M25到I突变；L42到V突变
23	h IL-2Rα（1-219）D4L/D5Y	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSCLVTTTDFQ IQTEMAATMETSIFTTEYQ	人	阻断剂	D4到L突变；D5到Y突变
24	h IL-2Rα（1-219）$SGSL_{39\text{-}42}ELV$	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIK**ELV**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTS SATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQP VDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQ MVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPE SETSCLVTTTDFQ IQTEMAATMETSIFTTEYQ	人	阻断剂	用ELV替代野生型残基39-42
25	h IL-2Rα（1-192）	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSC	人	阻断剂	野生型氨基酸1-192

[0199]

26	h IL-2Rα（1-192）M25I	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSC	人	阻断剂	M25 到 I 突变
27	h IL-2Rα（1-192）L42V	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSC	人	阻断剂	L42 到 V 突变
28	h IL-2Rα（1-192）D4L/D5Y	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSC	人	阻断剂	D4 到 L 突变；D5 到 Y 突变
29	h IL-2Rα（1-192）SGSL$_{39-42}$ELV	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIK**ELV**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTS SATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQP VDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQ MVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPE SETSC	人	阻断剂	用 ELV 替代野生型残基 39-42
IL2 阻断剂：抗 IL2 序列					
30	scFv2	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGTSSNIGA HYDVHWYQQFPGTAPKRLIYGNNNRPSGVPA RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DRSLRGWVFGGGTKLTVLGEGKSSGSGSESK ASEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTF DDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAKDVNWNYGYYFDYWGQGTLVTVSS	人	阻断剂	野生型
31	scFv2（18 聚体接头）	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGTSSNIGA HYDVHWYQQFPGTAPKRLIYGNNNRPSGVPA RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DRSLRGWVFGGGTKLTVLGGSTSGSGKPGSG EGSTKGEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAAS GFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSG SIGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKDVNWNYGYYFDYWGQGTLVT VSS	人	阻断剂	VL 与 VH 之间的 18 聚体接头
32	scFv2 的 VL 结构域	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGTSSNIGA HYDVHWYQQFPGTAPKRLIYGNNNRPSGVPA RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DRSLRGWVFGGGTKLTVLG	人	阻断剂	野生型
33	scFv2 的 VH 结构域	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDD YAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKDVNWNYGYYFDYWGQGTLVTVSS	人	阻断剂	野生型
34	scFv2 VL HVR1	TGTSSNIGAHYDVH			

[0200]

35	scFv2 VL HVR2	GNNNRPS			
36	scFv2 VL HVR3	QSYDRSLRGWV			
37	scFv2 VH HVR1	DDYAMH			
38	scFv2 VH HVR2	GISWNSGSIGYADSVKG			
39	scFv2 VH HVR3	KDVNWNYGYYFDY			
747	scFv183	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLY SNNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRES WVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQQWYYYPYTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSG GGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSDISGR GGQTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGGGSFANWGRGTLVTVSS	人	阻断剂	VL 与 VH 之间的接头
748	scFv183 的 VL 结构域	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLY SNNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRES WVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQQWYYYPYTFGQGTKVEIK	人	阻断剂	
749	scFv183 的 VH 结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YYMSWVRQAPGKGLEWVSDISGRGGQTNYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGGGSFANWGRGTLVTVSS	人	阻断剂	
750	scFv183 VL HVR1	KSSQSVLYSNNNKNYLA			
751	scFv183 VL HVR2	GASTRES			
752	scFv183 VL HVR3	QQWYYYPYT			
753	scFv183 VH HVR1	SSYYMS			
754	scFv183 VH HVR2	DISGRGGQTNYADSVKG			
755	scFv183 VH HVR3	RGGGSFAN			
阻断剂：IL-2R 序列					
40	h IL-2Rα（1-192）M25I/D4L/D5Y	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSC	人	阻断剂	D4 到 L 突变；D5 到 Y 突变；M25 到 I 突变
41	h IL-2Rα（1-192）M25I/L42V	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECK RGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSC	人	阻断剂	M25 到 I 突变；L42 到 V 突变
42	h IL-2Rα（1-192）D4L/D5Y/L42V	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCT SSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVG QMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP ESETSC	人	阻断剂	D4 到 L 突变；D5 到 Y 突变；L42 到 V 突变

[0201]

43	h IL-2Rα（1-192）M25I/D4L/D5Y/L42V	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECKRGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	人	阻断剂	D4 到 L 突变；D5 到 Y 突变；M25 到 I 突变；L42 到 V 突变
44	h IL-2Rα（1-178）	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP	人	阻断剂	野生型氨基酸 1-178
45	h IL-2Rα（1-178）M25I	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP	人	阻断剂	M25 到 I 突变
46	h IL-2Rα（1-178）L42V	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP	人	阻断剂	L42 到 V 突变
47	h IL-2Rα（1-178）D4L/D5Y	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP	人	阻断剂	D4 到 L 突变；D5 到 Y 突变
48	h IL-2Rα（1-178）$SGSL_{39\text{-}42}ELV$	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIK**ELV**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP	人	阻断剂	用 ELV 替代野生型残基 39-42
49	h IL-2Rα（1-178）M25I/L42V	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECKRGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP	人	阻断剂	M25 到 I 突变；L42 到 V 突变
50	h IL-2Rα（1-178）D4L/D5Y/L42V	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP	人	阻断剂	D4 到 L 突变；D5 到 Y 突变；L42 到 V 突变
51	h IL-2Rα（1-178）D4L/D5Y/M25I/L42V	ELC**LY**DPPEIPHATFKAMAYKEGT**I**LNCECKRGFRRIKSGS**V**YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR	人	阻断剂	D4 到 L 突变；D5 到 Y 突变；M25 到 I 突变；

[0202]

		WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP			L42 到 V 突变
52-69	未使用				
药代动力学调节剂					
70	h IgG1 Fc	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	人	半衰期延长	C 端 K 残基缺失
71	人 IgG1 K392D K409D Fc 结构域多肽序列	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFL YSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	人	半衰期延长	
72	人血清白蛋白	RGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI A FAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADE SAENCDKSLHTLFGDKLCT VATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKD DNPNLPRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFF AKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARL SQRFPKA EFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDR ADLAKYICENQDSISSKLK ECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTL EKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEV SRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVL NQLCVLHEKTPVSDRVTKC CTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETF TFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK CCKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGL	人	半衰期延长	野生型
73	m IgG1 Fc	GCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLT PKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTA QTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKE FKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVY TIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVE WQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLN VQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLS HSPGK	小鼠	半衰期延长	野生型
74	鼠类 IgG1 T252M Fc 结构域多肽序	GCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLMITLT PKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTA	小鼠	半衰期延长	

[0203]

	列	QTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKE FKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVY TIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVE WQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLN VQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLS HSPG			
75-79	未使用				
756	IgG1 Fc（K360E/K409W）杵	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTENQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSWLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	人	半衰期延长	杵突变
757	h IgG1 Fc（Q347R/D399V/F405T）臼	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPRVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLVSDGSFTL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	人	半衰期延长	臼突变
MMP 可切割区段					
80	MMP 可切割位点多肽序列	GPLGVRG			
81	G112631 多肽序列	GPLGVRG			
82	G112632 多肽序列	GPLGLRG			
83	G112633 多肽序列	GPLGLAR			
84	G112634 多肽序列	GPAALVGA			
85	G112635 多肽序列	GPAALIGG			
86	G112636 多肽序列	GPLNLVGR			
87	G112637 多肽序列	GPAGLVAD			
88	G112638 多肽序列	GPANLVAP			
89	G112639 多肽序列	VPLSLYSG			
90	G112640 多肽序列	SGESPAYYTA			
91	MMP 共有基序	$PXXX_{Hy}$			
92	MMP-2 共有基序	$(L/I)XXX_{Hy}$			
93	MMP-2 共有基序	$X_{Hy}SXL$			
94	MMP-2 共有基序	$HXXX_{Hy}$			
95-99	未使用				

[0204]

IL-2 融合多肽					
100	构建体 A 多肽序列：mIL2-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – 6His	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKHHHHHH			
101	构建体 B 多肽序列：m IL2-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x (G4S) – IL2Rα – mIgG1 Fc	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
102	构建体 C 多肽序列：mIL2(C140S) - 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – mIgG1 Fc(T252M)-6xHIS	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFSQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLMITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGHHHHHH			
103	构建体 R 多肽序	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL			

[0205]

	列：mIL2(C140S)-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – hu IgG1 Fc-6xHIS	LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFSQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGHHH HHH			
104	构建体 D 多肽序列：mIL2(C140S)-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – sIL2Rα – mIgG1 Fc(T252M)-6xHIS	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGHHHHHH			
105	mIgG1 Fc - 鼠类 IL2 -2x(SG4) – MMPcs1 – 2x (G4S) – IL2Rα（切割后长动力学 IL2）多肽序列	GCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLT PKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTA QTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKE FKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVY TIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVE WQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLN VQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLS HSPGKAPTSSST`SSSTAEAQQQQQQQQQQQ QHLEQLLMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTF KFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLT QSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTF ECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ SGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSELCL YDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFR RLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRK QVTAQLEHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLT			

[0206]

		GHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECI PGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTC VDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPI TTTDFPQPTETTAMTETFVLTMEYK			
106	构建体 E 多肽序列：HuIL2(C125S)-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – hu IgG1 Fc – 6xHIS	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGHHHHHH			
107	构建体 S 多肽序列：hIL2-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – hIL2Rα – hIgG1Fc_mut1（K392D；K409D）	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLD SDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGHHHHHH			
108	构建体 T 多肽序列，包括 hIgG1 Fc_mut 2（D356K；D399K）	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGHHHHHH			
109	hu IgG1 Fc - Hu IL2(C125S)-2x(SG4) – MMPcs1 –	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR			

[0207]

	2x(G4S) – IL2Rα 多肽序列	EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLTSGGGGSGGGGGPL GVRGGGGGSGGGGSELCDDDPPEIPHATFKA MAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTG NSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEE QKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRG PAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQF PGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQT EMAATMETSIFTTEYQ			
110	hIL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – hIL2Rβ – hIgG1Fc（构建体U）多肽序列	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDG ALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQAS WACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGV RWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGH TWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQ VRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGK DTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG			
111	hIL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – hIL2Rγ – hIgG1Fc 多肽序列	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSLNTTILTPNGNEDTTADFFLTTMPTD SLSVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSE PQPTNLTLHYWYKNSDNDKVQKCSHYLFSEE ITSGCQLQKKEIHLYQTFVVQLQDPREPRRQ ATQMLKLQNLVIPWAPENLTLHKLSESQLEL NWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVD YRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFNPLCGSA QHWSEWSHPIHWGSNTSKENPFLFALEADKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS			

[0208]

		LSLSPG			
112-119	未使用				
其它					
120	富含 Gly-Ser 的接头多肽序列	SGGGGSGGGG			
121-129	未使用				
融合多肽（DNA 编码序列）					
130	构建体 A DNA 序列（mIL2-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – 6His）	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGCACC TACATCATCATCAACTTCATCCTCCACCGCT GAGGCTCAGCAACAACAGCAACAACAGCAGC AGCAGCAGCAGCATCTGGAGCAGCTGCTGAT GGACCTGCAGGAGCTGCTGTCCAGAATGGAG AACTACCGCAATCTGAAGCTGCCAAGGATGC TGACCTTCAAGTTTTATCTGCCCAAGCAGGC CACAGAGCTGAAGGACCTGCAGTGCCTGGAG GATGAGCTGGGCCCACTGAGGCACGTGCTGG ACCTGACCCAGAGCAAGTCTTTCCAGCTGGA GGATGCTGAGAACTTTATCTCCAATATCCGG GTGACCGTGGTGAAGCTGAAGGGCAGCGACA ACACATTCGAGTGCCAGTTTGACGATGAGTC TGCCACCGTGGTGGATTTCCTGAGGCGGTGG ATCGCTTTTTGTCAGAGCATCATCTCCACAA GCCCTCAGTCTGGAGGAGGTGGCAGCGGAGG AGGAGGTGGCCCACTGGGCGTGAGGGGTGGC GGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGCTCCGAGC TGTGCCTGTACGACCCCCCTGAGGTGCCCAA TGCCACCTTCAAGGCTCTGTCTTATAAGAAC GGCACAATCCTGAATTGCGAGTGTAAGAGGG GCTTTAGACGCCTGAAGGAGCTGGTGTACAT GCGGTGTCTGGGCAACTCCTGGTCCAGCAAT TGCCAGTGTACCTCTAACTCCCATGACAAGA GCAGAAAGCAGGTGACAGCCCAGCTGGAGCA CCAGAAGGAGCAGCAGACCACAACCGATATG CAGAAGCCCACCCAGTCTATGCACCAGGAGA ATCTGACAGGCCATTGCAGAGAGCCACCCCC TTGGAAGCACGAGGATAGCAAGCGCATCTAT CATTTCGTGGAGGGCCAGTCTGTGCACTACG AGTGTATCCCCGGCTATAAGGCCCTGCAGAG AGGCCCTGCTATCTCCATCTGCAAGATGAAG TGTGGCAAGACCGGCTGGACACAGCCTCAGC TGACCTGCGTGGACGAGAGGGAGCACCATCG GTTCCTGGCTAGCGAGGAGTCTCAGGGCTCC CGCAACTCTTCCCCTGAGAGCGAGACATCTT GTCCAATCACAACCACAGATTTTCCACAGCC CACCGAGACAACCGCTATGACAGAGACCTTC GTGCTGACTATGGAATACAAACACCACCACC ACCACCACTAATGA			
131	构建体 B DNA 序列：m IL2-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x (G4S) – IL2Rα – mIgG1 Fc	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGCACC TACATCATCATCAACTTCATCCTCCACCGCT GAGGCTCAGCAACAACAGCAACAACAGCAGC AGCAGCAGCAGCATCTGGAGCAGCTGCTGAT GGACCTGCAGGAGCTGCTGTCCAGAATGGAG AACTACCGCAATCTGAAGCTGCCAAGGATGC			

[0209]

		TGACCTTCAAGTTTTATCTGCCCAAGCAGGC CACAGAGCTGAAGGACCTGCAGTGCCTGGAG GATGAGCTGGGCCCACTGAGGCACGTGCTGG ACCTGACCCAGAGCAAGTCTTTCCAGCTGGA GGATGCTGAGAACTTTATCTCCAATATCCGG GTGACCGTGGTGAAGCTGAAGGGCAGCGACA ACACATTCGAGTGCCAGTTTGACGATGAGTC TGCCACCGTGGTGGATTTCCTGAGGCGGTGG ATCGCTTTTTGTCAGAGCATCATCTCCACAA GCCCTCAGTCTGGAGGAGGTGGCAGCGGAGG AGGAGGTGGCCCACTGGGCGTGAGGGGTGGC GGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGCTCCGAGC TGTGCCTGTACGACCCCCCTGAGGTGCCCAA TGCCACCTTCAAGGCTCTGTCTTATAAGAAC GGCACAATCCTGAATTGCGAGTGTAAGAGGG GCTTTAGACGCCTGAAGGAGCTGGTGTACAT GCGGTGTCTGGGCAACTCCTGGTCCAGCAAT TGCCAGTGTACCTCTAACTCCCATGACAAGA GCAGAAAGCAGGTGACAGCCCAGCTGGAGCA CCAGAAGGAGCAGCAGACCACAACCGATATG CAGAAGCCCACCCAGTCTATGCACCAGGAGA ATCTGACAGGCCATTGCAGAGAGCCACCCCC TTGGAAGCACGAGGATAGCAAGCGCATCTAT CATTTCGTGGAGGGCCAGTCTGTGCACTACG AGTGTATCCCCGGCTATAAGGCCCTGCAGAG AGGCCCTGCTATCTCCATCTGCAAGATGAAG TGTGGCAAGACCGGCTGGACACAGCCTCAGC TGACCTGCGTGGACGAGAGGGAGCACCATCG GTTCCTGGCTAGCGAGGAGTCTCAGGGCTCC CGCAACTCTTCCCCTGAGAGCGAGACATCTT GTCCAATCACAACCACAGATTTTCCACAGCC CACCGAGACAACCGCTATGACAGAGACCTTC GTGCTGACTATGGAATACAAAGGATGCAAAC CCTGTATCTGTACCGTGCCCGAGGTCTCTTC CGTCTTTATTTTCCCCCCCAAGCCTAAGGAT GTGCTGACTATTACTCTGACCCCCAAGGTGA CATGCGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACGA TCCTGAGGTGCAGTTCTCTTGGTTTGTGGAC GATGTGGAGGTGCACACCGCCCAGACACAGC CAAGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTTTCG GTCCGTGAGCGAGCTGCCCATCATGCATCAG GATTGGCTGAATGGCAAGGAGTTCAAGTGCA GAGTGAACTCTGCCGCTTTTCCCGCTCCTAT CGAGAAGACCATCTCCAAGACAAAGGGCCGC CCAAAGGCTCCACAGGTGTACACCATCCCAC CTCCAAAGGAGCAGATGGCTAAGGACAAGGT GTCTCTGACCTGTATGATCACAGACTTCTTT CCTGAGGACATCACAGTGGAGTGGCAGTGGA ACGGCCAGCCTGCCGAGAACTATAAGAATAC CCAGCCAATCATGGACACAGATGGCTCTTAC TTCGTGTATTCCAAGCTGAACGTGCAGAAGT CCAATTGGGAGGCTGGCAACACCTTTACATG TAGCGTGCTGCACGAAGGTCTGCATAACCAT CATACCGAAAAATCACTGTCACACTCCCCTG GAAAATAATGA			
132	构建体C DNA序	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG			

[0210]

	列：m IL2(C140S)-2x(SG4)–MMPcs1–2x(G4S)–IL2Rα–mIgG1 Fc(T252M)-6xHIS	TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGCACC TACATCATCATCAACTTCATCCTCCACCGCT GAGGCTCAGCAACAACAGCAACAACAGCAGC AGCAGCAGCAGCATCTGGAGCAGCTGCTGAT GGACCTGCAGGAGCTGCTGTCCAGAATGGAG AACTACCGCAATCTGAAGCTGCCAAGGATGC TGACCTTCAAGTTTTATCTGCCCAAGCAGGC CACAGAGCTGAAGGACCTGCAGTGCCTGGAG GATGAGCTGGGCCCACTGAGGCACGTGCTGG ACCTGACCCAGAGCAAGTCTTTCCAGCTGGA GGATGCTGAGAACTTTATCTCCAATATCCGG GTGACCGTGGTGAAGCTGAAGGGCAGCGACA ACACATTCGAGTGCCAGTTTGACGATGAGTC TGCCACCGTGGTGGATTTCCTGAGGCGGTGG ATCGCTTTTTCCCAGAGCATCATCTCCACAA GCCCTCAGTCTGGAGGAGGTGGCAGCGGAGG AGGAGGTGGCCCACTGGGCGTGAGGGGTGGC GGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGCTCCGAGC TGTGCCTGTACGACCCCCCTGAGGTGCCCAA TGCCACCTTCAAGGCTCTGTCTTATAAGAAC GGCACAATCCTGAATTGCGAGTGTAAGAGGG GCTTTAGACGCCTGAAGGAGCTGGTGTACAT GCGGTGTCTGGGCAACTCCTGGTCCAGCAAT TGCCAGTGTACCTCTAACTCCCATGACAAGA GCAGAAAGCAGGTGACAGCCCAGCTGGAGCA CCAGAAGGAGCAGCAGACCACAACCGATATG CAGAAGCCCACCCAGTCTATGCACCAGGAGA ATCTGACAGGCCATTGCAGAGAGCCACCCCC TTGGAAGCACGAGGATAGCAAGCGCATCTAT CATTTCGTGGAGGGCCAGTCTGTGCACTACG AGTGTATCCCCGGCTATAAGGCCCTGCAGAG AGGCCCTGCTATCTCCATCTGCAAGATGAAG TGTGGCAAGACCGGCTGGACACAGCCTCAGC TGACCTGCGTGGACGAGAGGGAGCACCATCG GTTCCTGGCTAGCGAGGAGTCTCAGGGCTCC CGCAACTCTTCCCCTGAGAGCGAGACATCTT GTCCAATCACAACCACAGATTTTCCACAGCC CACCGAGACAACCGCTATGACAGAGACCTTC GTGCTGACTATGGAATACAAAGGATGCAAAC CCTGTATCTGTACCGTGCCCGAGGTCTCTTC CGTCTTTATTTTCCCCCCCAAGCCTAAGGAT GTGCTGATGATTACTCTGACCCCCAAGGTGA CATGCGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACGA TCCTGAGGTGCAGTTCTCTTGGTTTGTGGAC GATGTGGAGGTGCACACCGCCCAGACACAGC CAAGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTTTCG GTCCGTGAGCGAGCTGCCCATCATGCATCAG GATTGGCTGAATGGCAAGGAGTTCAAGTGCA GAGTGAACTCTGCCGCTTTTCCCGCTCCTAT CGAGAAGACCATCTCCAAGACAAAGGGCCGC CCAAAGGCTCCACAGGTGTACACCATCCCAC CTCCAAAGGAGCAGATGGCTAAGGACAAGGT GTCTCTGACCTGTATGATCACAGACTTCTTT CCTGAGGACATCACAGTGGAGTGGCAGTGGA ACGGCCAGCCTGCCGAGAACTATAAGAATAC CCAGCCAATCATGGACACAGATGGCTCTTAC			

[0211]

		TTCGTGTATTCCAAGCTGAACGTGCAGAAGT CCAATTGGGAGGCTGGCAACACCTTTACATG TAGCGTGCTGCACGAAGGTCTGCATAACCAT CATACCGAAAAATCACTGTCACACTCCCCTG GACACCACCACCACCACCACTAATGA			
133	构建体R DNA序列：mIL2(C140S)-2x(SG4)－MMPcs1－2x(G4S)－IL2Rα－hu IgG1 Fc-6xHIS	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGCACC TACATCATCATCAACTTCATCCTCCACCGCT GAGGCTCAGCAACAACAGCAACAACAGCAGC AGCAGCAGCAGCATCTGGAGCAGCTGCTGAT GGACCTGCAGGAGCTGCTGTCCAGAATGGAG AACTACCGCAATCTGAAGCTGCCAAGGATGC TGACCTTCAAGTTTTATCTGCCCAAGCAGGC CACAGAGCTGAAGGACCTGCAGTGCCTGGAG GATGAGCTGGGCCCACTGAGGCACGTGCTGG ACCTGACCCAGAGCAAGTCTTTCCAGCTGGA GGATGCTGAGAACTTTATCTCCAATATCCGG GTGACCGTGGTGAAGCTGAAGGGCAGCGACA ACACATTCGAGTGCCAGTTTGACGATGAGTC TGCCACCGTGGTGGATTTCCTGAGGCGGTGG ATCGCTTTTTCCCAGAGCATCATCTCCACAA GCCCTCAGTCTGGAGGAGGTGGCAGCGGAGG AGGAGGTGGCCCACTGGGCGTGAGGGGTGGC GGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGCTCCGAGC TGTGCCTGTACGACCCCCCTGAGGTGCCCAA TGCCACCTTCAAGGCTCTGTCTTATAAGAAC GGCACAATCCTGAATTGCGAGTGTAAGAGGG GCTTTAGACGCCTGAAGGAGCTGGTGTACAT GCGGTGTCTGGGCAACTCCTGGTCCAGCAAT TGCCAGTGTACCTCTAACTCCCATGACAAGA GCAGAAAGCAGGTGACAGCCCAGCTGGAGCA CCAGAAGGAGCAGCAGACCACAACCGATATG CAGAAGCCCACCCAGTCTATGCACCAGGAGA ATCTGACAGGCCATTGCAGAGAGCCACCCCC TTGGAAGCACGAGGATAGCAAGCGCATCTAT CATTTCGTGGAGGGCCAGTCTGTGCACTACG AGTGTATCCCCGGCTATAAGGCCCTGCAGAG AGGCCCTGCTATCTCCATCTGCAAGATGAAG TGTGGCAAGACCGGCTGGACACAGCCTCAGC TGACCTGCGTGGACGAGAGGGAGCACCATCG GTTCCTGGCTAGCGAGGAGTCTCAGGGCTCC CGCAACTCTTCCCCTGAGAGCGAGACATCTT GTCCAATCACAACCACAGATTTTCCACAGCC CACCGAGACAACCGCTATGACAGAGACCTTC GTGCTGACTATGGAATACAAAGATAAGACTC ATACCTGTCCACCCTGTCCTGCTCCTGAACT GCTGGGCGGTCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCT CCAAAACCTAAAGATACCCTGATGATCTCCA GGACCCCTGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGA CGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATA ATGCCAAGACAAAGCCCAGGGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTATCGGGTGGTGTCTGTGCTG ACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCA AGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAAGGC CCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGACCATCTCC			

[0212]

		AAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCTCAGG TGTACACACTGCCCCCTAGCCGCGACGAGCT GACCAAGAACCAGGTGTCTCTGACATGTCTG GTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGCTG TGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAA CAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGAC TCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCCAAGC TGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGG CAACGTGTTCTCCTGTAGCGTGATGCACGAA GCCCTGCACAACCATTACACTCAGAAAAGCC TGTCCCTGTCCCCTGGGCACCACCACCACCA CCACTAATGA			
134	构建体 D DNA 序列：mIL2(C140S)-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – sIL2Rα – mIgG1 Fc(T252M)-6xHIS	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGCACC TACATCATCATCAACTTCATCCTCCACCGCT GAGGCTCAGCAACAACAGCAACAACAGCAGC AGCAGCAGCAGCATCTGGAGCAGCTGCTGAT GGACCTGCAGGAGCTGCTGTCCAGAATGGAG AACTACCGCAATCTGAAGCTGCCAAGGATGC TGACCTTCAAGTTTTATCTGCCCAAGCAGGC CACAGAGCTGAAGGACCTGCAGTGCCTGGAG GATGAGCTGGGCCCACTGAGGCACGTGCTGG ACCTGACCCAGAGCAAGTCTTTCCAGCTGGA GGATGCTGAGAACTTTATCTCCAATATCCGG GTGACCGTGGTGAAGCTGAAGGGCAGCGACA ACACATTCGAGTGCCAGTTTGACGATGAGTC TGCCACCGTGGTGGATTTCCTGAGGCGGTGG ATCGCTTTTTCCCAGAGCATCATCTCCACAA GCCCTCAGTCTGGAGGAGGTGGCAGCGGAGG AGGAGGTGGCCCACTGGGCGTGAGGGGTGGC GGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGCTCCGAGC TGTGCCTGTACGACCCCCCTGAGGTGCCCAA TGCCACCTTCAAGGCTCTGTCTTATAAGAAC GGCACAATCCTGAATTGCGAGTGTAAGAGGG GCTTTAGACGCCTGAAGGAGCTGGTGTACAT GCGGTGTCTGGGCAACTCCTGGTCCAGCAAT TGCCAGTGTACCTCTAACTCCCATGACAAGA GCAGAAAGCAGGTGACAGCCCAGCTGGAGCA CCAGAAGGAGCAGCAGACCACAACCGATATG CAGAAGCCCACCCAGTCTATGCACCAGGAGA ATCTGACAGGCCATTGCAGAGAGCCACCCCC TTGGAAGCACGAGGATAGCAAGCGCATCTAT CATTTCGTGGAGGGCCAGTCTGTGCACTACG AGTGTATCCCCGGCTATAAGGCCCTGCAGAG AGGCCCTGCTATCTCCATCTGCAAGATGAAG TGTGGCAAGACCGGCTGGACACAGCCTCAGC TGACCTGCGTGGACGAGAGGGAGCACCATCG GTTCCTGGCTAGCGAGGAGTCTGGATGCAAA CCCTGTATCTGTACCGTGCCCGAGGTCTCTT CCGTCTTTATTTTCCCCCCCAAGCCTAAGGA TGTGCTGATGATTACTCTGACCCCCAAGGTG ACATGCGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACG ATCCTGAGGTGCAGTTCTCTTGGTTTGTGGA CGATGTGGAGGTGCACACCGCCCAGACACAG CCAAGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTTTC GGTCCGTGAGCGAGCTGCCCATCATGCATCA			

[0213]

		GGATTGGCTGAATGGCAAGGAGTTCAAGTGC AGAGTGAACTCTGCCGCTTTTCCCGCTCCTA TCGAGAAGACCATCTCCAAGACAAAGGGCCG CCCAAAGGCTCCACAGGTGTACACCATCCCA CCTCCAAAGGAGCAGATGGCTAAGGACAAGG TGTCTCTGACCTGTATGATCACAGACTTCTT TCCTGAGGACATCACAGTGGAGTGGCAGTGG AACGGCCAGCCTGCCGAGAACTATAAGAATA CCCAGCCAATCATGGACACAGATGGCTCTTA CTTCGTGTATTCCAAGCTGAACGTGCAGAAG TCCAATTGGGAGGCTGGCAACACCTTTACAT GTAGCGTGCTGCACGAAGGTCTGCATAACCA TCATACCGAAAAATCACTGTCACACTCCCCT GGACACCACCACCACCACCACTAATGA			
135	构建体 E DNA 序列： HuIL2(C125S)-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – hu IgG1 Fc – 6xHIS	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTTCTGG TGGCTACCGCCACCGGCGTGCACTCTGCTCC TACATCCTCCAGCACCAAGAAAACCCAGCTG CAGTTGGAGCATCTGCTGCTGGACCTGCAGA TGATCCTGAACGGCATCAACAACTACAAGAA CCCCAAGCTGACCCGGATGCTGACCTTCAAG TTCTACATGCCCAAGAAGGCCACCGAGCTGA AACATCTGCAGTGCCTGGAAGAGGAACTGAA GCCCCTGGAAGAAGTGCTGAATCTGGCCCAG TCCAAGAACTTCCACCTGAGGCCTCGGGACC TGATCTCCAACATCAACGTGATCGTGCTCGA GCTGAAGGGCTCCGAGACAACCTTCATGTGC GAGTACGCCGACGAGACAGCTACCATCGTGG AATTTCTGAACCGGTGGATCACCTTCAGCCA GTCCATCATCAGCACCCTGACATCTGGCGGC GGAGGATCTGGCGGAGGCGGAGGACCTTTGG GAGTTCGCGGCGGTGGTGGTGGCAGCGGAGG TGGTGGATCTGAGCTGTGTGACGACGACCCT CCTGAGATCCCTCACGCCACCTTTAAGGCCA TGGCTTACAAAGAGGGCACCATGCTGAACTG CGAGTGCAAGAGAGGCTTCCGGCGGATCAAG TCCGGCAGCCTGTATATGCTGTGCACCGGCA ACTCCAGCCACTCCTCTTGGGACAACCAGTG CCAGTGCACCAGCTCTGCTACCCGGAACACC ACCAAGCAAGTGACCCCTCAGCCTGAGGAAC AGAAAGAGCGCAAGACCACCGAGATGCAGAG CCCCATGCAGCCTGTGGATCAGGCTTCTCTG CCTGGCCACTGTAGAGAGCCTCCACCTTGGG AGAATGAGGCTACCGAGAGAATCTACCACTT CGTCGTGGGACAGATGGTGTACTACCAGTGC GTGCAGGGCTACCGCGCTCTGCATAGAGGAC CAGCAGAGTCCGTGTGCAAGATGACCCACGG CAAGACCAGATGGACCCAGCCTCAGCTGATC TGCACCGGCGAGATGGAAACCTCTCAGTTCC CCGGCGAGGAAAAGCCTCAGGCCTCTCCTGA AGGCAGACCCGAGTCTGAGACATCCTGTCTC GTGACCACCACAGACTTCCAGATCCAGACCG AGATGGCCGCTACCATGGAAACCAGCATCTT CACCACCGAGTACCAGGACAAGACCCACACC TGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAATTGCTCG GCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAA GCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACC			

		CCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTCGATGTGT CTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTG GTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCC AAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACT CCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGT GCTGCACCAGGATTGGCTGAATGGCAAAGAG TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CTGCTCCTATCGAAAAGACCATCTCCAAGGC CAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTAC ACCTTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCA AGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAA GGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAA TGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAAAACAATT ACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGA CGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACA GTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACG TGTTCTCCTGCTCCGTGATGCATGAGGCCCT GCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCT CTGTCCCCTGGCCACCATCACCATCATCACT GATAA			
[0214]	136	构建体 S DNA 序列：hIL2-2x(SG4)－MMPcs1－2x(G4S)－hIL2Rα－hIgG1Fc_mut1（K392D；K409D）	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGCACC TACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTA CAACTGGAGCATTTACTTCTGGATTTACAGA TGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAA TCCCAAACTCACCAGGATGCTCACATTTAAG TTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGA AACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAA ACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAA AGCAAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACT TAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGT GAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAG AATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTTGTCA AAGCATCATCTCAACACTGACTTCTGGTGGC GGTGGCTCTGGTGGCGGTGGCGGTCCTCTGG GTGTCAGAGGTGGTGGCGGTGGCTCTGGTGG CGGTGGCTCTGAGCTCTGTGACGATGACCCG CCAGAGATCCCACACGCCACATTCAAAGCCA TGGCCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAACTG TGAATGCAAGAGAGGTTTCCGCAGAATAAAA AGCGGGTCACTCTATATGCTCTGTACAGGAA ACTCTAGCCACTCGTCCTGGGACAACCAATG TCAATGCACAAGCTCTGCCACTCGGAACACA ACGAAACAAGTGACACCTCAACCTGAAGAAC AGAAAGAAAGGAAAACCACAGAAATGCAAAG TCCAATGCAGCCAGTGGACCAAGCGAGCCTT CCAGGTCACTGCAGGGAACCTCCACCATGGG AAAATGAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTT CGTGGTGGGGCAGATGGTTTATTATCAGTGC GTCCAGGGATACAGGGCTCTACACAGAGGTC CTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGG GAAGACAAGGTGGACCCAGCCCCAGCTCATA TGCACAGGTGAAATGGAGACCAGTCAGTTTC CAGGTGAAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGA AGGCCGTCCTGAGAGTGAGACTTCCTGCCTC			

[0215]

		GTCACAACAACAGATTTTCAAATACAGACAG AAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATT TACAACAGAGTACCAGGACAAAACTCACACA TGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGG GGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACT ACGACACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCGACCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCGGGTCACCACCACCACCACCACT AATGA			
137	构建体 T DNA 序列，包括 hIgG1 Fc_mut 2（D356K；D399K）	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGACAA AACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT CTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTG GTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAA TGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCA TCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGAAA GAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC TGAAATCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA GAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTCACCACCAC CACCACCACTAATGA			
138	mIgG1 Fc -鼠类 IL2 -2x(SG4) – MMPcs1 – 2x (G4S) – IL2Rα	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCGGATG CAAACCCTGTATCTGTACCGTGCCCGAGGTC TCTTCCGTCTTTATTTTCCCCCCCAAGCCTA AGGATGTGCTGACTATTACTCTGACCCCCAA			

[0216]

	（切割后长动力学 IL2）DNA 序列	GGTGACATGCGTGGTGGTGGACATCAGCAAG GACGATCCTGAGGTGCAGTTCTCTTGGTTTG TGGACGATGTGGAGGTGCACACCGCCCAGAC ACAGCCAAGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACC TTTCGGTCCGTGAGCGAGCTGCCCATCATGC ATCAGGATTGGCTGAATGGCAAGGAGTTCAA GTGCAGAGTGAACTCTGCCGCTTTTCCCGCT CCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGACAAAGG GCCGCCCAAAGGCTCCACAGGTGTACACCAT CCCACCTCCAAAGGAGCAGATGGCTAAGGAC AAGGTGTCTCTGACCTGTATGATCACAGACT TCTTTCCTGAGGACATCACAGTGGAGTGGCA GTGGAACGGCCAGCCTGCCGAGAACTATAAG AATACCCAGCCAATCATGGACACAGATGGCT CTTACTTCGTGTATTCCAAGCTGAACGTGCA GAAGTCCAATTGGGAGGCTGGCAACACCTTT ACATGTAGCGTGCTGCACGAAGGTCTGCATA ACCATCATACCGAAAAATCACTGTCACACTC CCCTGGAAAAGCACCTACATCATCATCAACT TCATCCTCCACCGCTGAGGCTCAGCAACAAC AGCAACAACAGCAGCAGCAGCAGCAGCATCT GGAGCAGCTGCTGATGGACCTGCAGGAGCTG CTGTCCAGAATGGAGAACTACCGCAATCTGA AGCTGCCAAGGATGCTGACCTTCAAGTTTTA TCTGCCCAAGCAGGCCACAGAGCTGAAGGAC CTGCAGTGCCTGGAGGATGAGCTGGGCCCAC TGAGGCACGTGCTGGACCTGACCCAGAGCAA GTCTTTCCAGCTGGAGGATGCTGAGAACTTT ATCTCCAATATCCGGGTGACCGTGGTGAAGC TGAAGGGCAGCGACAACACATTCGAGTGCCA GTTTGACGATGAGTCTGCCACCGTGGTGGAT TTCCTGAGGCGGTGGATCGCTTTTTGTCAGA GCATCATCTCCACAAGCCCTCAGTCTGGAGG AGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGTGGCCCACTG GGCGTGAGGGGTGGCGGCGGCGGCTCTGGCG GCGGCGGCTCCGAGCTGTGCCTGTACGACCC CCCTGAGGTGCCCAATGCCACCTTCAAGGCT CTGTCTTATAAGAACGGCACAATCCTGAATT GCGAGTGTAAGAGGGGCTTTAGACGCCTGAA GGAGCTGGTGTACATGCGGTGTCTGGGCAAC TCCTGGTCCAGCAATTGCCAGTGTACCTCTA ACTCCCATGACAAGAGCAGAAAGCAGGTGAC AGCCCAGCTGGAGCACCAGAAGGAGCAGCAG ACCACAACCGATATGCAGAAGCCCACCCAGT CTATGCACCAGGAGAATCTGACAGGCCATTG CAGAGAGCCACCCCCTTGGAAGCACGAGGAT AGCAAGCGCATCTATCATTTCGTGGAGGGCC AGTCTGTGCACTACGAGTGTATCCCCGGCTA TAAGGCCCTGCAGAGAGGCCCTGCTATCTCC ATCTGCAAGATGAAGTGTGGCAAGACCGGCT GGACACAGCCTCAGCTGACCTGCGTGGACGA GAGGGAGCACCATCGGTTCCTGGCTAGCGAG GAGTCTCAGGGCTCCCGCAACTCTTCCCCTG AGAGCGAGACATCTTGTCCAATCACAACCAC AGATTTTCCACAGCCCACCGAGACAACCGCT ATGACAGAGACCTTCGTGCTGACTATGGAAT			

[0217]

		ACAAATAATGA			
139	hIL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – hIL2Rβ – hIgG1Fc（构建体U）DNA 序列	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCgcacc tacttcaagttctacaaagaaaacacagcta caactggagcatttacttctggatttacaga tgattttgaatggaattaataattacaagaa tcccaaactcaccaggatgctcacatttaag ttttacatgcccaagaaggccacagaactga aacatcttcagtgtctagaagaagaactcaa acctctggaggaagtgctaaatttagctcaa agcaaaaactttcacttaagacccagggact taatcagcaatatcaacgtaatagttctgga actaaagggatctgaaacaacattcatgtgt gaatatgctgatgagacagcaaccattgtag aatttctgaacagatggattacctttgtca aagcatcatctcaacactgactTCTGGTGGC GGTGGCTCTGGTGGCGGTGGCGGTCCTCTGG GTGTCAGAGGTGGTGGCGGTGGCTCTGGTGG CGGTGGCTCTGCGGTGAATGGCACTTCCCAG TTCACATGCTTCTACAACTCGAGAGCCAACA TCTCCTGTGTCTGGAGCCAAGATGGGGCTCT GCAGGACACTTCCTGCCAAGTCCATGCCTGG CCGGACAGACGGCGGTGGAACCAAACCTGTG AGCTGCTCCCCGTGAGTCAAGCATCCTGGGC CTGCAACCTGATCCTCGGAGCCCCAGATTCT CAGAAACTGACCACAGTTGACATCGTCACCC TGAGGGTGCTGTGCCGTGAGGGGGTGCGATG GAGGGTGATGGCCATCCAGGACTTCAAGCCC TTTGAGAACCTTCGCCTGATGGCCCCCATCT CCCTCCAAGTTGTCCACGTGGAGACCCACAG ATGCAACATAAGCTGGGAAATCTCCCAAGCC TCCCACTACTTTGAAAGACACCTGGAGTTCG AGGCCCGGACGCTGTCCCCAGGCCACACCTG GGAGGAGGCCCCCCTGCTGACTCTCAAGCAG AAGCAGGAATGGATCTGCCTGGAGACGCTCA CCCCAGACACCCAGTATGAGTTTCAGGTGCG GGTCAAGCCTCTGCAAGGCGAGTTCACGACC TGGAGCCCCTGGAGCCAGCCCCTGGCCTTCA GGACAAAGCCTGCAGCCCTTGGGAAGGACAC CGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCT GCTCCAGAATTGCTCGGCGGACCCTCCGTGT TCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCT GATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGC GTGGTGGTCGATGTGTCTCACGAGGATCCCG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGT GGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGA GAGGAACAGTACAACTCCACCTACAGAGTGG TGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTG GCTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTG TCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAA AGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAG GGAACCCCAGGTTTACACCTTGCCTCCATCT CGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCC TGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTC CGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAATGGC CAGCCTGAAAACAATTACAAGACAACCCCTC			

[0218]

		CTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGA TGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCG TGATGCATGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGCTAA TGA			
140	hIL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – hIL2Rγ – hIgG1Fc DNA 序列	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCCgcacc tacttcaagttctacaaagaaaacacagcta caactggagcatttacttctggatttacaga tgattttgaatggaattaataattacaagaa tcccaaactcaccaggatgctcacatttaag ttttacatgcccaagaaggccacagaactga aacatcttcagtgtctagaagaagaactcaa acctctggaggaagtgctaaatttagctcaa agcaaaaactttcacttaagacccagggact taatcagcaatatcaacgtaatagttctgga actaaagggatctgaaacaacattcatgtgt gaatatgctgatgagacagcaaccattgtag aatttctgaacagatggattacctttttgtca aagcatcatctcaacactgactTCTGGTGGC GGTGGCTCTGGTGGCGGTGGCGGTCCTCTGG GTGTCAGAGGTGGTGGCGGTGGCTCTGGTGG CGGTGGCTCTCTGAACACGACAATTCTGACG CCCAATGGGAATGAAGACACCACAGCTGATT TCTTCCTGACCACTATGCCCACTGACTCCCT CAGTGTTTCCACTCTGCCCCTCCCAGAGGTT CAGTGTTTTGTGTTCAATGTCGAGTACATGA ATTGCACTTGGAACAGCAGCTCTGAGCCCCA GCCTACCAACCTCACTCTGCATTATTGGTAC AAGAACTCGGATAATGATAAAGTCCAGAAGT GCAGCCACTATCTATTCTCTGAAGAAATCAC TTCTGGCTGTCAGTTGCAAAAAAAGGAGATC CACCTCTACCAAACATTTGTTGTTCAGCTCC AGGACCCACGGGAACCCAGGAGACAGGCCAC ACAGATGCTAAAACTGCAGAATCTGGTGATC CCCTGGGCTCCAGAGAACCTAACACTTCACA AACTGAGTGAATCCCAGCTAGAACTGAACTG GAACAACAGATTCTTGAACCACTGTTTGGAG CACTTGGTGCAGTACCGGACTGACTGGGACC ACAGCTGGACTGAACAATCAGTGGATTATAG ACATAAGTTCTCCTTGCCTAGTGTGGATGGG CAGAAACGCTACACGTTTCGTGTTCGGAGCC GCTTTAACCCACTCTGTGGAAGTGCTCAGCA TTGGAGTGAATGGAGCCACCCAATCCACTGG GGGAGCAATACTTCAAAAGAGAATCCTTTCC TGTTTGCATTGGAAGCCGACAAGACCCACAC CTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAATTGCTC GGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAA AGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGAC CCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTCGATGTG TCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATT GGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGC CAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGATTGGCTGAATGGCAAAGA			

[0219]

		GTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTG CCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCTCCAAGG CCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTA CACCTTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACC AAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCA AGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGA ATGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAAAACAAT TACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCG ACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGAC AGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAAC GTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCATGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC TCTGTCCCCTGGCTAATGA			
141-149	未使用				
其它 DNA 序列					
150	鼠类 Ig κ 链前导 DNA 序列	ATGGGTTGGTCCTGCATCATCCTGTTCCTGG TCGCCACCGCCACTGGGGTCCACTCC			
151	鼠类IL-2 DNA序列	GCACCTACATCATCATCAACTTCATCCTCCA CCGCTGAGGCTCAGCAACAACAGCAACAACA GCAGCAGCAGCAGCAGCATCTGGAGCAGCTG CTGATGGACCTGCAGGAGCTGCTGTCCAGAA TGGAGAACTACCGCAATCTGAAGCTGCCAAG GATGCTGACCTTCAAGTTTTATCTGCCCAAG CAGGCCACAGAGCTGAAGGACCTGCAGTGCC TGGAGGATGAGCTGGGCCCACTGAGGCACGT GCTGGACCTGACCCAGAGCAAGTCTTTCCAG CTGGAGGATGCTGAGAACTTTATCTCCAATA TCCGGGTGACCGTGGTGAAGCTGAAGGGCAG CGACAACACATTCGAGTGCCAGTTTGACGAT GAGTCTGCCACCGTGGTGGATTTCCTGAGGC GGTGGATCGCTTTTTGTCAGAGCATCATCTC CACAAGCCCTCAG			
152	MMP 切割位点 GPLGVRG DNA 序列	GGCCCACTGGGCGTGAGGGGT			
153	富含 Gly-Ser 的接头 DNA 序列	TCTGGAGGAGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGT			
154	鼠类 IL-2Rα DNA 序列	GAGCTGTGCCTGTACGACCCCCCTGAGGTGC CCAATGCCACCTTCAAGGCTCTGTCTTATAA GAACGGCACAATCCTGAATTGCGAGTGTAAG AGGGGCTTTAGACGCCTGAAGGAGCTGGTGT ACATGCGGTGTCTGGGCAACTCCTGGTCCAG CAATTGCCAGTGTACCTCTAACTCCCATGAC AAGAGCAGAAAGCAGGTGACAGCCCAGCTGG AGCACCAGAAGGAGCAGCAGACCACAACCGA TATGCAGAAGCCCACCCAGTCTATGCACCAG GAGAATCTGACAGGCCATTGCAGAGAGCCAC CCCCTTGGAAGCACGAGGATAGCAAGCGCAT CTATCATTTCGTGGAGGGCCAGTCTGTGCAC TACGAGTGTATCCCCGGCTATAAGGCCCTGC AGAGAGGCCCTGCTATCTCCATCTGCAAGAT GAAGTGTGGCAAGACCGGCTGGACACAGCCT CAGCTGACCTGCGTGGACGAGAGGGAGCACC ATCGGTTCCTGGCTAGCGAGGAGTCTCAGGG			

[0220]

		CTCCCGCAACTCTTCCCCTGAGAGCGAGACA TCTTGTCCAATCACAACCACAGATTTTCCAC AGCCCACCGAGACAACCGCTATGACAGAGAC CTTCGTGCTGACTATGGAATACAAA			
155	His 标签 DNA 序列	CACCACCACCACCACCAC			
156	终止密码子	TAATGA			
157	鼠类 IL-2 C140S DNA 序列	GCACCTACATCATCATCAACTTCATCCTCCA CCGCTGAGGCTCAGCAACAACAGCAACAACA GCAGCAGCAGCAGCAGCATCTGGAGCAGCTG CTGATGGACCTGCAGGAGCTGCTGTCCAGAA TGGAGAACTACCGCAATCTGAAGCTGCCAAG GATGCTGACCTTCAAGTTTTATCTGCCCAAG CAGGCCACAGAGCTGAAGGACCTGCAGTGCC TGGAGGATGAGCTGGGCCCACTGAGGCACGT GCTGGACCTGACCCAGAGCAAGTCTTTCCAG CTGGAGGATGCTGAGAACTTTATCTCCAATA TCCGGGTGACCGTGGTGAAGCTGAAGGGCAG CGACAACACATTCGAGTGCCAGTTTGACGAT GAGTCTGCCACCGTGGTGGATTTCCTGAGGC GGTGGATCGCTTTTTCCCAGAGCATCATCTC CACAAGCCCTCA			
158	鼠类 IgG1 T252M Fc 结构域 DNA 序列	GGATGCAAACCCTGTATCTGTACCGTGCCCG AGGTCTCTTCCGTCTTTATTTTCCCCCCCAA GCCTAAGGATGTGCTGATGATTACTCTGACC CCCAAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACATCA GCAAGGACGATCCTGAGGTGCAGTTCTCTTG GTTTGTGGACGATGTGGAGGTGCACACCGCC CAGACACAGCCAAGGGAGGAGCAGTTCAATA GCACCTTTCGGTCCGTGAGCGAGCTGCCCAT CATGCATCAGGATTGGCTGAATGGCAAGGAG TTCAAGTGCAGAGTGAACTCTGCCGCTTTTC CCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGAC AAAGGGCCGCCCAAAGGCTCCACAGGTGTAC ACCATCCCACCTCCAAAGGAGCAGATGGCTA AGGACAAGGTGTCTCTGACCTGTATGATCAC AGACTTCTTTCCTGAGGACATCACAGTGGAG TGGCAGTGGAACGGCCAGCCTGCCGAGAACT ATAAGAATACCCAGCCAATCATGGACACAGA TGGCTCTTACTTCGTGTATTCCAAGCTGAAC GTGCAGAAGTCCAATTGGGAGGCTGGCAACA CCTTTACATGTAGCGTGCTGCACGAAGGTCT GCATAACCATCATACCGAAAAATCACTGTCA CACTCCCCTGGA			
159	鼠类 IgG1 Fc 结构域 DNA 序列	GGATGCAAACCCTGTATCTGTACCGTGCCCG AGGTCTCTTCCGTCTTTATTTTCCCCCCCAA GCCTAAGGATGTGCTGACTATTACTCTGACC CCCAAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACATCA GCAAGGACGATCCTGAGGTGCAGTTCTCTTG GTTTGTGGACGATGTGGAGGTGCACACCGCC CAGACACAGCCAAGGGAGGAGCAGTTCAATA GCACCTTTCGGTCCGTGAGCGAGCTGCCCAT CATGCATCAGGATTGGCTGAATGGCAAGGAG TTCAAGTGCAGAGTGAACTCTGCCGCTTTTC CCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGAC			

[0221]

		AAAGGGCCGCCCAAAGGCTCCACAGGTGTAC ACCATCCCACCTCCAAAGGAGCAGATGGCTA AGGACAAGGTGTCTCTGACCTGTATGATCAC AGACTTCTTTCCTGAGGACATCACAGTGGAG TGGCAGTGGAACGGCCAGCCTGCCGAGAACT ATAAGAATACCCAGCCAATCATGGACACAGA TGGCTCTTACTTCGTGTATTCCAAGCTGAAC GTGCAGAAGTCCAATTGGGAGGCTGGCAACA CCTTTACATGTAGCGTGCTGCACGAAGGTCT GCATAACCATCATACCGAAAAATCACTGTCA CACTCCCCTGGAAAA			
160	人 IL-2 C125S DNA 序列	GCTCCTACATCCTCCAGCACCAAGAAAACCC AGCTGCAGTTGGAGCATCTGCTGCTGGACCT GCAGATGATCCTGAACGGCATCAACAACTAC AAGAACCCCAAGCTGACCCGGATGCTGACCT TCAAGTTCTACATGCCCAAGAAGGCCACCGA GCTGAAACATCTGCAGTGCCTGGAAGAGGAA CTGAAGCCCCTGGAAGAAGTGCTGAATCTGG CCCAGTCCAAGAACTTCCACCTGAGGCCTCG GGACCTGATCTCCAACATCAACGTGATCGTG CTCGAGCTGAAGGGCTCCGAGACAACCTTCA TGTGCGAGTACGCCGACGAGACAGCTACCAT CGTGGAATTTCTGAACCGGTGGATCACCTTC AGCCAGTCCATCATCAGCACCCTGACA			
161	人 IgG1 Fc 结构域 DNA 序列	GACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTG CTCCAGAATTGCTCGGCGGACCCTCCGTGTT CCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTG ATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCG TGGTGGTCGATGTGTCTCACGAGGATCCCGA AGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTG GAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAG AGGAACAGTACAACTCCACCTACAGAGTGGT GTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGG CTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGT CCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAA GACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCCCAGGTTTACACCTTGCCTCCATCTC GGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCT GACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAATGGCC AGCCTGAAAACAATTACAAGACAACCCCTCC TGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTG TACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGAT GGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT GATGCATGAGGCCCTGCACAACCACTACACC CAGAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGC			
162	人 IL-2 DNA 序列	GCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACAC AGCTACAACTGGAGCATTTACTTCTGGATTT ACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTAC AAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTCACAT TTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGA ACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAA CTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAG CTCAAAGCAAAAACTTTCACTTAAGACCCAG GGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTT CTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCA			

[0222]

		TGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCAT TGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTT TGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACT			
163	人 IgG1 K392D K409D Fc 结构域 DNA 序列	GACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAG CACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAA AACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCT GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC AGCCGGAGAACAACTACGACACCACGCCTCC CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCGACCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT			
164	人 IL-2Rα DNA 序列	GAGCTCTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCC CACACGCCACATTCAAAGCCATGGCCTACAA GGAAGGAACCATGTTGAACTGTGAATGCAAG AGAGGTTTCCGCAGAATAAAAAGCGGGTCAC TCTATATGCTCTGTACAGGAAACTCTAGCCA CTCGTCCTGGGACAACCAATGTCAATGCACA AGCTCTGCCACTCGGAACACAACGAAACAAG TGACACCTCAACCTGAAGAACAGAAAGAAAG GAAAACCACAGAAATGCAAAGTCCAATGCAG CCAGTGGACCAAGCGAGCCTTCCAGGTCACT GCAGGGAACCTCCACCATGGGAAAATGAAGC CACAGAGAGAATTTATCATTTCGTGGTGGGG CAGATGGTTTATTATCAGTGCGTCCAGGGAT ACAGGGCTCTACACAGAGGTCCTGCTGAGAG CGTCTGCAAAATGACCCACGGGAAGACAAGG TGGACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAGGTG AAATGGAGACCAGTCAGTTTCCAGGTGAAGA GAAGCCTCAGGCAAGCCCCGAAGGCCGTCCT GAGAGTGAGACTTCCTGCCTCGTCACAACAA CAGATTTTCAAATACAGACAGAAATGGCTGC AACCATGGAGACGTCCATATTTACAACAGAG TACCAG			
165	Gly-Ser 接头 DNA 序列	TCTGGTGGCGGTGGCTCTGGTGGCGGTGGC			
166	人 MMP 切割位点 DNA 序列	GGTCCTCTGGGTGTCAGAGGT			
167-179	未使用				
180-700	参见表 2				
另外的蛋白酶可切割序列					

[0223]

SEQ ID NO	可被以下切割	序列			
701	MMP7	KRALGLPG			
702	MMP7	$(DE)_8$RPLALWRS$(DR)_8$			
703	MMP9	PR(S/T)(L/I)(S/T)			
704	MMP9	LEATA			
705	MMP11	GGAANLVRGG			
706	MMP14	SGRIGFLRTA			
707	MMP	PLGLAG			
708	MMP	PLGLAX			
709	MMP	PLGC(me)AG			
710	MMP	ESPAYYTA			
711	MMP	RLQLKL			
712	MMP	RLQLKAC			
713	MMP、MMP9、MMP14	EP(Cit)G(Hof)YL			
714	尿激酶纤溶酶原激活剂（uPA）	SGRSA			
715	尿激酶纤溶酶原激活剂（uPA）	DAFK			
716	尿激酶纤溶酶原激活剂（uPA）	GGGRR			
717	溶酶体酶	GFLG			
718	溶酶体酶	ALAL			
719	溶酶体酶	FK			
720	组织蛋白酶 B	NLL			
721	组织蛋白酶 D	PIC(Et)FF			
722	组织蛋白酶 K	GGPRGLPG			
723	前列腺特异性抗原	HSSKLQ			
724	前列腺特异性抗原	HSSKLQL			
725	前列腺特异性抗原	HSSKLQEDA			
726	单纯疱疹病毒蛋白酶	LVLASSSFGY			
727	HIV 蛋白酶	GVSQNYPIVG			
728	CMV 蛋白酶	GVVQASCRLA			
729	凝血酶	F(Pip)RS			
730	凝血酶	DPRSFL			
731	凝血酶	PPRSFL			
732	胱天蛋白酶-3	DEVD			
733	胱天蛋白酶-3	DEVDP			
734	胱天蛋白酶-3	KGSGDVEG			
735	白介素 1β 转化酶	GWEHDG			
736	肠激酶	EDDDDKA			
737	FAP	KQEQNPGST			
738	激肽释放酶 2	GKAFRR			
739	纤溶酶	DAFK			

[0224]

740	纤溶酶	DVLK			
741	纤溶酶	DAFK			
742	TOP	ALLLALL			
743-799	未使用				
另外的融合多肽					
SEQ ID NO	**描述**	**序列**	**物种**	**功能**	**注释**
800	TBM01	MVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVS GEGEGDATYGKLTLKFICT TGKLPVPWPTLVTTLTYGVQCFSRYPDHMKQ HDFFKSAMPEGYVQERTIF FKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDF KEDGNILGHKLEYNYNSHN VYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLAD HYQQNTPIGDGPVLLPDNH YLSTQSKLSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGIT LGMDELYKGGGGSASKAQK AQAKQWKQAQKAQKAQAKQAKQAKQWSGGGG SGGGGGPLGVRGGGGGSGG GGSMVSKGEELIKENMHMKLYMEGTVNNHHF KCTSEGEGKPYEGTQTMRI KVVEGGPLPFAFDILATSFMYGSRTFINHTQ GIPDFFKQSFPEGFTWERV TTYEDGGVLTATQDTSLQDGCLIYNVKIRGV NFPSNGPVMQKKTLGWEAN TEMLYPADGGLEGRSDMALKLVGGGHLICNF KTTYRSKKPAKNLKMPGVY YVDHRLERIKEADKETYVEQHEVAVARYCDL PSKLGHKLNGSGGGGGCKP CICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVT CVVVDISKDDPEVQFSWFV DDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMH QDWLNGKEFKCRVNSAAFP APIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAK DKVSLTCMITDFFPEDITV EWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKL NVQKSNWEAGNTFTCSVLH EGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	工具
801	TBM02	MVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVS GEGEGDATYGKLTLKFICT TGKLPVPWPTLVTTLTYGVQCFSRYPDHMKQ HDFFKSAMPEGYVQERTIF FKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDF KEDGNILGHKLEYNYNSHN VYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLAD HYQQNTPIGDGPVLLPDNH YLSTQSKLSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGIT LGMDELYKSGGGGSGGGGG PLGVRGGGGGSGGGGSMVSKGEELIKENMHM KLYMEGTVNNHHFKCTSEG EGKPYEGTQTMRIKVVEGGPLPFAFDILATS FMYGSRTFINHTQGIPDFF KQSFPEGFTWERVTTYEDGGVLTATQDTSLQ DGCLIYNVKIRGVNFPSNG PVMQKKTLGWEANTEMLYPADGGLEGRSDMA		融合蛋白	工具

[0225]

		LKLVGGGHLICNFKTTYRS KKPAKNLKMPGVYYVDHRLERIKEADKETYV EQHEVAVARYCDLPSKLGH KLNGSGGGGGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKP KDVLTITLTPKVTCVVVDI SKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFN STFRSVSELPIMHQDWLNG KEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQ VYTIPPPKEQMAKDKVSLT CMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLNVQKSN WEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
802	TBM05	MVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVS GEGEGDATYGKLTLKFICT TGKLPVPWPTLVTTLTYGVQCFSRYPDHMKQ HDFFKSAMPEGYVQERTIF FKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDF KEDGNILGHKLEYNYNSHN VYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLAD HYQQNTPIGDGPVLLPDNH YLSTQSKLSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGIT LGMDELYKSGGGGSGGGGG PLGVRGGGGGSGGGGSMVSKGEELIKENMHM KLYMEGTVNNHHFKCTSEG EGKPYEGTQTMRIKVVEGGPLPFAFDILATS FMYGSRTFINHTQGIPDFF KQSFPEGFTWERVTTYEDGGVLTATQDTSLQ DGCLIYNVKIRGVNFPSNG PVMQKKTLGWEANTEMLYPADGGLEGRSDMA LKLVGGGHLICNFKTTYRS KKPAKNLKMPGVYYVDHRLERIKEADKETYV EQHEVAVARYCDLPSKLGH KLNGSGGGGGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKP KDVLTITLTPKVTCVVVDI SKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFN STFRSVSELPIMHQDWLNG KEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQ VYTIPPPKEQMAKDKVSLT CMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLNVQKSN WEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK GGGGSASKAQKAQAKQWKQ AQKAQKAQAKQAKQAKQW		融合蛋白	工具
803	构建体 F	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST LTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSEL CLYDPPEVPNATFKALSYK NGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSS NCQCTSSATRNTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREP PPWENEATERIYHFVVGQM VYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWT QPQLICTGEMETSQFPGEE		融合蛋白	

[0226]

		KPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAA TMETSIFTTEYQDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG			
804	构建体 G	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST LTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSEL CDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSH SSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPG HCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQGS GGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
805	构建体 H	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIIST LTSGGGGSGGGGGPLGVRG GGGGSGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTMLNCECKRGFRRIKSG SLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQS PMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHR GPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPGSGGGGDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY		融合蛋白	

[0227]

		SKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG			
806	构建体 V	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIIST LTSGGGGSGGGGGPLGVRG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCEC KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQC TSSATRNTTKQVTPQPEEQ KERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQ CVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQL ICTGEMETSQFPGEEKPQA SPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMET SIFTTEYQGSGGGGDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
807	构建体 W	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIIST LTSGGGGSGGGGGPLGVRG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE LCDDDPPEIPHATFKAMAY KEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSS HSSWDNQCQCTSSATRNTT KQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLP GHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTH GKTRWTQPQLICTGEMETS QFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQG SGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
808	构建体 X	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ		融合蛋白	

[0228]

		LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFSQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPAALIGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
809	构建体 Y	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKL PRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLR HVLDLTQSKSFQLEDAENF ISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVD FLRRWIAFSQSIISTSPQV RIQRKKEKMKETGPLGVRGGGGGSGGGGSEL CLYDPPEVPNATFKALSYK NGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSS NCQCTSNSHDKSRKQVTAQ LEHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCRE PPPWKHEDSKRIYHFVEGQ SVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGW TQPQLTCVDEREHHRFLAS EESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETT AMTETFVLTMEYKIEGRMD GCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLT PKVTCVVVDISKDDPEVQF SWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSEL PIMHQDWLNGKEFKCRVNS AAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKE QMAKDKVSLTCMITDFFPE DITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFV YSKLNVQKSNWEAGNTFTC SVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
810	构建体 Z	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGLARGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP		融合蛋白	

[0229]

		QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
811	构建体 AA	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGFHR RIKAGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
812	构建体 BB	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGFHR RIKAGVRLGPGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
813	构建体 CC	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGHHPHG		融合蛋白	

[0230]

		HHPHGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
814	构建体 DD	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGHHPHG HHPHGVRLGPGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
815	构建体 EE	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGW SHWGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEVP NATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVY MRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLE HQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPP PWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQ RGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQ PTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEVS SVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKD DPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTF RSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAP IEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDK VSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKN TQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFT		融合蛋白	

[0231]

		CSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
816	构建体 FF	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGW SHWGVRLGPGGGGGSGGGGSELCLYDPPEVP NATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVY MRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLE HQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPP PWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQ RGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQ PTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEVS SVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKD DPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTF RSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAP IEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDK VSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKN TQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFT CSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
817	构建体 GG	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGKLW VLPKGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
818	构建体 HH	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGKLW VLPKGVRLGPGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK		融合蛋白	

[0232]

		DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
819	构建体 II	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSLHERH LNNNGPLGVRGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
820	构建体 JJ	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSLHERH LNNNGVRLGPGGGGGSGGGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
821	构建体 KK	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQVRIQRK KEKMKETGVRLGPGGGGGSGGGGSELCLYDP PEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLK		融合蛋白	

[0233]

		ELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVT AQLEHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHC REPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGY KALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDE REHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTT DFPQPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTV PEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVD ISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQF NSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAA FPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQM AKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAE NYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAG NTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
822	构建体 LL	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGVRGFHRRIKAGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
823	构建体 MM	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGVRLGPGFHRRIKAGGSELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	

[0234]

824	构建体 NN	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGVRGGHHPHGHHPHELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
825	构建体 OO	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGVRLGPGGHHPHGHHPHELCLYDPPEV PNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQL EHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREP PPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKAL QRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFP QPTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEV SSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTF TCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
826	构建体 PP	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGPLGVRGGGWSHWGGSELCLYDPPEVP NATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVY MRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLE HQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPP PWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQ RGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQ PTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEVS SVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKD		融合蛋白	

		DPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTF RSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAP IEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDK VSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKN TQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFT CSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK			
827	构建体 QQ	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPK QATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQ LEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDD ESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQSGGGGS GGGGGVRLGPGGGWSHWGGSELCLYDPPEVP NATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVY MRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLE HQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPP PWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQ RGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQ PTETTAMTETFVLTMEYKGCKPCICTVPEVS SVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKD DPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTF RSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAP IEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDK VSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKN TQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFT CSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
828	构建体 RR	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGSGGGGGPLGVRGK LWVLPKGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
829	构建体 SS	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGSGGGGGVRLGPGK LWVLPKGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN		融合蛋白	

[0235]

[0236]

		GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGK			
830	构建体 TT	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGSGGGGGPLGVRGL HERHLNNNGELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
831	构建体 UU	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGSGGGGGVRLGPGL HERHLNNNGELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH		融合蛋白	

[0237]

		HTEKSLSHSPGK			
832	构建体 VV	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGGHHPHGPLGVRGG GGGSGGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
833	构建体 WW	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQGHHPHSGGGGGPLGVRGG GGGSGGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGK		融合蛋白	
834	构建体 XX	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGSGGGGGPLGVRGG HHPHGGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK		融合蛋白	

[0238]

		CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGK			
835	构建体 YY	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGSGGGGGPLGVRGG GGGSGGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGKGHHPHGHHPH		融合蛋白	
836	构建体 ZZ	MGWSCIILFLVATATGVHSAPTSSSTSSSTA EAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRME NYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLE DELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIR VTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRW IAFCQSIISTSPQSGGGGSGGGGGPLGVRGG GGGSGGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSN CQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIY HFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMK CGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETF VLTMEYKGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGR PKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSY FVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNH HTEKSLSHSPGKGHHPH		融合蛋白	
837	构建体 I	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE		融合蛋	

[0239]

		LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTIL NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGHHHHHH		白	
838	构建体 J	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSVYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGHHHHHH		融合蛋白	
839	构建体 K	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD		融合蛋白	

[0240]

		SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGHHHHHH			
840	构建体 L	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKELVYMLCTGNSSHSSWDNQ CQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQ SPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYH FVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTH GKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASP EGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSI FTTEYQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGHHHHHH		融合蛋白	
841	构建体 M	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
842	构建体 N	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCGSGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY		融合蛋白	

[0241]

		NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG			
843	构建体 O	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTIL NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCGSGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
844	构建体 P	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSVYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCGSGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
845	构建体 Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGS GGGGSELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIY HFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT		融合蛋白	

[0242]

		HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS PEGRPESETSCGSGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG			
846	构建体 AAA	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST LTSGGGGSGGGGGPLGVRGGGGGSGGGGSEL CDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTILNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSH SSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPG HCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQGS GGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
847	构建体 BBB	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST LTSGGGGSGGGGGVRLGPGGGGGSGGGGSEL CDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTILNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSH SSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPG HCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQGS GGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV		融合蛋白	

		LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG			
848	构建体 CCC	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST LTGHHPHGHHPHGVRLGPGGGGGSGGGGSEL CDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTILNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSH SSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPG HCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQGS GGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
849	构建体 DDD	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST LTGHHPHGHHPHGPLGVRGGGGGSGGGGSEL CDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTILNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSH SSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPG HCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQGS GGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
850	构建体 EEE	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST		融合蛋白	

[0243]

[0244]

		LTVRIQRKKEKMKETGPLGVRGGGGGSGGGG SELCDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTILNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSH SSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPG HCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQGS GGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG			
851	构建体 FFF	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFSQSIIST LTVRIQRKKEKMKETGPLGVRGGGGGSGGGG SELCDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTILNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSH SSWDNQCQCTSSATRNTTK QVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPG HCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQ FPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQGS GGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG		融合蛋白	
852	构建体 GGG	APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQL LMDLQELLSRMENYRNLKL PRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLR HVLDLTQSKSFQLEDAENF ISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVD FLRRWIAFSQSIISTSPQS GGGGSGGGGGVRLGPGGGGGSGGGGSELCLY DPPEVPNATFKALSYKNGT ILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQ CTSNSHDKSRKQVTAQLEH QKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPP		融合蛋白	

[0245]

		WKHEDSKRIYHFVEGQSVH YECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQP QLTCVDEREHHRFLASEES QGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMT ETFVLTMEYKGCKPCICTV PEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVD ISKDDPEVQFSWFVDDVEV HTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLN GKEFKCRVNSAAFPAPIEK TISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSL TCMITDFFPEDITVEWQWN GQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKS NWEAGNTFTCSVLHEGLHN HHTEKSLSHSPGK			

[0246] 表2.靶向序列表

[0247]

SEQ ID NO	序列	与以下结合	注释 1	注释 2
180	(TLTYTWS)n	变性胶原蛋白 IV	与 MMP 降解的胶原蛋白结合	
181	(CREKA)n	变性胶原蛋白 IV	与 MMP 降解的胶原蛋白结合	抑制肿瘤脉管系统形成
182	(GXY)n	变性胶原蛋白	Gly = 甘氨酸/X = 脯氨酸或经修饰的脯氨酸/Y = 脯氨酸或经修饰的脯氨酸	此肽与被 MMP 预水解消化的胶原蛋白结合
183	GHCVTDSGVVYSVGMQWLK TQGNKQMLCTCLGNGVSCQ ET	变性胶原蛋白	来自纤连蛋白结构域 1-6	
184	EICTTNEGVMYRIGDQWDKQ HDMGHMMRCTCVGNGRGE WTCIAY	变性胶原蛋白	来自纤连蛋白结构域 1-7	
185	DQCIVDDITYNVNDTFHKRH EEGHMLNCTCFGQGRGRWK CDPV	变性胶原蛋白	来自纤连蛋白结构域 1-8	
186	DQCQDSETGTFYQIGDSWEK YVHGVRYQCYCYGRGIGEW HCQPL	变性胶原蛋白	来自纤连蛋白结构域 1-9	
187	SNGEPCVLPFTYNGRTFYSCT TEGRQDGHLWCSTTSNYEQD QKYSFCTD	变性胶原蛋白	来自纤连蛋白结构域 2-1	
188	SNGALCHFPFLYNNHNYTDC TSEGRRDNMKWCGTTQNYD ADQKFGFCPM	变性胶原蛋白	来自纤连蛋白结构域 2-2	
189	RRANAALKAGELYKSILYGC	I 型胶原蛋白	Kd 0.86 uM // 860 nM	与胶原蛋白的差异结合亲和力
190	RRANAALKAGELYKCILYGC	I 型胶原蛋白	Kd：10 nM（紧密结合）	与胶原蛋白的差异结合亲和力

[0248]

191	MIVIELGTNPLKSSGIENGAFQGMKK	I 型胶原蛋白	Kd 0.394 uM // 394 nM	与胶原蛋白的差异结合亲和力
192	LRELHLNNN	I 型胶原蛋白	Kd 0.17 uM // 170 nM	与胶原蛋白的差异结合亲和力
193	WREPSFCALS	I 型胶原蛋白	Kd 100 uM // 100,000 nM	与胶原蛋白的差异结合亲和力
194	TKKTLRT	I 型胶原蛋白	Kd ≤ 100 uM	与胶原蛋白的差异结合亲和力
195	CPKESCNLFVLKD	I 型胶原蛋白	Kd 0.681 uM // 681 nM	与胶原蛋白的差异结合亲和力
196	WREPSFCALS	I 型胶原蛋白	Kd： 100 uM // 100,000 nM	与胶原蛋白的差异结合亲和力
197	HVWMQAPGGGK	I 型胶原蛋白	Kd 61 uM // 61,000 nM	H-V-F/W-Q/M-Q-P/A-P/K 基序
198	HVWMQAPGGGC	I 型胶原蛋白		
199	WYRGRL	II 型胶原蛋白		
200	KLWVLPK	IV 型胶原蛋白		
201	RRANAALKAGELYKSILY	胶原蛋白		
202	GELYKSILY	胶原蛋白		
203	RRANAALKAGELYKCILY	胶原蛋白		
204	GELYKCILY	胶原蛋白		
205	RLDGNEIKR	胶原蛋白		
206	AHEEISTTNEGVM	胶原蛋白		
207	NGVFKYRPRYFLYKHAYFYPPLKRFPVQ	胶原蛋白		
208	CQDSETRTFY	胶原蛋白		
209	TKKTLRT	胶原蛋白		
210	GLRSKSKKFRRPDIQYPDATDEDITSHM	胶原蛋白		
211	SQNPVQP	胶原蛋白		
212	SYIRIADTNIT	胶原蛋白		
213	KELNLVYT	胶原蛋白		
214	GSIT	胶原蛋白		
215	GSITTIDVPWNV	胶原蛋白		
216	GQLYKSILY	胶原蛋白		
217	RRANAALKAGQLYKSILY	胶原蛋白		
218	WREPSFCALS	胶原蛋白		
219	WHCTTKFPHHYCLY	胶原蛋白		
220	AHKCPWHLYTTHYCFT	胶原蛋白		
221	PAHKCPWHLYTHYCFT	胶原蛋白		
222	GROGER	胶原蛋白	O 是 4-羟脯氨酸（参见 Raynal, N.等人,《生物化学杂志（J. Biol. Chem.）》, 2006, 281(7), 3821-3831）	
223	GMOGER	胶原蛋白	O 是 4-羟脯氨酸（参见 Raynal, N.等人,《生物化学杂志》, 2006, 281(7), 3821-3831）	

[0249]

224	GLOGEN	胶原蛋白	O 是 4-羟脯氨酸（参见 Raynal, N.等人, 《生物化学杂志》, 2006, 281(7), 3821-3831）	
225	GLOGER	胶原蛋白	O 是 4-羟脯氨酸（参见 Raynal, N.等人, 《生物化学杂志》, 2006, 281(7), 3821-3831）	
226	GLKGEN	胶原蛋白	O 是 4-羟脯氨酸（参见 Raynal, N.等人, 《生物化学杂志》, 2006, 281(7), 3821-3831）	
227	GFOGERGVEGPOGPA	胶原蛋白	O 是 4-羟脯氨酸（参见 Raynal, N.等人, 《生物化学杂志》, 2006, 281(7), 3821-3831）	
228	WREPSFCALS	胶原蛋白		Takagi, J.等人, 《生物化学（Biochemistry）》, 1992, 31, 8530-8534
229	WYRGRL	胶原蛋白		Rothenfluh D.A.等人, 《自然材料（Nat. Mater.）》 2008, 7(3), 748-54
230	WTCSGDEYTWHC	胶原蛋白		
231	WTCVGDHKTWKC	胶原蛋白		
232	QWHCTTRFPHHYCLYG	胶原蛋白		U.S. 2007/0293656)
233	STWTWNGSAWTWNEGGK	胶原蛋白		
234	STWTWNGTNWTRNDGGK	胶原蛋白		WO/2014/059530
235	CVWLWEQC	胶原蛋白		
236	CMTSPWRC	胶原蛋白		Vanhoorelbeke, K.等人, 《生物化学杂志》, 2003, 278, 37815-37821
237	CPGRVMHGLHLGDDEGPC	胶原蛋白		Muzzard, J.等人, 《公共科学图书馆·综合（PLoS one.）》 4 (e5585) I-10)
238	KLWLLPK	胶原蛋白		Chan, J. M.等人, 《美国国家科学院院刊（Proc Natl Acad Sci U.S.A.）》, 2010, 107, 2213- 2218)
239	CQDSETRTFY	胶原蛋白		U.S. 2013/0243700
240	LSELRLHEN	胶原蛋白		Fredrico, S., 《应用化学国际英文版（Angew. Chem. Int. Ed.）》 2015, 37, 10980-10984

[0250]

241	LTELHLDNN	胶原蛋白		Fredrico, S., 《应用化学国际英文版》2015, 37, 10980-10985
242	LSELRLHNN	胶原蛋白		Fredrico, S., 《应用化学国际英文版》2015, 37, 10980-10986
243	LSELRLHAN	胶原蛋白		Fredrico, S., 《应用化学国际英文版》2015, 37, 10980-10987
244	LRELHLNNN	胶原蛋白		Fredrico, S., 《应用化学国际英文版》2015, 37, 10980-10988
245	RVMHGLHLGDDE	胶原蛋白		
246	RVMHGLHLGNNQ	胶原蛋白		
747	RVMHGLHLGNNQ	胶原蛋白		
748	GQLYKSILYGSG-4K2K	胶原蛋白	(4-分支肽)，其可以与融合多肽缀合	
749	GSGQLYKSILY	胶原蛋白		
250	GSGGQLYKSILY	胶原蛋白		
251	KQLNLVYT	胶原蛋白		
252	CVWLWQQC	胶原蛋白		
253	WREPSFSALS	胶原蛋白		
254	GHRPLDKKREEAPSLRPAPPPISGGGYR	胶原蛋白		
255	GHRPLNKKRQQAPSLRPAPPPISGGGYR	胶原蛋白		
256	GELYKSILYGSG	胶原蛋白		
257	GQLYKSILYGSG	胶原蛋白		
258	RYPISRPRKRGSG	胶原蛋白		
259	GELYKSILYGC	胶原蛋白		
260	RLDGNEIKRGC	胶原蛋白		
261	AHEEISTTNEGVMGC	胶原蛋白		
262	GCGGELYKSILY	胶原蛋白		
263	NGVFKYRPRYFLYKHAYFYPPLKRFPVQGC	胶原蛋白		
264	CQDSETRTFYGC	胶原蛋白		
265	TKKTLRTGC	胶原蛋白		
266	GLRSKSKKFRRPDIQYPDATDEDITSHMGC	胶原蛋白		
267	SQNPVQPGC	胶原蛋白		
268	SYIRIADTNITGC	胶原蛋白		
269	KELNLVYTGC	胶原蛋白		
270	GSITTIDVPWNVGC	胶原蛋白		
271	GCGGELYKSILYGC	胶原蛋白		
272	RRANAALKAGELYKSILYGSG	胶原蛋白		
273	环状 CVWLWENC	胶原蛋白	环状肽可以与融合多肽缀合	

[0251]

274	环状 CVWLWEQC	胶原蛋白	环状肽可以与融合多肽缀合	Depraetere H.等人,《血液（Blood.）》1998, 92, 4207-4211；以及 Duncan R.,《自然综述：药物发现（Nat Rev Drug Discov）》, 2003, 2(5), 347-360
275	D-氨基酸 EDDGLHLGHMVR	胶原蛋白	含有 D-氨基酸的肽可以与 ODC 缀合	
276	D-氨基酸 QNNGLHLGHMVR	胶原蛋白	含有 D-氨基酸的肽可以与 ODC 缀合	
277	PPTDLRFTNIGPDTMRVTWAPPPSIDLTNFLVRYSPVKNEEDVAELSISPSDNAVVLTNLLPGTEYVVSVSSVYEQHESTPLRGRQKTGLDSP	整合素	来自纤连蛋白结构域 III-9	
278	TGIDFSDITANSFTVHWIAPRATITGYRIRHHPEHFSGRPREDRVPHSRNSITLTNLTPGTEYVVSIVALNGREESPLLIGQQSTVSD	整合素	来自纤连蛋白结构域 III-10	
279	PGCYDNGKHYQINQQWERTYLGNALVCTCYGGSRGFNCESK	整合素	来自纤连蛋白结构域 1-1	
280	ETCFDKYTGNTYRVGDTYERPKDSMIWDCTCIGAGRGRISCTIA	整合素	来自纤连蛋白结构域 1-2	
281	NRCHEGGQSYKIGDTWRRPHETGGYMLECVCLGNGKGEWTCKPI	整合素	来自纤连蛋白结构域 1-3	
282	EKCFDHAAGTSYVVGETWEKPYQGWMMVDCTCLGEGSGRITCTSR	整合素	来自纤连蛋白结构域 1-4	
283	NRCNDQDTRTSYRIGDTWSKKDNRGNLLQCICTGNGRGEWKCERH	整合素	来自纤连蛋白结构域 1-5	
284	GHCVTDSGVVYSVGMQWLKTQGNKQMLCTCLGNGVSCQET	变性胶原蛋白/整合素	来自纤连蛋白结构域 1-6	在胶原蛋白中复制
285	EICTTNEGVMYRIGDQWDKQHDMGHMMRCTCVGNGRGEWTCIAY	变性胶原蛋白/整合素	来自纤连蛋白结构域 1-7	在胶原蛋白中复制
286	DQCIVDDITYNVNDTFHKRHEEGHMLNCTCFGQGRGRWKCDPV	变性胶原蛋白/整合素	来自纤连蛋白结构域 1-8	在胶原蛋白中复制
287	DQCQDSETGTFYQIGDSWEKYVHGVRYQCYCYGRGIGEWHCQPL	变性胶原蛋白/整合素	来自纤连蛋白结构域 1-9	在胶原蛋白中复制
288	APTDLKFTQVTPTSLSAQWTPPNVQLTGYRVRVTPKEKTGPMKEINLAPDSSSVVVSGLMVATKYEVSVYALKDTLTSRPAQGVVTTLENVSPP	整合素	来自纤连蛋白结构域 III-14	

[0252]

289	APTNLQFVNETDSTVLVRWT PPRAQITGYRLTVGLTRRGQP RQYNVGPSVSKYPLRNLQPA SEYTVSLVAIKGNQESPKATG VFTTLQPG	整合素	来自纤连蛋白结构域 III-5
290	KGHRGF	整合素	源自胶原蛋白 I
291	GFPGER	整合素	源自胶原蛋白 I
292	GTPGPQGIAGQRDVV	整合素	源自胶原蛋白 α1（I）
293	EKGPD	整合素	源自胶原蛋白 II
294	EKGPDP	整合素	源自胶原蛋白 II
295	EKGPDPL	整合素	源自胶原蛋白 II
296	TAGSCLRKFSTM	整合素	源自胶原蛋白 IV
297	TAIPSCPEGTVPLYS	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
298	TDIPPCPHGWISLWK	整合素	源自胶原蛋白 IV
299	PHSRN	整合素	源自纤连蛋白
300	RGD	整合素	源自纤连蛋白
301	GRGDSP	整合素	源自纤连蛋白
302	YRVRVTPKEKTGPMKE	整合素	源自纤连蛋白
303	SPPRRARVT	整合素	源自纤连蛋白
304	WQPPRARI	整合素	源自纤连蛋白
305	KNNQKSEPLIGRKKT	整合素	源自纤连蛋白
306	EILDVPST	整合素	源自纤连蛋白
307	REDV	整合素	源自纤连蛋白
308	RQVFQVAYIIIKA	整合素	源自层粘连蛋白 α-1 链
309	SINNTAVMQRLT	整合素	源自层粘连蛋白 α-1 链
310	IKVAV	整合素	源自层粘连蛋白 α-1 链
311	NRWHSIYITRFG	整合素	源自层粘连蛋白 α-1 链
312	TWYKIAFQRNRK	整合素	源自层粘连蛋白 α-1 链
313	RKRLQVQLSIRT	整合素	源自层粘连蛋白 α-1 链
314	KNRLTIELEVRT	整合素	源自层粘连蛋白 α-2 链
315	SYWYRIEASRTG	整合素	源自层粘连蛋白 α-2 链
316	DFGTVQLRNGFPFFSYDLG	整合素	源自层粘连蛋白 α-2 链
317	GQLFHVAYILIKF	整合素	源自层粘连蛋白 α-3 链
318	KNSFMALYLSKG	整合素	源自层粘连蛋白 α-3 链
319	TLFLAHGRLVFM	整合素	源自层粘连蛋白 α-4 链
320	GQVFHVAYVLIKF	整合素	源自层粘连蛋白 α-5 链
321	GIIFFL	整合素	源自层粘连蛋白 α-5 链
322	LALFLSNGHFVA	整合素	源自层粘连蛋白 α-5 链
323	RYVVLPR	整合素	源自层粘连蛋白 β-1 链
324	PDSGR	整合素	源自层粘连蛋白 β-1 链
325	YIGSR	整合素	源自层粘连蛋白 β-1 链
326	KAFDITYVRLKF	整合素	源自层粘连蛋白 γ-1 链
327	RNIAEIIKDI	整合素	源自层粘连蛋白 γ-1 链
328	FRHRNRKGY	整合素	源自玻连蛋白
329	KKQRFRHRNRKGYRSQ	整合素	源自玻连蛋白
330	FHRRIKA	整合素	源自唾液蛋白
331	KRSR	整合素	源自唾液蛋白
332	GLPGER	α1β1、α2β1	源自胶原蛋白 α1（I）7S

[0253]

333	GFPGER	α1β1、α2β1	源自胶原蛋白 α1（I）
334	GLSGER	α2β1	源自胶原蛋白 α1（I）
335	DGEA	α2β1	源自胶原蛋白 α1（I）
336	GPAGKDGEAGAQG	α2β1	源自胶原蛋白 α1（I）
337	GPKGAAGEPGKP	α1β1、α3β1	源自胶原蛋白 α1（I）
338	GAPGPKGARGSA	α1β1、α3β1	源自胶原蛋白 α1（I）
339	GPQGIAGQRGVVGLP	α1β1	源自胶原蛋白 α1（I）
340	PKGQKGEKG	Poly(I)	源自胶原蛋白 α1（I）
341	GASGER	α2β1	源自胶原蛋白 α1（I）
342	GQRGER	α2β1	源自胶原蛋白 α1（I）
343	GMPGER	整合素	源自胶原蛋白 α1（I）
344	RGQPGVMGF	VWF	源自胶原蛋白 α1（III）
345	GKDGES	α2β1	源自胶原蛋白 α1（III）
346	GLKGEN	α2β1	源自胶原蛋白 α1（III）
347	GLPGEN	α2β1	源自胶原蛋白 α1（III）
348	GLPGEA	α2β1	源自胶原蛋白 α1（III）
349	GPPGDQGPPGIP	α1β1	源自胶原蛋白 α1（IV）
350	GAKGRAGFPGLP	α1β1	源自胶原蛋白 α1（IV）
351	MFKKPTPSTLKAGELR	整合素	源自胶原蛋白 α1（IV）
352	GFPGSRGDTGPP	整合素	源自胶原蛋白 α1（IV）
353	GVKGDKGNPGWPGAP	整合素	源自胶原蛋白 α1（IV）
354	FYFDLR	α1β1、α2β1	源自胶原蛋白 α1（IV）
355	MFKKPTPSTLKAGELR	整合素	源自胶原蛋白 α1（IV）
356	GFPGSRGDTGPP	整合素	源自胶原蛋白 α1（IV）
357	GVKGDKGNPGWPGAP	整合素	源自胶原蛋白 α1（IV）
358	FYFDLR	α1β1、α2β1	源自胶原蛋白 α1（IV）
359	RGQPGVPGVPGMKGD	整合素	源自胶原蛋白 α2（IV）
360	TDIPPCPHGWISLWK	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
361	MNYYSNS	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
362	CNYYSNSYSFWLASLNPER	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
363	ISRCQVCMKKRH	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
364	TLGSCLQRFTTM	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
365	GRRGKT	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
366	RGQPGRKGL	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
367	MFRKPIPSTVKA	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
368	IISRCQVCMKMRP	整合素	源自胶原蛋白 α3（IV）-NC1
369	LAGSCLPVFSTL	整合素	源自胶原蛋白 α4（IV）-NC1
370	TAGSCLRRFSTM	整合素	源自胶原蛋白 α5（IV）-NC1
371	NKRAHG	整合素	源自胶原蛋白 α5（IV）-NC2
372	WTPPRAQITGYRLTVGLTRR	α5β1	源自纤连蛋白 III-5
373	KLDAPT	α4β1、α4β7	源自纤连蛋白 III-5
374	PHSRN	α5β1	源自纤连蛋白 III-9
375	RGD	α5β1, αvβ3	源自纤连蛋白 III-10
376	RGDS	αIIbβ3	源自纤连蛋白 III-10
377	GRGDSP	α5β1	源自纤连蛋白 III-10
378	EDGIHEL	α4β1, α9β1	源自纤连蛋白 EDA

[0254]

379	PRARITGYIIKYEKPGSPPREV VPRPRPGV	整合素	源自纤连蛋白 III-14	
380	IDAPS	α4β1	源自纤连蛋白 IIICS-1	
381	VVIDASTAIDAPSNL	α4β1	源自纤连蛋白 IIICS-1	
382	LDVPS	α4β1	源自纤连蛋白 IIICS-1	
383	REDV	α4β1	源自纤连蛋白 IIICS-5	
384	PHSRN-RGDSP	α5β1	源自纤连蛋白 III-10	
385	PLDREAIAKY	整合素	源自 E-钙粘素 EC1	
386	HAVDI	整合素	源自 E-钙粘素 EC1，凹槽	
387	LFSHAVSSNG	整合素	源自 E-钙粘素 EC1，凹槽	
388	ADTPPV	整合素	源自 E-钙粘素 EC1，凸起	
389	QGADTPPVGV	整合素	源自 E-钙粘素 EC1，凸起	
390	PLDREAIAKY	整合素	源自 E-钙粘素 EC1	
391	DQNDN	整合素	源自 E-钙粘素 EC1	
392	HAVDI	整合素	源自 E-钙粘素 EC1	
393	LRAHAVDING	整合素	源自 E-钙粘素 EC1	
394	LRAHAVDVNG	整合素	源自 E-钙粘素 EC1	
395	VITVKDINDN	整合素	源自 E-钙粘素 EC2	
396	GLDRESYPYY	整合素	源自 E-钙粘素 EC2	
397	MKVSATDADD	整合素	源自 E-钙粘素 EC2	
398	QDPELPDKNM	整合素	源自 E-钙粘素 EC2，凸起	
399	LVVQAADLQG	整合素	源自 E-钙粘素 EC2，凹槽	
400	NDDGGQFVVT	整合素	源自 E-钙粘素 EC3，凸起	
401	LVVQAADLQG	整合素	源自 E-钙粘素 EC2，凹槽	
402	TYRIWRDTAN	整合素	源自 E-钙粘素 EC4，凸起	
403	YILHVAVTNY	整合素	源自 E-钙粘素 EC3，凹槽	
404	YTALIIATDN	整合素	源自 E-钙粘素 EC4，凹槽	
405	QDPELPDKNM	整合素	源自 E-钙粘素 EC2，凸起	
406	RGDV	αvβ3、αvβ5	生长激素 B	
407	PQVTRGDVFTMP	αvβ3、αvβ5	生长激素 B	
408	LNRQELFPFG	整合素	巢蛋白 G2	
409	SIGFRGDGQTC	整合素	巢蛋白 G2	
410	TWSKVGGHLRPGIVQSG	IgB	基底膜聚糖 IV	
411	VAEIDGIEL	α9β1	肌腱蛋白-C	
412	VFDNFVLK	α7β1	肌腱蛋白-C	
413	VGVAPG	整合素	弹性蛋白	
414	PGVGV	整合素	弹性蛋白	
415	TTSWSQCSKS	α6β1	CCN-1	
416	SVVYGLR	α9β1	骨桥蛋白	
417	DGRGDSVAYG	αvβ3	骨桥蛋白	
418	LALERKDHSG	α6β1	血小板反应蛋白	
419	RGDF	αIIIbβ3	纤维蛋白原	
420	KRLDGSV	αMβ2	纤维蛋白原	
421	HHLGGAKQAGDV	αIIbβ3	纤维蛋白原	
422	YSMKKTTMKIIPFNRLTIG	αIIbβ3	纤维蛋白原	
423	GVYYQGGTYSKAS	αMβ2	纤维蛋白原	

[0255]

424	LWVTVRSQQRGLF	α5β1	层粘连蛋白 α1 LN（A3）	
425	GTNNWWQSPSIQN	α4β1、α4β7	层粘连蛋白 α1 LN（A10）	
426	WVTVTLDLRQVFQ	α5β1	层粘连蛋白 α1 LN（A12）	
427	RQVFQVAYIIIKA	α1β1、α2β1	层粘连蛋白 α1 LN（A13）	
428	LTRYKITPRRGPPT	α5β1	层粘连蛋白 α1 LN（A18）	
429	LLEFTSARYIRL	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 α1 LN（A24）	
430	YIRLRLQRIRTL	整合素	层粘连蛋白 α1 LN（A25）	
431	RRYYYSIKDISV	整合素	层粘连蛋白 α1 V? （A29）	
432	GGFLKYTVSYDI	整合素	层粘连蛋白 α1 L4a（A55）	
433	RDQLMTVLANVT	整合素	层粘连蛋白 α1 L4a（A64）	
434	VLIKGGRARKHV	α5β1	层粘连蛋白 α1 L4a（A112）	
435	NLLLLLVKANLK	整合素	层粘连蛋白 α1 L1（A167）	
436	HRDELLLWARKI	整合素	层粘连蛋白 α1 L1（A174）	
437	KRRARDLVHRAE	整合素	层粘连蛋白 α1 L1（A177）	
438	SQFQESVDNITK	整合素	层粘连蛋白 α1 L1（A191）	
439	PGGMREKGRKAR	整合素	层粘连蛋白 α1 L1（A194）	
440	MEMQANLLLDRL	整合素	层粘连蛋白 α1 L1（A203）	
441	LSEIKLLISRAR	整合素	层粘连蛋白 α1 L1（A206）	
442	IKVAV	αvβ3	层粘连蛋白 α1 L1（A208）	
443	AASIKVAVSADR	αvβ3	层粘连蛋白 α1 L1（A208）	
444	NRWHSIYITRFG	α6β1	层粘连蛋白 α1 LG1（AG10）	
445	SSFHFDGSGYAM	整合素	层粘连蛋白 α1 LG2（AG22）	
446	IAFQRN	α6β1	层粘连蛋白 α1 LG2（AG32）	
447	TWYKIAFQRNRK	α6β1	层粘连蛋白 α1 LG2（AG32）	
448	SLVRNRRVITIQ	整合素	层粘连蛋白 α1 LG2（AG56）	
449	DYATLQLQEGRLHFMFDLG	α2β1	层粘连蛋白 EF-1	
450	KKGSYNNIVVHV	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G2）	
451	ADNLLFYLGSAK	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G4）	
452	GSAKFIDFLAIE	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G5）	
453	KVSFLWWVGSGV	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G7）	
454	SYWYRIEASRTG	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G10）	
455	ISTVMFKFRTFS	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G25）	
456	KQANISIVDIDSN	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G34）	
457	FSTRNESGIILL	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G48）	
458	RRQTTQAYYAIF	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G51）	
459	YAIFLNKGRLEV	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G52）	
460	KNRLTIELEVRT	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G76）	
461	GLLFYMARINHA	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G78）	
462	VQLRNGFPYFSY	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G80）	
463	HKIKIVRVKQEG	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G84）	
464	DFGTVQLRNGFPFFSYDLG	整合素	层粘连蛋白 EF-2	

[0256]

465	YFDGTGFAKAVG	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G94）
466	NGQWHKVTAKKI	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G103）
467	AKKIKNRLELVV	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G104）
468	GFPGGLNQFGLTTN	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G109）
469	IRSLKLTKGTGKP	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G111）
470	AKALELRGVQPVS	整合素	层粘连蛋白 α2 LG（A2G113）
471	GQLFHVAYILIKF	整合素	层粘连蛋白 α3（A3-10）
472	SQRIYQFAKLNYT	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G13）
473	NVLSLYNFKTTF	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G22）
474	NAPFPKLSWTIQ	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G27）
475	WTIQTTVDRGLL	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G28）
476	DTINNGRDHMILI	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G34）
477	MILISIGKSQKRM	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G35）
478	PPFLMLLKGSTR	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（A3GXX）
479	NQRLASFSNAQQS	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G57）
480	ISNVFVQRMSQSPEVLD	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G59）
481	KARSFNVNQLLQD	整合素	层粘连蛋白 α3 LG（MA3G63）
482	KNSFMALYLSKG	整合素	层粘连蛋白 α3 LG A3G75
483	KNSFMALYLSKGRLVFALG	整合素	层粘连蛋白 α3 LG A3G756
484	RDSFVALYLSEGHVIFALG	整合素	层粘连蛋白 EF-3
485	KPRLQFSLDIQT	整合素	层粘连蛋白 α3 LG MA3G70
486	DGQWHSVTVSIK	整合素	层粘连蛋白 α3 LG MA3G97
487	FVLYLGSKNAKK	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G4）
488	LAIKNDNLVYVY	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G6）
489	AYFSIVKIERVG	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G10）
490	DVISLYNFKHIY	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G20）
491	FFDGSSYAVVRD	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G24）
492	LHVFYDFGFSNG	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G31）
493	LKKAQINDAKYREISIIYHN	整合素	
494	RAYFNGQSFIAS	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G47）
495	SRLRGKNPTKGK	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G59）
496	LHKKGKNSSKPK	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G69）
497	RLKTRSSHGMIF	整合素	
498	GEKSQFSIRLKT	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G78）
499	TLFLAHGRLVFM	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G82）
500	LVFMFNVGHKKL	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G83）
501	TLFLAHGRLVFMFNVGHKKL	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G823）
502	DFMTLFLAHGRLVFMFNVG	整合素	层粘连蛋白 EF-4
503	HKKLKIRSQEKY	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G84）
504	GAAWKIKGPIYL	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G90）
505	VIRDSNVVQLDV	整合素	层粘连蛋白 α4 LG（A4G107）
506	EVNVTLDLGQVFH	α5β1	层粘连蛋白层粘连蛋白 α5 LN（S1）
507	GQVFHVAYVLIKF	α4β1、α4β7	层粘连蛋白层粘连蛋白 α5 LN（S2）
508	RDFTKATNIRLRFLR	α5β1	层粘连蛋白层粘连蛋白 α5 LN（S6）
509	NIRLRFLRTNTL	α5β1	层粘连蛋白层粘连蛋白 α5 LN（S7）

[0257]

510	GKNTGDHFVLYM	α5β1	层粘连蛋白 α5 LG1（A5G3）	
511	VVSLYNFEQTFML	整合素	层粘连蛋白 α5 LG1（A5G19）	
512	RFDQELRLVSYN	整合素	层粘连蛋白 α5 LG2（A5G26）	
513	ASKAIQVFLLGG	整合素	层粘连蛋白 α5 LG2（A5G33）	
514	TVFSVDQDNMLE	整合素	层粘连蛋白 α5 LG2（A5G36）	
515	RLRGPQRVFDLH	α5β1	层粘连蛋白 α5 LG3（A5G63）	
516	SRATAQKVSRRS	整合素	层粘连蛋白 α5 LG3（A5G66）	
517	GSLSSHLEFVGI	整合素	层粘连蛋白 α5 LG4（A5G71）	
518	RNRLHLSMLVRP	整合素	层粘连蛋白 α5 LG4（A5G73）	
519	APMSGRSPSLVLK	整合素	层粘连蛋白 α5 LG4（A5G76）	
520	LALFLSNGHFVA	整合素	层粘连蛋白 α5 LG4（A5G77）	
521	PGRWHKVSVRWE	整合素	层粘连蛋白 α5 LG4（A5G81）	
522	VRWGMQQIQLVV	整合素	层粘连蛋白 α5 LG4（A5G82）	
523	KMPYVSLELEMR	整合素	层粘连蛋白 α5 LG5（A5G94）	
524	VLLQANDGAGEF	整合素	层粘连蛋白 α5 LG5（A5G99）	
525	DGRWHRVAVIMG	整合素	层粘连蛋白 α5 LG5（A5G101）	
526	APVNVTASVQIQ	整合素	层粘连蛋白 α5 LG5（A5G109）	
527	KQGKALTQRHAK	整合素	层粘连蛋白 α5 LG5（A5G112）	
528	AFGVLALWGTRV	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-7）	
529	IENVVTTFAPNR	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-15）	
530	LEAEFHFTHLIM	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-19）	
531	HLIMTFKTFRPA	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-20）	
532	KTWGVYRYFAYD	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-23）	
533	TNLRIKFVKLHT	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-31）	
534	REKYYYAVYDMV	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-34）	
535	KRLVTGQR	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 V（B-54）	
536	KDISEKVAVYST	整合素	I（B-187）	
537	PDSGR	整合素	层粘连蛋白 III（B-96）	
538	YIGSR	α1β1、α3β1	层粘连蛋白 III（B-98）	
539	DPGYIGSR	α1β1、α3β1	层粘连蛋白 III（B-98）	
540	FALWDAIIGEL	整合素	层粘连蛋白 III（B-116）	
541	AAEPLKNIGILF	整合素	层粘连蛋白 II（B-123）	
542	DSITKYFQMSLE	整合素	层粘连蛋白 II（B-133）	
543	VILQQSAADIAR	整合素	层粘连蛋白 I（B-160）	
544	SPYTFIDSLVLMPY	整合素	层粘连蛋白层粘连蛋白 IV（B-77）	
545	KDISEKVAVYST	整合素	层粘连蛋白 I（B-187）	
546	LGTIPG	整合素		
547	LWPLLAVLAAVA	整合素	层粘连蛋白 VI（C-3）	

[0258]

548	KAFDITYVRLKF	αvβ3、α5β1	层粘连蛋白 VI（C-16）	
549	AFSTLEGRPSAY	整合素	层粘连蛋白 VI（C-25）	
550	TDIRVTLNRLNTF	整合素	层粘连蛋白 VI（C-28）	
551	NEPKVLKSYYYAI	整合素	层粘连蛋白 VI（C-30）	
552	YYAISDFAVGGR	整合素	层粘连蛋白 VI（C-31）	
553	LPFFNDRPWRRAT	整合素	层粘连蛋白 VI（C-35）	
554	FDPELYRSTGHGGH	整合素	层粘连蛋白 V（C-38）	
555	TNAVGYSVYDIS	整合素	层粘连蛋白 V（C-50）	
556	APVKFLGNQVLSY	整合素	层粘连蛋白 IV（C-57）	
557	SFSFRVDRRDTR	整合素	层粘连蛋白 IV（C-59）	
558	SETTVKYIFRLHE	整合素	层粘连蛋白 IV（C-64）	
559	FQKLLNNLTSIK	整合素	层粘连蛋白 IV（C-67）	
560	TSIKIRGTYSER	整合素	层粘连蛋白 IV（C-68）	
561	DPETGV	整合素	层粘连蛋白 III（C75）	
562	TSAEAYNLLLRT	整合素	层粘连蛋白 II（C-118）	
563	KEAEREVTDLLR	整合素	层粘连蛋白 II（C102）	
564	SLLSQLNNLLDQ	整合素	层粘连蛋白 II（C-155）	
565	RNIAEIIKDI	整合素	层粘连蛋白	
566	RDIAEIIKDI	整合素	层粘连蛋白	
567	GAPGER	整合素	源自胶原蛋白 α1（I）	
568	FNKHTEIIEEDTNKDKPSYQFGGHNSVDFEEDTLPKV	纤连蛋白	（FAB D3: 1-37）- 最高亲和力	与胶原蛋白的差异结合亲和力
569	PSYQFGGHNSVDFEEDTLPK	纤连蛋白	（FAB D3: 16-36）- 高亲和力	与胶原蛋白的差异结合亲和力
570	SYQFGGHNSVDFEEDT	纤连蛋白	（FAB D3: 17-33）- 中等亲和力	与胶原蛋白的差异结合亲和力
571	QFGGHNSVDFEEDTLPK	纤连蛋白	（FAB D3: 20-36）- 中等亲和力	与胶原蛋白的差异结合亲和力
572	FGGHNSVDFEEDTLPK	纤连蛋白	（FAB D3: 21-36）- 低亲和力	与胶原蛋白的差异结合亲和力

[0259]

573	NAPQPSHISKYILRWRPKNSVGRWKEATIPGHLNSYTIKGLKPGVVYEGQLISIQQYGHQEVTRFDFTTTSTSTPVTSNTVTGETTPFSPLVATSESVTEITASSFVVS	纤连蛋白	纤连蛋白 III 型（1）	
574	NAPQPSHISKYILRWRPKNSVGRWKEATIPG	纤连蛋白	纤连蛋白 III 型（1）片段	
575	EATIPGHLNSYTIKGLKPGVVYEGQLISIQQ	纤连蛋白	纤连蛋白 III 型（1）片段	
576	LISIQQYGHQEVTRFDFTTTSTSTPVTSNTV	纤连蛋白	纤连蛋白 III 型（1）片段	
577	VTSNTVTGETTPFSPLVATSESVTEITASSFVVS	纤连蛋白	纤连蛋白 III 型（1）片段	
578	RWSHDNGVNYKIGEKWDRQGENGQMMSSTSLGNGKGEFKSDPHE	纤连蛋白	纤连蛋白 III 型（1）片段（合成）	
579	ATSYDDGKTYHVGEQWQKEYLGAISSSTSFGGQRGWRSDNSR	纤连蛋白	纤连蛋白 III 型（1）片段（合成）	
580	DKPSYQFGGHNSVDFEEDT	纤连蛋白		
581	DKPSYQFGGHNSVDFEEDTL	纤连蛋白		
582	DKPSYQFGGHNSVDFEEDTLP	纤连蛋白		
583	DKPSYQFGGHNSVDFEEDTLPK	纤连蛋白		
584	KPSYQFGGHNSVDFEEDT	纤连蛋白		
585	KPSYQFGGHNSVDFEEDTL	纤连蛋白		
586	KPSYQFGGHNSVDFEEDTLP	纤连蛋白		
587	KPSYQFGGHNSVDFEEDTLPK	纤连蛋白		
588	PSYQFGGHNSVDFEEDT	纤连蛋白		
589	PSYQFGGHNSVDFEEDTL	纤连蛋白		
590	PSYQFGGHNSVDFEEDTLP	纤连蛋白		
591	PSYQFGGHNSVDFEEDTLPK	纤连蛋白		
592	PPFLMLLKGSTRFNKTKTFR	肝素/多配体聚糖	源自层粘连蛋白的肝素结合结构域	与肝素/多配体聚糖的差异结合亲和力
593	RLVFALGTDGKKLRIKSKEKCNDGK	肝素/多配体聚糖	源自层粘连蛋白的肝素结合结构域	与肝素/多配体聚糖的差异结合亲和力
594	PLFLLHKKGKNLSKPKASQNKKGGKSK	肝素/多配体聚糖	源自层粘连蛋白的肝素结合结构域	与肝素/多配体聚糖的差异结合亲和力
595	TLFLAHGRLVYMFNVGHKKLKIR	肝素/多配体聚糖	源自层粘连蛋白的肝素结合结构域	与肝素/多配体聚糖的差异结合亲和力
596	TPGLGPRGLQATARKASRRSRQPARHPACML	肝素/多配体聚糖	源自层粘连蛋白的肝素结合结构域	与肝素/多配体聚糖的差异结合亲和力
597	RQRSRPGRWHKVSVRWEKNR	肝素/多配体聚糖	源自层粘连蛋白的肝素结合结构域	与肝素/多配体聚糖的差异结合亲和力
598	LAGSCLARFSTM	α2β1、肝素	源自胶原蛋白 α1（IV）HepII	
599	KGHRGF	肝素	源自胶原蛋白 α1（I）	
600	GDRGIKGHRGFSG	肝素	源自胶原蛋白 α1（I）	
601	GDLGRPGRKGRPGPP	肝素	源自胶原蛋白 α1（I）	

[0260]

602	GHRGPTGRPGKRGKQGQKGDS	肝素	源自胶原蛋白 α1（I）	
603	KGIRGH	肝素	源自胶原蛋白 α2（I）	
604	GEFYFDLRLKGDK	α2β1、肝素	源自胶原蛋白 α1（IV）HepIII	
605	KYILRWRPKNS	肝素	源自纤连蛋白 III-1	
606	YRVRVTPKEKTGPMKE	肝素	源自纤连蛋白 III-13（FN-C/H-III）	
607	SPPRRARVT	α5β1、肝素	源自纤连蛋白 III-13（FN-C/H-IV）	
608	ATETTITIS	肝素	源自纤连蛋白 III-13	
609	VSPPRRARVTDATETTITISWRTKTETITGFG	α5β1、肝素	源自纤连蛋白 III-13	
610	KPDVRSYTITG	α4β1、肝素	源自纤连蛋白 III-13	
611	ANGQTPIQRYIK	α4β1、肝素	源自纤连蛋白 III-13	
612	YEKPGSPPREVVPRPRPGV	肝素	源自纤连蛋白 III-14（FN-C/H-I）	
613	KNNQKSEPLIGRKKT	肝素	源自纤连蛋白 III-14（FN-C/H-II）	
614	EILDVPST	整合素	源自纤连蛋白 IIICS-1	
615	TAGSCLRKFSTM	α2β1、肝素	源自胶原蛋白 α1（IV）HepI	
616	FRHRNRKGY	肝素	HPV	
617	KKQRFRHRNRKGYRSQ	肝素	HPV	
618	KRSR	肝素	骨唾液蛋白	
619	FHRRIKA	肝素、HSP	骨唾液蛋白	
620	SINNTAVMQRLT	肝素	层粘连蛋白层粘连蛋白 α1 L4a（A51）	
621	ANVTHLLIRANY	肝素	层粘连蛋白 α1 L4a（A65）	
622	AGTFALRGDNPQG	整合素	层粘连蛋白 α1 L4a（A99）	
623	RLVSYSGVLFFLK	肝素	层粘连蛋白 α5 LG2（A5G27）	
624	GIIFFL	肝素	层粘连蛋白 α5 LG2（A5G）	
625	VLVRVERATVFS	肝素	层粘连蛋白 α5 LG2（A5G35）	
626	RIQNLLKITNLRIKFVK	肝素	层粘连蛋白层粘连蛋白 VI（B-30）	
627	GPGVVVVERQYI	肝素	层粘连蛋白 IV（B-62）	
628	RYVVLPR	肝素	层粘连蛋白 IV（B-73）	
629	LSNIDYILIKAS	SDC-4	层粘连蛋白 α1 L4a（A119）	
630	LQQSRIANISME	SDC-4	层粘连蛋白 α1 L4a（A121）	
631	LQVQLSIR	SDC-1, -4	层粘连蛋白 α1 LG4（AG73）	
632	RKRLQVQLSIRT	SDC-1, -4	层粘连蛋白 α1 LG4（AG73）	
633	GLIYYVAHQNQM	SDC-1, -4	层粘连蛋白 α1 LG4（AG75）	
634	FDLHQNMGSVN	SDC-4	层粘连蛋白 α5 LG3（A5G64）	
635	QQNLGSVNVSTG	SDC-4	层粘连蛋白 α5 LG3（A5G65）	
636	WQPPRARI	SDC-4	源自纤连蛋白 III-14（FN-C/H-V）	
637	WQPPRARITGYIIKYEKPG	SDC-4	源自纤连蛋白 III-14（FN-C/H-V）	
638	KNSFMALYLSKGR	多配体聚糖 2(w)	源自层粘连蛋白的肝素结合结构域	与肝素/多配体聚糖的差异结合亲和力
639	NGRKIRMRCRAIDGD	硫酸乙酰肝素蛋白聚糖	以高亲和力与 HSGP 结合（DTx 蛋白）	
640	DVIRDKTKTKIESLK	硫酸乙酰肝素蛋白聚糖	以低亲和力与 HSGP 结合（DTx 蛋白）	
pH 敏感靶向序列				

[0261]

641	GVYHREARSGKYKLTYAEAK AVCEFEGGHLATYKGLEAAR KIGFHVCAAGWMAKGRVGY PIVKPGPPNCGFGKTGIIDYGI RLNRSERWDAYCYNPHA	透明质酸	pH 依赖性（连接_TGS6）	在较低 pH 下更好结合
642	KHAHLKKQVSDHIAVY	肝素	在低 pH 下与肝素结合（高亲和力）	
643	TTEPSEEHNHHK	肝素	在低 pH 下与肝素结合（低亲和力）	
644	KHAHL	肝素	在低 pH 下与肝素结合（较低亲和力）	
645	TTEPSEEHNHHK	肝素	在低 pH 下与肝素结合（较低亲和力）	
646	TTEPSEEHNHHKHHDK	肝素	在低 pH 下与肝素结合（较低亲和力）	
647	HKGQHR	肝素	在低 pH 下与肝素结合（较低亲和力）	
648	KVEHRVKKRPPTWRHNVRA KYT	肝素	在低 pH 下与肝素结合	
649	GGKVEHRVKKRPPTWRHNV RAKYT	肝素	在低 pH 下与肝素结合	
650	KKRPPTWRHNV	肝素	在低 pH 下与肝素结合	
651	GTWSEW	肝素	源自血小板反应蛋白	
652	GFWSEW	肝素	源自血小板反应蛋白	
653	GGWSHW	纤连蛋白	源自血小板反应蛋白（最高亲和力）	在较低 pH 下更好结合
654	KRFKQDGGWSHWSPWSS	纤连蛋白	源自血小板反应蛋白（低亲和力）	
655	KRFKQDGGWSHWSP	纤连蛋白	源自血小板反应蛋白（中等亲和力）	
656	GGWSHWSPWSS	纤连蛋白	源自血小板反应蛋白（中等亲和力）	
657	WSXWS	硫酸化糖蛋白	源自血小板反应蛋白（X = 任何氨基酸）	
658	WSHW	硫酸化糖蛋白	源自血小板反应蛋白	
659	Xaa Xaa Pro His Glu	肝素/硫酸乙酰肝素	Xaa = 任何氨基酸	
660	(H/P)(H/P)PHG	肝素/硫酸乙酰肝素	串联重复序列-pH 依赖性 HRGP（富含组氨酸的糖蛋白）	
661	HPHKHHSHEQHPHGHHPHA HHPHEHDTHRQHPHGHHPH GHHPHGHHPHGHHPHGHHP HCHDFQDYGPCDPPPHNQGH CCHGHGPPPGHLRRRGPGKG PRPFHCRQIGSVYRLPPLRKG EVLPLPEANFPSFPLPHHKHP LKPDNQPFP	肝素/硫酸乙酰肝素	富含组氨酸的糖蛋白（富含组氨酸的结构域）	
662	DLHPHKHHSHEQHPHGHHPH AHHPHEHDTHRQHPH	肝素/硫酸乙酰肝素	富含组氨酸的糖蛋白（富含组氨酸的结构域）	
663-679	未使用			
对照序列				
680	QFGGHNSVDFEEDT	纤连蛋白	非结合对照	
681-700	未使用			

[0262] 定义

[0263] 如本文所使用的，“细胞因子多肽序列”是指与野生型细胞因子具有显著序列同一性并且当与抑制性多肽序列分离时可以结合和激活细胞因子受体的多肽序列(其可以是较大序列的一部分，例如，融合多肽)。在一些实施方式中，细胞因子多肽序列与野生型细胞因子(例如，野生型人细胞因子)的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性。在一些实施方式中，细胞因子多肽序列与野生型细胞因子(例如，野生型人细胞因子)具有不超过一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个氨基酸差异。细胞因子包括但不限于趋化因子。表1中提供了示例性细胞因子多肽序列。此定义适用于用“IL-2”取代“细胞因子”的IL-2多肽序列。

[0264] 如本文所使用的，“抑制性多肽序列”是细胞因子前药中抑制前药中的所述细胞因子多肽序列的活性的序列。所述抑制性多肽序列与所述细胞因子多肽序列结合，并且此类结合通过适当的蛋白酶对所述蛋白酶可切割多肽序列的作用而减少或消除。表1中提供了示例性抑制性多肽序列。

[0265] 如本文所使用的，“蛋白酶可切割多肽序列”是作为用于被蛋白酶切割的底物的序列。所述蛋白酶可切割多肽序列位于细胞因子前药中，使得其切割减少或消除所述抑制性多肽序列与所述细胞因子多肽序列的结合。

[0266] 如本文所使用的，如果在允许被所述蛋白酶切割的条件下将包括所述蛋白酶可切割多肽序列的多肽暴露于所述蛋白酶引起的切割量显著大于具有不相关序列的对照多肽的切割量和/或如果所述蛋白酶可切割多肽序列对应于所述蛋白酶的已知识别序列(例如，如本文其它地方对各种示例性蛋白酶的描述)，则蛋白酶可切割多肽序列被给定蛋白酶或其类别“识别”。

[0267] 如本文所使用的，“药代动力学调节剂”是延长细胞因子前药的体内半衰期的部分。所述药代动力学调节剂可以是细胞因子前药中的融合结构域或可以是翻译后连接的化学实体。所述连接可以是但不一定是共价的。表1中提供了示例性药代动力学调节剂多肽序列。在本文其它地方描述了示例性非多肽药代动力学调节剂。

[0268] 如本文所使用的，“靶向序列”是使更大部分的细胞因子前药定位于所关注区域(例如，肿瘤微环境)的序列。所述靶向序列可以与在所关注区域中发现的细胞外基质组分或其它实体(例如，整合素或多配体聚糖)结合。表2中提供了示例性靶向序列。

[0269] 如本文所使用的，“细胞外基质组分”是指在体内发现的细胞外蛋白质或多糖。细胞上的完整和外周膜蛋白(包括纤连蛋白、钙粘素、整合素和多配体聚糖)不被认为是细胞外基质组分。

[0270] 如本文所使用的，“免疫球蛋白恒定结构域”是指存在于如IgG等免疫球蛋白的恒定区的结构域中或与其具有显著序列同一性的结构域。示例性恒定结构域是C_H2和C_H3结构域。除非另外指明，否则包括免疫球蛋白恒定结构域的多肽或前药可以包括多于一个免疫球蛋白恒定结构域。在一些实施方式中，免疫球蛋白恒定结构域与野生型免疫球蛋白恒定结构域(例如，野生型人免疫球蛋白恒定结构域)的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性。在一些实施方式中，免疫球蛋白恒定结构域与野生型免疫球蛋白恒定结构域(例如，野生型人免疫球蛋白恒定结构域)具有不超过一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个氨基酸差异。在一些实施方式中，免疫球蛋白恒定结构域与野生型免疫球蛋白恒定结构域(例如，野生型人免疫球蛋白恒定结构域)具有相同的序列。示例性免疫球蛋白恒定结构域包括在表1中提供的序列内。此定义分别适用于C_H2和C_H3结构域，其中用“C_H2”或“C_H3”取代“免疫球蛋白恒定”，条件是C_H2结构域序列与非C_H2免疫球蛋白恒定结构域野生型序列的同一性百分比不大于与C_H2结构域野生型序列的同一性百分比，并且C_H3结构域序列与非C_H3免疫球蛋白恒定结构域野生型序列的同一性百分比不大于与C_H3结构域野生型序列的同一性百分比。这些定义还包括相对于野生型序列具有较小截短的结构域，只要所述截短不消除所述结构域的基本上正常的折叠。

[0271] 如本文所使用的，“免疫球蛋白Fc区”是指包括如上定义的C_H2和C_H3结构域的免疫球蛋白重链区。所述Fc区不包括可变结构域或C_H1结构域。

[0272] 如本文所使用的,如果第一组分在给定组分的一侧上并且第二组分在另一组分上(例如,在多肽的一级序列中),则给定组分位于第一组分与第二组分“之间”。此术语不需要直接相邻。因此,在结构1-2-3-4中,2位于1与4之间,并且也位于1与3之间。

[0273] 如本文所使用的,“结构域”可以根据上下文指代多肽的结构性结构域或至少一个结构域(但可能是多个结构性结构域)的功能组装。例如,C_H2结构域是指符合此条件的序列的一部分。免疫球蛋白细胞因子结合结构域可以包括VH和VL结构性结构域。

[0274] 如本文所使用的,“变性胶原蛋白”涵盖由MMP对胶原蛋白的作用产生的明胶和切割产物,并且更一般地是指不存在于全长胶原蛋白的天然结构中的胶原蛋白或其片段的形式。

[0275] 如本文所使用的,“被配置成以pH敏感方式与……结合”是指多肽序列(例如,靶向序列)根据pH对其结合配偶体显示出不同的结合亲和力。例如,相较于在正常生理pH(约7.4)下,所述多肽序列在相对酸性的pH下可能具有更高亲和力。所述更高亲和力可能发生在低于7的pH下,例如,在pH 5.5至7、6至7或5.5至6.5的范围内或pH低于6。

[0276] 如本文所使用的,“细胞因子受体的细胞因子结合结构域”是指细胞因子受体的细胞外部分或其可以与细胞因子多肽序列结合的片段或截短。在一些实施方式中,所述细胞因子受体的细胞因子结合结构域的序列与所述野生型细胞因子受体的细胞因子结合结构域(例如,野生型人细胞因子受体的细胞因子结合结构域)的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%的同一性。表1中提供了细胞因子受体的细胞因子结合结构域的示例性序列。此定义适用于用“IL-2”取代“细胞因子”的IL-2受体的IL-2结合结构域。

[0277] 如本文所使用的,“细胞因子结合免疫球蛋白结构域”是指可以与细胞因子多肽序列结合的一个或多个免疫球蛋白可变结构域(例如,VH和VL结构域)。表1中提供了细胞因子结合免疫球蛋白结构域的示例性序列。此定义适用于用“IL-2”取代“细胞因子”的IL-2结合免疫球蛋白结构域。

[0278] 如本文所使用的,“基本上”和其其它语法形式意指足以达到预期目的。因此,术语“基本上”允许相对于如本领域普通技术人员所期望的但不会明显影响整体性能的绝对或完美状态、尺寸、测量、结果等类似的微小、不显著的变化。当与数值或可以表示为数值的参数或特性一起使用时,“基本上”是指百分之十以内。

[0279] 如本文所使用的,术语“多个”可以是2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个。

[0280] 如本文所使用的,如果第一序列与第二序列的比对表明第二序列的X%或更多的位置整体上与第一序列匹配,则第一序列被认为“包括与第二序列具有至少X%同一性的序列”。例如,序列QLYV包括与序列QLY具有100%同一性的序列,因为比对将给出100%同一性,因为存在与第二序列的所有三个位置的匹配。示例性的比对算法是本领域众所周知的史密斯-沃特曼(Smith-Waterman)算法和尼德曼-翁施(Needleman-Wunsch)算法。本领域的技术人员将理解,对于要比对的给定的序列对,适当的算法和参数设置选择是什么;对于长度通常类似并且氨基酸的预期同一性>50%或核苷酸的预期同一性>75%的序列,具有EBI在www.ebi.ac.uk网站服务器上提供的尼德曼-翁施算法的默认设置的尼德曼-翁施算法通常是适当的。

[0281] 如本文所使用的,术语“受试者”是指动物界的任何成员。在一些实施方式中,“受

试者”是指人。在一些实施方式中，“受试者”是指非人动物。在一些实施方式中，“受试者”是指灵长类动物。在一些实施方式中，“受试者”包括但不限于哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类、昆虫和/或蠕虫。在某些实施方式中，非人类受试者是哺乳动物(例如，啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、绵羊、牛、灵长类动物和/或猪)。在一些实施方式中，受试者可以是转基因动物、基因工程动物和/或克隆体。在本发明的某些实施方式中，受试者是成人、青少年或婴儿。在一些实施方式中，使用术语“个体”或“患者”并且旨在与“受试者”互换。

[0282] 细胞因子多肽序列

[0283] 所述细胞因子多肽序列可以是野生型细胞因子多肽序列或与所述野生型细胞因子多肽序列具有一个或多个差异的序列。在一些实施方式中，所述细胞因子多肽序列是人细胞因子多肽序列(其可以是野生型或可以具有一个或多个差异)。在一些实施方式中，所述细胞因子包括防止二硫键形成的修饰，并且任选地在其它方面包括野生型序列。在一些实施方式中，所述细胞因子多肽序列与野生型细胞因子多肽序列的序列或表1中的细胞因子多肽序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性。在一些实施方式中，所述细胞因子是二聚体细胞因子，例如，异源二聚体细胞因子。在一些实施方式中，所述细胞因子是同源二聚体细胞因子。所述单体可以作为融合蛋白连接，例如，通过接头、或通过共价键(例如，二硫键)或通过非共价相互作用。在一些实施方式中，所述细胞因子多肽序列是白介素多肽序列。在一些实施方式中，所述细胞因子多肽序列能够与包括CD132的受体结合。在一些实施方式中，所述细胞因子多肽序列能够与包括CD122的受体结合。在一些实施方式中，所述细胞因子多肽序列能够与包括CD25的受体结合。

[0284] IL-2

[0285] 在一些实施方式，所述细胞因子多肽序列是IL-2多肽序列。所述IL-2多肽序列可以是野生型IL-2多肽序列或与所述野生型IL-2多肽序列具有一个或多个差异的序列。在一些实施方式中，所述IL-2多肽序列是人IL-2多肽序列(其可以是野生型的或可以具有一个或多个差异)。在一些实施方式中，所述IL-2包括防止二硫键形成的修饰(例如，阿地白介素(aldesleukin)(市场上称为Proleukin®)的序列)，并且任选地在其它方面包括野生型序列。在一些实施方式中，所述IL-2多肽序列与野生型IL-2多肽序列的序列或表1中的IL-2多肽序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性。

[0286] 抑制性多肽序列

[0287] 各种类型的抑制性多肽序列可以用于根据本公开的细胞因子前药。在一些实施方式中，所述抑制性多肽序列包括细胞因子结合结构域。

[0288] 所述细胞因子结合结构域可以是所述细胞因子受体的细胞因子结合结构域。所述细胞因子受体的细胞因子结合结构域可以作为所述细胞因子受体的细胞外部分或其足以与所述细胞因子前药的所述细胞因子多肽序列结合的部分提供。在一些实施方式中，细胞因子受体的所述细胞因子结合结构域与细胞因子受体的野生型细胞因子结合结构域(例如，人细胞因子受体的野生型细胞因子结合结构域)的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性。

[0289] 所述细胞因子结合结构域可以是纤连蛋白细胞因子结合结构域。在一些实施方式中，所述纤连蛋白细胞因子结合结构域与细胞因子受体的野生型纤连蛋白细胞因子结合结构域(例如，野生型人纤连蛋白细胞因子结合结构域)的序列具有至少80％、85％、90％、

95％、97％、98％或99％的同一性。

[0290] 所述细胞因子结合结构域可以是免疫球蛋白细胞因子结合结构域。所述免疫球蛋白细胞因子结合结构域可以是Fv、scFv、Fab、VHH，或者是对所述细胞因子多肽序列具有抗原结合活性的其它免疫球蛋白序列。VHH抗体(或纳米抗体)是仅重链抗体的抗原结合片段。

[0291] 可以被提供以抑制所述细胞因子前药的所述细胞因子多肽序列的抑制性多肽序列的另外的实例是anticalin、affilin、亲和体分子、affimer、affitin、α体(alphabody)、亲合多聚体(avimer)、DARPin、fynomer、kunitz结构域肽、单体和基于如SpA、GroEL、脂钙蛋白和CTLA4支架等其它工程化支架的结合结构域。

[0292] IL-2抑制性多肽序列

[0293] 在包括IL-2多肽序列的细胞因子前药中，所述抑制性多肽序列可以是上文描述的任何类型的IL-2抑制性多肽序列。在一些实施方式中，所述IL-2抑制性多肽序列是免疫球蛋白IL-2抑制性多肽序列。在一些实施方式中，所述IL-2抑制性多肽序列包括抗IL-2抗体或其功能片段。在一些实施方式中，所述免疫球蛋白IL-2抑制性多肽序列包括表1中所示的一组六个抗IL2高变区(HVR)(例如，SEQ ID NO:34-39或750-755)。在一些实施方式中，所述IL-2抑制性多肽序列包括一组抗IL2 VH和VL序列，所述序列与表1中所示的一组抗IL2 VH和VL序列的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的同一性，作为单独序列或作为scFv的一部分。在一些实施方式中，所述IL-2抑制性多肽序列包括一组抗IL2 VH和VL序列，所述序列具有表1中所示的一组抗IL2 VH和VL序列的序列，作为单独序列或作为scFv的一部分。示例性IL-2抑制性多肽序列包括SEQ ID NO:10-31、40-51和747以及SEQ ID NO 32和33的组合或SEQ ID NO 748和749的组合。

[0294] 蛋白酶可切割序列

[0295] 所述蛋白酶可切割序列可以被各种类型的蛋白酶切割，例如金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、苏氨酸蛋白酶、谷氨酸蛋白酶、明胶酶、天冬酰胺肽裂解酶、组织蛋白酶、激肽释放酶、纤溶酶、胶原酶、hK1、hK10、hK15、间质溶解素、因子Xa、胰凝乳蛋白酶样蛋白酶、胰蛋白酶样蛋白酶、弹性蛋白酶样蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶样蛋白酶、猕猴桃蛋白酶、菠萝蛋白酶、钙蛋白酶、胱天蛋白酶、Mir 1-CP、木瓜蛋白酶、HIV-1蛋白酶、HSV蛋白酶、CMV蛋白酶、凝乳酶、肾素、胃蛋白酶、蛋白裂解酶、豆荚蛋白、疟原虫蛋白酶(plasmepsin)、猪笼草蛋白酶(nepenthesin)、金属外肽酶、金属内肽酶、ADAM 10、ADAM17、ADAM 12、尿激酶纤溶酶原激活剂(uPA)、肠激酶、前列腺特异性靶标(PSA、hK3)、白介素-1b转换酶、凝血酶、FAP(FAP-a)、二肽基肽酶或二肽基肽酶IV(DPPIV/CD26)、II型跨膜丝氨酸蛋白酶(TTSP)、中性粒细胞弹性蛋白酶、蛋白酶3、肥大细胞糜酶、肥大细胞类胰蛋白酶或二肽基肽酶识别。在一些实施方式中，蛋白酶可切割序列包括表1中的任何一个的序列(例如，SEQ ID NO:80-90或700-741)或相对于表1中的任何一个的序列(例如，SEQ ID NO:80-90或700-741)具有一个或两个错配的变体。蛋白酶通常不需要识别序列的精确拷贝，并且因此所述示例性序列可以在其氨基酸位置的一部分上变化。在一些实施方式中，所述蛋白酶可切割序列包括与MMP共有序列匹配的序列，如SEQ ID NO:91-94中的任何一个。本领域技术人员将熟悉由这些类型的蛋白酶识别的另外的序列。

[0296] 基质金属蛋白酶可切割序列

[0297] 在一些实施方式中，所述蛋白酶可切割序列是基质金属蛋白酶(MMP)可切割序列。

表1中提供了示例性MMP可切割序列。在一些实施方式中，所述MMP可切割序列可被多种MMP和/或MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MMP-12、MMP-13和/或MMP-14中的一种或多种切割。表1(例如，SEQ ID NO:80-90)提供了示例性MMP可切割序列。

[0298] 靶向序列

[0299] 在一些实施方式中，所述靶向序列促进所述细胞因子前药和/或所述细胞因子多肽序列(例如，在所述蛋白酶可切割序列的蛋白水解之后)在所关注区(例如，肿瘤微环境(TME))中的定位、累积和/或保留。所述靶向序列可以是与细胞外基质组分结合的序列。示例性细胞外基质组分是胶原蛋白或变性胶原蛋白(在任一种情况下，胶原蛋白可以是胶原蛋白I、II、III或IV)、poly(I)、冯·维勒布兰德氏因子(von Willebrand factor)、IgB(CD79b)、肝素、硫酸化糖蛋白或透明质酸。

[0300] 在其它实施方式中，所述靶向序列与除细胞外基质组分以外的靶标结合。在一些实施方式中，所述靶向序列与IgB(CD79b)、纤连蛋白、整合素、钙粘素、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖或多配体聚糖结合。在一些实施方式中，所述靶向序列与至少一种整合素结合，如α1β1整合素、α2β1整合素、α3β1整合素、α4β1整合素、α5β1整合素、α6β1整合素、α7β1整合素、α9β1整合素、α4β7整合素、αvβ3整合素、αvβ5整合素、αIIbβ3整合素、αIIIbβ3整合素、αMβ2整合素或αIIbβ3整合素中的一种或多种。在一些实施方式中，所述靶向序列与至少一种多配体聚糖结合，如多配体聚糖-1、多配体聚糖-4和多配体聚糖-2(w)中的一种或多种。包括此类靶向序列的细胞因子前药还可以包括如本文其它地方所述的MMP可切割接头，如包括SEQ ID NO:80-90中的任何一个或相对于SEQ ID NO:80-90中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体的MMP可切割接头。

[0301] 在一些实施方式中，所述靶向序列包括表2中所示的序列(例如，SEQ ID NO:180-640中的任何一个)或相对于此类序列具有一个或两个错配的变体。

[0302] pH敏感靶向序列

[0303] 在一些实施方式中，所述靶向序列被配置成以pH敏感方式与其靶标结合。在一些实施方式中，相较于在正常生理pH(约7.4)下，所述靶向序列在相对酸性pH下对其靶标具有更高亲和力。所述更高亲和力可能发生在低于7的pH下，例如，在pH 5.5至7、6至7或5.5至6.5的范围内或pH低于6。所述靶向序列中组氨酸的存在可以赋予pH敏感结合。在不希望受任何特定理论束缚的情况下，组氨酸被认为更可能在较低的pH下被质子化并且可以使结合带负电荷的靶标在能量上更有利。因此，在一些实施方式中，靶向序列包括一个或多个组氨酸，例如，1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个组氨酸。包括pH敏感靶向序列可以通过所述细胞因子前药增强肿瘤与正常组织之间的区分，使得与正常细胞外基质相比，所述细胞因子前药更优先保留在所述肿瘤微环境中。因此，pH敏感靶向元件可以进一步促进所述细胞因子前药的肿瘤特异性递送，并且由此进一步降低或消除可能由正常细胞外基质中的细胞因子活性引起的毒性。

[0304] 在期望将细胞因子前药或其细胞因子多肽序列定位或保留在pH与正常生理pH不同的区域中时，以pH敏感方式与靶标结合可能是有用的。例如，所述肿瘤微环境可能比所述血液和/或健康组织更具酸性。如此，以pH敏感方式与靶标结合可以改进所述细胞因子前药或其细胞因子多肽序列在所关注区域中的保留，这可以促进低于在其它方面将需要的剂量和/或减少全身性暴露和/或副作用。

[0305] 在一些实施方式中,所述靶向序列被配置成以pH敏感方式与本文描述的任何靶标结合。在特定实施方式中,所述靶标是细胞外基质组分,如透明质酸、肝素、硫酸乙酰肝素或硫酸化糖蛋白。在另一个特定实施方式中,所述靶标是纤连蛋白。

[0306] 表2中提供了以pH敏感方式赋予靶标结合的示例性靶向序列(例如,SEQ ID NO:641-662)。在一些实施方式中,所述靶向序列包括SEQ ID NO:641-662中的任何一个的序列或相对于SEQ ID NO:641-662中的任何一个的序列具有一个或两个错配的变体。

[0307] 药代动力学调节剂

[0308] 在一些实施方式中,所述细胞因子前药包括药代动力学调节剂。所述药代动力学调节剂可以与所述细胞因子前药共价或非共价缔合。所述药代动力学调节剂可以延长所述细胞因子前药和任选地所述细胞因子多肽序列的半衰期,例如使得需要更少的剂量并且随着时间的推移需要施用更少的所述前药以达到期望的结果。多种形式的药代动力学调节剂在本领域中是已知的并且可以用于本公开的细胞因子前药中。在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂包括多肽(参见以下实例)。在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂包括非多肽部分(例如,聚乙二醇、多糖或透明质酸)。可以使用已知方法使非多肽部分与所述前药缔合,例如,与所述前药缀合;例如,可以使用反应性氨基酸残基或将其添加到所述前药中以促进缀合。

[0309] 在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂例如以降低清除的方式改变所述前药的大小、形状和/或电荷。例如,带负电荷的药代动力学调节剂可以抑制肾清除。在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂增加所述前药的流体动力学体积。在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂降低肾清除率,例如,通过增加所述前药的流体动力学体积。

[0310] 在一些实施方式中,包括药代动力学调节剂(例如,本文所描述的任何药代动力学调节剂)的所述细胞因子前药的分子量为至少70kDa,例如,至少75kDa或80kDa。

[0311] 对于提供药代动力学调节剂的各种方法的进一步讨论,参见例如Strohl,《生物制药(BioDrugs)》29:215-19(2015)和Podust等人,《控释杂志(J.Controlled Release)》240:52-66(2016)。

[0312] 多肽药代动力学调节剂

[0313] 在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂包括多肽,例如,免疫球蛋白序列(参见下文示例性实施方式)、白蛋白、CTP(绒毛膜促性腺激素β链的在体内经历唾液酸化并且在合适的宿主细胞中的带负电荷的羧基端肽)、惰性多肽(例如,非结构化多肽如XTEN、包括残基Ala、Glu、Gly、Pro、Ser和Thr的多肽)、转铁蛋白、同型氨基酸多肽或弹性蛋白样多肽。

[0314] 表1中提供了适合用作药代动力学调节剂的示例性多肽序列(例如,SEQ ID NO:70-74中的任何一个)。在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂与表1中的药代动力学调节剂的序列(例如,SEQ ID NO:70-74中的任何一个)具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%的同一性。

[0315] 在所述药代动力学调节剂包括来自生物体的多肽序列的任何实施方式中,所述多肽序列可以是人多肽序列。

[0316] 免疫球蛋白药代动力学调节剂

[0317] 在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂包括免疫球蛋白序列,例如,一个或多个免疫球蛋白恒定结构域。在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂包括Fc区。所述免疫

球蛋白序列(例如,一个或多个免疫球蛋白恒定结构域或Fc区)可以是人免疫球蛋白序列。所述免疫球蛋白序列(例如,一个或多个免疫球蛋白恒定结构域或Fc区)可以与野生型免疫球蛋白序列(例如,一个或多个免疫球蛋白恒定结构域或Fc区),如野生型人免疫球蛋白序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%的同一性。在任何此类实施方式中,所述免疫球蛋白序列可以是IgG序列(例如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。示例性免疫球蛋白药代动力学调节剂序列包括SEQ ID NO:70-74以及SEQ ID NO 756和757的组合。

[0318] 组分布置

[0319] 本文中对细胞因子前药组分的叙述不暗示任何超出明确说明的特定顺序(例如,可以明确说明蛋白酶可切割序列位于所述细胞因子多肽序列与所述抑制性多肽序列之间)。所述细胞因子前药的组分可以以各种方式布置以提供适合于特定用途的特性。所述细胞因子前药的组分可以全部在一条多肽链中,或者其可以在通过如二硫键等共价键桥接的多条多肽链中。例如,在药代动力学调节剂包括Fc的情况下,一种或多种组分可以与一条链结合,而一种或多种其它组分可以与另一条链结合。所述Fc可以是异源二聚体Fc,如杵臼(knob-into-hole)Fc(其中一条所述Fc链包括杵突变,而另一条所述Fc链包括臼突变)。对于杵突变和臼突变的示例性一般讨论,参见例如Xu等人,mAbs 7:1,231-242(2015)。示例性杵突变(例如,对于人IgG1 Fc)是K360E/K409W。示例性臼突变(例如,对于人IgG1Fc)是Q347R/D399V/F405T。参见SEQ ID NO:756和757。

[0320] 例如,药代动力学调节剂可以与所述细胞因子多肽序列存在于所述蛋白酶可切割序列的同一侧上,这意味着所述蛋白酶可切割序列的切割不会将所述药代动力学调节剂与所述细胞因子多肽序列分开。此类结构的实例包括CY-PM-CL-IN、IN-CL-CY-PM以及任何其它排列(或在所列组分之间、之前或之后包括另外的元件的变化),其中CL不在CY与PM之间,其中CY是所述细胞因子多肽序列,PM所述是药代动力学调节剂,CL是所述蛋白酶可切割序列,并且IN是所述抑制性多肽序列。在此类实施方式中,所述药代动力学调节剂将调节所述前药和所述活性细胞因子多肽序列两者的药代动力学。在一些实施方式中,所述药代动力学调节剂是Fc,在这种情况下,上述示例性结构中的PM之前和之后的组分可以与和Fc相同或不同的链结合,如上文所讨论的。

[0321] 在一些实施方式中,药代动力学调节剂与所述抑制性多肽序列存在于所述蛋白酶可切割序列的同一侧上,这意味着所述蛋白酶可切割序列的切割会将所述药代动力学调节剂与所述细胞因子多肽序列分开。此类实施方式可以用于为所述前药提供比所述活性形式更长的半衰期。

[0322] 在一些实施方式中,靶向序列可以与所述细胞因子多肽序列存在于所述蛋白酶可切割序列的同一侧上,这意味着所述蛋白酶可切割序列的切割不会将所述靶向序列与所述细胞因子多肽序列分开。此类实施方式可以用于促进将所述前药和所述活性形式两者定位或保留在所关注区域(例如,肿瘤微环境)中。根据期望的效果,在使用药代动力学调节剂的情况下,所述药代动力学调节剂可以与所述靶向序列位于所述蛋白酶可切割接头的同一侧上(例如以促进较低和/或较小频率的给药)或在另一侧上(例如以避免长持续时间的免疫刺激)。

[0323] 在一些实施方式中,靶向序列与所述抑制性多肽序列存在于所述蛋白酶可切割序列的同一侧上,这意味着所述蛋白酶可切割序列的切割会将所述靶向序列与所述细胞因子

多肽序列分开。此类实施方式可以用于提供来自所关注区域的细胞因子梯度，或者相较于在所述靶向序列位于所述蛋白酶可切割序列的同一侧上时更快地提供此类梯度。根据期望的效果，在使用药代动力学调节剂的情况下，所述药代动力学调节剂可以与所述靶向序列位于所述蛋白酶可切割接头的同一侧上(例如以最小化对所述细胞因子的所述活性形式的全身性暴露和/或避免长持续时间的免疫刺激)或另一侧上(例如以促进较低和/或较小频率的给药)。

[0324] 图9和图10A至D中展示了多个示例性布置。在一些实施方式中，所述细胞因子前药包括根据图9和图10A至D中的任何实例布置、从N端到C端或从C端到N端排序的组分，任选地在任何所展示的组分之间插入另外的组分。

[0325] 示例性前药

[0326] IL-2

[0327] 下表示出了根据所公开的细胞因子前药的某些实施方式的组分的示例性组合。数字表示给定组分的SEQ ID NO。CY是细所述胞因子多肽序列，CL是所述蛋白酶可切割序列，并且IN是所述抑制性多肽序列，并且如果存在，PM是所述药代动力学调节剂。在给出范围的情况下，可以选择列出的SEQ ID NO中的任何一个。当两个SEQ ID NO结合地叙述(使用“和”)时，两个SEQ ID NO都存在并且可以一起发挥作用(其可以或可以不彼此融合(任选地使用中间接头)或桥接(例如，通过共价键))。例如，SEQ ID NO 32和33是VL和VH结构域，所述结构域可以一起发挥作用以形成细胞因子结合免疫球蛋白结构域，SEQ ID NO 748和749也是如此。SEQ ID NO 256和257是Fc多肽链以形成可以用作药代动力学调节剂的异源二聚体杵臼Fc。组分可以以与本公开一致的任何方式布置，例如，如本文其它地方所指出的。在一些实施方式中，细胞因子前药包括如表3A中所示的序列的组合。

[0328] 表3A.示例性IL-2前药

[0329]

CY	CL	IN	PM
1-2	80-90 或 201-242	10-16、30、31、40-51、747、(32 和 33)或(748 和 749)	
1-2	80-90 或 201-242	10-16、30、31、40-51、747、(32 和 33)或(748 和 749)	70-74 或(756 和 757)
1	80-90 或 201-242	10	

[0330]

1	80-90 或 201-242	11	
1	80-90 或 201-242	12	
1	80-90 或 201-242	13	
1	80-90 或 201-242	14	
1	80-90 或 201-242	15	
1	80-90 或 201-242	16	
1	80-90 或 201-242	20	
1	80-90 或 201-242	21	
1	80-90 或 201-242	22	
1	80-90 或 201-242	23	
1	80-90 或 201-242	24	
1	80-90 或 201-242	25	
1	80-90 或 201-242	26	
1	80-90 或 201-242	27	
1	80-90 或 201-242	28	
1	80-90 或 201-242	29	
1	80-90 或 201-242	30	
1	80-90 或 201-242	31	
1	80-90 或 201-242	32 和 33	
1	80-90 或 201-242	40	
1	80-90 或 201-242	41	
1	80-90 或 201-242	42	
1	80-90 或 201-242	43	
1	80-90 或 201-242	44	
1	80-90 或 201-242	45	
1	80-90 或 201-242	46	
1	80-90 或 201-242	47	
1	80-90 或 201-242	48	
1	80-90 或 201-242	49	
1	80-90 或 201-242	50	
1	80-90 或 201-242	51	
1	80-90 或 201-242	747	
1	80-90 或 201-242	748 和 749	
1	80-90 或 201-242	10	70
1	80-90 或 201-242	10	71
1	80-90 或 201-242	10	72
1	80-90 或 201-242	10	73
1	80-90 或 201-242	10	74
1	80-90 或 201-242	10	756 和 757
1	80-90 或 201-242	11	70
1	80-90 或 201-242	11	71
1	80-90 或 201-242	11	72
1	80-90 或 201-242	11	73

[0331]

1	80-90 或 201-242	11	74
1	80-90 或 201-242	11	756 和 757
1	80-90 或 201-242	12	70
1	80-90 或 201-242	12	71
1	80-90 或 201-242	12	72
1	80-90 或 201-242	12	73
1	80-90 或 201-242	12	74
1	80-90 或 201-242	12	756 和 757
1	80-90 或 201-242	13	70
1	80-90 或 201-242	13	71
1	80-90 或 201-242	13	72
1	80-90 或 201-242	13	73
1	80-90 或 201-242	13	74
1	80-90 或 201-242	13	756 和 757
1	80-90 或 201-242	14	70
1	80-90 或 201-242	14	71
1	80-90 或 201-242	14	72
1	80-90 或 201-242	14	73
1	80-90 或 201-242	14	74
1	80-90 或 201-242	14	756 和 757
1	80-90 或 201-242	15	70
1	80-90 或 201-242	15	71
1	80-90 或 201-242	15	72
1	80-90 或 201-242	15	73
1	80-90 或 201-242	15	74
1	80-90 或 201-242	15	756 和 757
1	80-90 或 201-242	16	70
1	80-90 或 201-242	16	71
1	80-90 或 201-242	16	72
1	80-90 或 201-242	16	73
1	80-90 或 201-242	16	74
1	80-90 或 201-242	16	756 和 757
1	80-90 或 201-242	20	70
1	80-90 或 201-242	20	71
1	80-90 或 201-242	20	72
1	80-90 或 201-242	20	73
1	80-90 或 201-242	20	74
1	80-90 或 201-242	20	756 和 757
1	80-90 或 201-242	21	70
1	80-90 或 201-242	21	71
1	80-90 或 201-242	21	72
1	80-90 或 201-242	21	73
1	80-90 或 201-242	21	74

[0332]

1	80-90 或 201-242	21	756 和 757
1	80-90 或 201-242	22	70
1	80-90 或 201-242	22	71
1	80-90 或 201-242	22	72
1	80-90 或 201-242	22	73
1	80-90 或 201-242	22	74
1	80-90 或 201-242	22	756 和 757
1	80-90 或 201-242	23	70
1	80-90 或 201-242	23	71
1	80-90 或 201-242	23	72
1	80-90 或 201-242	23	73
1	80-90 或 201-242	23	74
1	80-90 或 201-242	23	756 和 757
1	80-90 或 201-242	24	70
1	80-90 或 201-242	24	71
1	80-90 或 201-242	24	72
1	80-90 或 201-242	24	73
1	80-90 或 201-242	24	74
1	80-90 或 201-242	24	756 和 757
1	80-90 或 201-242	25	70
1	80-90 或 201-242	25	71
1	80-90 或 201-242	25	72
1	80-90 或 201-242	25	73
1	80-90 或 201-242	25	74
1	80-90 或 201-242	25	756 和 757
1	80-90 或 201-242	26	70
1	80-90 或 201-242	26	71
1	80-90 或 201-242	26	72
1	80-90 或 201-242	26	73
1	80-90 或 201-242	26	74
1	80-90 或 201-242	26	756 和 757
1	80-90 或 201-242	27	70
1	80-90 或 201-242	27	71
1	80-90 或 201-242	27	72
1	80-90 或 201-242	27	73
1	80-90 或 201-242	27	74
1	80-90 或 201-242	27	756 和 757
1	80-90 或 201-242	28	70
1	80-90 或 201-242	28	71
1	80-90 或 201-242	28	72
1	80-90 或 201-242	28	73
1	80-90 或 201-242	28	74
1	80-90 或 201-242	28	756 和 757

[0333]

1	80-90 或 201-242	29	70
1	80-90 或 201-242	29	71
1	80-90 或 201-242	29	72
1	80-90 或 201-242	29	73
1	80-90 或 201-242	29	74
1	80-90 或 201-242	29	756 和 757
1	80-90 或 201-242	30	70
1	80-90 或 201-242	30	71
1	80-90 或 201-242	30	72
1	80-90 或 201-242	30	73
1	80-90 或 201-242	30	74
1	80-90 或 201-242	30	756 和 757
1	80-90 或 201-242	31	70
1	80-90 或 201-242	31	71
1	80-90 或 201-242	31	72
1	80-90 或 201-242	31	73
1	80-90 或 201-242	31	74
1	80-90 或 201-242	31	756 和 757
1	80-90 或 201-242	32 和 33	70
1	80-90 或 201-242	32 和 33	71
1	80-90 或 201-242	32 和 33	72
1	80-90 或 201-242	32 和 33	73
1	80-90 或 201-242	32 和 33	74
1	80-90 或 201-242	32 和 33	756 和 757
1	80-90 或 201-242	40	70
1	80-90 或 201-242	40	71
1	80-90 或 201-242	40	72
1	80-90 或 201-242	40	73
1	80-90 或 201-242	40	74
1	80-90 或 201-242	40	756 和 757
1	80-90 或 201-242	41	70
1	80-90 或 201-242	41	71
1	80-90 或 201-242	41	72
1	80-90 或 201-242	41	73
1	80-90 或 201-242	41	74
1	80-90 或 201-242	41	756 和 757
1	80-90 或 201-242	42	70
1	80-90 或 201-242	42	71
1	80-90 或 201-242	42	72
1	80-90 或 201-242	42	73
1	80-90 或 201-242	42	74
1	80-90 或 201-242	42	756 和 757
1	80-90 或 201-242	43	70

[0334]

1	80-90 或 201-242	43	71
1	80-90 或 201-242	43	72
1	80-90 或 201-242	43	73
1	80-90 或 201-242	43	74
1	80-90 或 201-242	43	756 和 757
1	80-90 或 201-242	44	70
1	80-90 或 201-242	44	71
1	80-90 或 201-242	44	72
1	80-90 或 201-242	44	73
1	80-90 或 201-242	44	74
1	80-90 或 201-242	44	756 和 757
1	80-90 或 201-242	45	70
1	80-90 或 201-242	45	71
1	80-90 或 201-242	45	72
1	80-90 或 201-242	45	73
1	80-90 或 201-242	45	74
1	80-90 或 201-242	45	756 和 757
1	80-90 或 201-242	46	70
1	80-90 或 201-242	46	71
1	80-90 或 201-242	46	72
1	80-90 或 201-242	46	73
1	80-90 或 201-242	46	74
1	80-90 或 201-242	46	756 和 757
1	80-90 或 201-242	47	70
1	80-90 或 201-242	47	71
1	80-90 或 201-242	47	72
1	80-90 或 201-242	47	73
1	80-90 或 201-242	47	74
1	80-90 或 201-242	47	756 和 757
1	80-90 或 201-242	48	70
1	80-90 或 201-242	48	71
1	80-90 或 201-242	48	72
1	80-90 或 201-242	48	73
1	80-90 或 201-242	48	74
1	80-90 或 201-242	48	756 和 757
1	80-90 或 201-242	49	70
1	80-90 或 201-242	49	71
1	80-90 或 201-242	49	72
1	80-90 或 201-242	49	73
1	80-90 或 201-242	49	74
1	80-90 或 201-242	49	756 和 757
1	80-90 或 201-242	50	70
1	80-90 或 201-242	50	71

[0335]

1	80-90 或 201-242	50	72
1	80-90 或 201-242	50	73
1	80-90 或 201-242	50	74
1	80-90 或 201-242	50	756 和 757
1	80-90 或 201-242	51	70
1	80-90 或 201-242	51	71
1	80-90 或 201-242	51	72
1	80-90 或 201-242	51	73
1	80-90 或 201-242	51	74
1	80-90 或 201-242	51	756 和 757
1	80-90 或 201-242	747	70
1	80-90 或 201-242	747	71
1	80-90 或 201-242	747	72
1	80-90 或 201-242	747	73
1	80-90 或 201-242	747	74
1	80-90 或 201-242	747	756 和 757
1	80-90 或 201-242	748 和 749	70
1	80-90 或 201-242	748 和 749	71
1	80-90 或 201-242	748 和 749	72
1	80-90 或 201-242	748 和 749	73
1	80-90 或 201-242	748 和 749	74
1	80-90 或 201-242	748 和 749	756 和 757
2	80-90 或 201-242	10	
2	80-90 或 201-242	11	
2	80-90 或 201-242	12	
2	80-90 或 201-242	13	
2	80-90 或 201-242	14	
2	80-90 或 201-242	15	
2	80-90 或 201-242	16	
2	80-90 或 201-242	20	
2	80-90 或 201-242	21	
2	80-90 或 201-242	22	
2	80-90 或 201-242	23	
2	80-90 或 201-242	24	
2	80-90 或 201-242	25	
2	80-90 或 201-242	26	
2	80-90 或 201-242	27	
2	80-90 或 201-242	28	
2	80-90 或 201-242	29	
2	80-90 或 201-242	30	
2	80-90 或 201-242	31	
2	80-90 或 201-242	32 和 33	
2	80-90 或 201-242	40	

[0336]

2	80-90 或 201-242	41	
2	80-90 或 201-242	42	
2	80-90 或 201-242	43	
2	80-90 或 201-242	44	
2	80-90 或 201-242	45	
2	80-90 或 201-242	46	
2	80-90 或 201-242	47	
2	80-90 或 201-242	48	
2	80-90 或 201-242	49	
2	80-90 或 201-242	50	
2	80-90 或 201-242	51	
2	80-90 或 201-242	747	
2	80-90 或 201-242	748 和 749	
2	80-90 或 201-242	10	70
2	80-90 或 201-242	10	71
2	80-90 或 201-242	10	72
2	80-90 或 201-242	10	73
2	80-90 或 201-242	10	74
2	80-90 或 201-242	10	756 和 757
2	80-90 或 201-242	11	70
2	80-90 或 201-242	11	71
2	80-90 或 201-242	11	72
2	80-90 或 201-242	11	73
2	80-90 或 201-242	11	74
2	80-90 或 201-242	11	756 和 757
2	80-90 或 201-242	12	70
2	80-90 或 201-242	12	71
2	80-90 或 201-242	12	72
2	80-90 或 201-242	12	73
2	80-90 或 201-242	12	74
2	80-90 或 201-242	12	756 和 757
2	80-90 或 201-242	13	70
2	80-90 或 201-242	13	71
2	80-90 或 201-242	13	72
2	80-90 或 201-242	13	73
2	80-90 或 201-242	13	74
2	80-90 或 201-242	13	756 和 757
2	80-90 或 201-242	14	70
2	80-90 或 201-242	14	71
2	80-90 或 201-242	14	72
2	80-90 或 201-242	14	73
2	80-90 或 201-242	14	74
2	80-90 或 201-242	14	756 和 757

[0337]

2	80-90 或 201-242	15	70
2	80-90 或 201-242	15	71
2	80-90 或 201-242	15	72
2	80-90 或 201-242	15	73
2	80-90 或 201-242	15	74
2	80-90 或 201-242	15	756 和 757
2	80-90 或 201-242	16	70
2	80-90 或 201-242	16	71
2	80-90 或 201-242	16	72
2	80-90 或 201-242	16	73
2	80-90 或 201-242	16	74
2	80-90 或 201-242	16	756 和 757
2	80-90 或 201-242	20	70
2	80-90 或 201-242	20	71
2	80-90 或 201-242	20	72
2	80-90 或 201-242	20	73
2	80-90 或 201-242	20	74
2	80-90 或 201-242	20	756 和 757
2	80-90 或 201-242	21	70
2	80-90 或 201-242	21	71
2	80-90 或 201-242	21	72
2	80-90 或 201-242	21	73
2	80-90 或 201-242	21	74
2	80-90 或 201-242	21	756 和 757
2	80-90 或 201-242	22	70
2	80-90 或 201-242	22	71
2	80-90 或 201-242	22	72
2	80-90 或 201-242	22	73
2	80-90 或 201-242	22	74
2	80-90 或 201-242	22	756 和 757
2	80-90 或 201-242	23	70
2	80-90 或 201-242	23	71
2	80-90 或 201-242	23	72
2	80-90 或 201-242	23	73
2	80-90 或 201-242	23	74
2	80-90 或 201-242	23	756 和 757
2	80-90 或 201-242	24	70
2	80-90 或 201-242	24	71
2	80-90 或 201-242	24	72
2	80-90 或 201-242	24	73
2	80-90 或 201-242	24	74
2	80-90 或 201-242	24	756 和 757
2	80-90 或 201-242	25	70

[0338]

2	80-90 或 201-242	25	71
2	80-90 或 201-242	25	72
2	80-90 或 201-242	25	73
2	80-90 或 201-242	25	74
2	80-90 或 201-242	25	756 和 757
2	80-90 或 201-242	26	70
2	80-90 或 201-242	26	71
2	80-90 或 201-242	26	72
2	80-90 或 201-242	26	73
2	80-90 或 201-242	26	74
2	80-90 或 201-242	26	756 和 757
2	80-90 或 201-242	27	70
2	80-90 或 201-242	27	71
2	80-90 或 201-242	27	72
2	80-90 或 201-242	27	73
2	80-90 或 201-242	27	74
2	80-90 或 201-242	27	756 和 757
2	80-90 或 201-242	28	70
2	80-90 或 201-242	28	71
2	80-90 或 201-242	28	72
2	80-90 或 201-242	28	73
2	80-90 或 201-242	28	74
2	80-90 或 201-242	28	756 和 757
2	80-90 或 201-242	29	70
2	80-90 或 201-242	29	71
2	80-90 或 201-242	29	72
2	80-90 或 201-242	29	73
2	80-90 或 201-242	29	74
2	80-90 或 201-242	29	756 和 757
2	80-90 或 201-242	30	70
2	80-90 或 201-242	30	71
2	80-90 或 201-242	30	72
2	80-90 或 201-242	30	73
2	80-90 或 201-242	30	74
2	80-90 或 201-242	30	756 和 757
2	80-90 或 201-242	31	70
2	80-90 或 201-242	31	71
2	80-90 或 201-242	31	72
2	80-90 或 201-242	31	73
2	80-90 或 201-242	31	74
2	80-90 或 201-242	31	756 和 757
2	80-90 或 201-242	32 和 33	70
2	80-90 或 201-242	32 和 33	71

[0339]

2	80-90 或 201-242	32 和 33	72
2	80-90 或 201-242	32 和 33	73
2	80-90 或 201-242	32 和 33	74
2	80-90 或 201-242	32 和 33	756 和 757
2	80-90 或 201-242	40	70
2	80-90 或 201-242	40	71
2	80-90 或 201-242	40	72
2	80-90 或 201-242	40	73
2	80-90 或 201-242	40	74
2	80-90 或 201-242	40	756 和 757
2	80-90 或 201-242	41	70
2	80-90 或 201-242	41	71
2	80-90 或 201-242	41	72
2	80-90 或 201-242	41	73
2	80-90 或 201-242	41	74
2	80-90 或 201-242	41	756 和 757
2	80-90 或 201-242	42	70
2	80-90 或 201-242	42	71
2	80-90 或 201-242	42	72
2	80-90 或 201-242	42	73
2	80-90 或 201-242	42	74
2	80-90 或 201-242	42	756 和 757
2	80-90 或 201-242	43	70
2	80-90 或 201-242	43	71
2	80-90 或 201-242	43	72
2	80-90 或 201-242	43	73
2	80-90 或 201-242	43	74
2	80-90 或 201-242	43	756 和 757
2	80-90 或 201-242	44	70
2	80-90 或 201-242	44	71
2	80-90 或 201-242	44	72
2	80-90 或 201-242	44	73
2	80-90 或 201-242	44	74
2	80-90 或 201-242	44	756 和 757
2	80-90 或 201-242	45	70
2	80-90 或 201-242	45	71
2	80-90 或 201-242	45	72
2	80-90 或 201-242	45	73
2	80-90 或 201-242	45	74
2	80-90 或 201-242	45	756 和 757
2	80-90 或 201-242	46	70
2	80-90 或 201-242	46	71
2	80-90 或 201-242	46	72

[0340]

2	80-90 或 201-242	46	73
2	80-90 或 201-242	46	74
2	80-90 或 201-242	46	756 和 757
2	80-90 或 201-242	47	70
2	80-90 或 201-242	47	71
2	80-90 或 201-242	47	72
2	80-90 或 201-242	47	73
2	80-90 或 201-242	47	74
2	80-90 或 201-242	47	756 和 757
2	80-90 或 201-242	48	70
2	80-90 或 201-242	48	71
2	80-90 或 201-242	48	72
2	80-90 或 201-242	48	73
2	80-90 或 201-242	48	74
2	80-90 或 201-242	48	756 和 757
2	80-90 或 201-242	49	70
2	80-90 或 201-242	49	71
2	80-90 或 201-242	49	72
2	80-90 或 201-242	49	73
2	80-90 或 201-242	49	74
2	80-90 或 201-242	49	756 和 757
2	80-90 或 201-242	50	70
2	80-90 或 201-242	50	71
2	80-90 或 201-242	50	72
2	80-90 或 201-242	50	73
2	80-90 或 201-242	50	74
2	80-90 或 201-242	50	756 和 757
2	80-90 或 201-242	51	70
2	80-90 或 201-242	51	71
2	80-90 或 201-242	51	72
2	80-90 或 201-242	51	73
2	80-90 或 201-242	51	74
2	80-90 或 201-242	51	756 和 757
2	80-90 或 201-242	747	70
2	80-90 或 201-242	747	71
2	80-90 或 201-242	747	72
2	80-90 或 201-242	747	73
2	80-90 或 201-242	747	74
2	80-90 或 201-242	747	756 和 757
2	80-90 或 201-242	748 和 749	70
2	80-90 或 201-242	748 和 749	71
2	80-90 或 201-242	748 和 749	72
2	80-90 或 201-242	748 和 749	73

[0341]

2	80-90 或 201-242	748 和 749	74
2	80-90 或 201-242	748 和 749	756 和 757

[0342] 另外，本文、表3A或其它地方所描述的任何细胞因子前药可以进一步包括靶向序列，如本文所描述的任何靶向序列。在一些实施方式中，所述靶向序列是SEQ ID NO:180-662中的任何一个。

[0343] 另外，表3A中描述的任何一种细胞因子前药可以包括代替所列出的蛋白酶可切割序列的根据SEQ ID NO:91-94中的任何一个的共有序列。

[0344] 本公开还涵盖细胞因子前药，所述细胞因子前药包括与上文描述的任何一种细胞因子前药的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％同一性的序列。

[0345] 在一些实施方式中，所述细胞因子前药包括与SEQ ID NO:100-111中的任何一个的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％同一性的序列。在一些实施方式中，所述细胞因子前药包括SEQ ID NO:100-111中的任何一个的序列。在一些实施方式中，所述细胞因子前药包括SEQ ID NO:803-852中的任何一个的序列。

[0346] 蛋白酶可切割序列和靶向序列的组合

[0347] 本文、表3A中或其它地方所描述的细胞因子前药的任何相容的实施例可以包括蛋白酶可切割序列和表4中所示的靶向序列的组合。在给出范围的情况下，可以选择列出的SEQ ID NO中的任何一个。组分可以以与本公开一致的任何方式布置，例如，如本文其它地方所指出的(例如，图9和图10A-D以及关于组分布置的部分)。

[0348] 表4.蛋白酶可切割序列和靶向序列的示例性组合

[0349]

蛋白酶可切割序列	靶向序列
80	180-662
81	180-662
82	180-662
83	180-662
84	180-662
85	180-662
86	180-662
87	180-662
88	180-662
89	180-662
90	180-662
91	180-662
92	180-662

[0350]

93	180-662
94	180-662
700	180-662
701	180-662
702	180-662
703	180-662
704	180-662
705	180-662
706	180-662
707	180-662
708	180-662
709	180-662
710	180-662
711	180-662
712	180-662
713	180-662
714	180-662
715	180-662
716	180-662
717	180-662
718	180-662
719	180-662
720	180-662
721	180-662
722	180-662
723	180-662
724	180-662
725	180-662
726	180-662
727	180-662
728	180-662
729	180-662
730	180-662
731	180-662
732	180-662
733	180-662
734	180-662
735	180-662
736	180-662
737	180-662
738	180-662
739	180-662
740	180-662
741	180-662

[0351] 本公开还涵盖细胞因子前药，所述细胞因子前药包括与上文描述的任何一种细胞因子前药的序列具有至少80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％同一性的序列。

[0352] 药物制剂

[0353] 可以通过将具有期望的纯度的此类细胞因子前药与一种或多种任选的药学上可接受的载体混合以冻干制剂或水溶液的形式制备如本文所描述的细胞因子前药的药物制剂(《雷明顿氏药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》第16版,Osol,A.编辑(1980))。药学上可接受的载体通常在所采用的剂量和浓度下对受体无毒并且包含但不限于:缓冲液,如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯,如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;以及间甲酚);低分子量(少于约10个残基)的多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐反离子,如钠;金属络合物(例如,Zn-蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,如聚乙二醇(PEG)。

[0354] 用于体内施用的制剂通常是无菌的。无菌性可以例如通过穿过无菌滤膜过滤容易地实现。

[0355] 用途

[0356] 在一些实施方式中,本文所述的细胞因子前药、组合物或药物制剂中的任何一种或多种用于制备用于治疗或预防受试者的疾病或病症的药物。在一些实施方式中,本文所描述的细胞因子前药、组合物或药物制剂中的任何一种或多种在用于在受试者中产生细胞因子梯度的方法中使用,所述方法包括向受试者施用所述蛋白酶激活的细胞因子前体或药物组合物,其中所述受试者包括具有异常高水平的蛋白酶的位点,所述蛋白酶切割所述蛋白酶可切割多肽序列,任选地其中所述位点包括癌症。在一些实施方式中,所述异常高水平高于与具有所述异常高水平的位点相同类型的健康组织中的蛋白酶水平(例如,在被治疗的受试者中或在健康受试者中)。在一些实施方式中,所述异常高水平高于软组织中的蛋白酶的平均水平。

[0357] 在一些实施方式中,提供了一种治疗或预防受试者的疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者施用本文所描述的任何细胞因子前药或药物组合物。在一些实施方式中,所述疾病或病症是癌症,例如,实体瘤。在一些实施方式中,所述癌症是黑色素瘤、结直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌或胃肠道癌、淋巴瘤、结肠癌或结直肠癌、子宫内膜癌、甲状腺癌或膀胱癌。所述癌症(例如,任何前述癌症)可能具有以下特征中的一个或多个特征:是PD-L1阳性的;是转移性的;是不可切除的;是错配修复缺陷型(MMRd)的;和/或是高度微卫星不稳定性(MSI-H)的。

[0358] 在一些实施方式中,提供了一种加强T调节细胞和/或降低炎症或自身免疫活性的方法,所述方法包括向所关注区域(例如,炎症区域)施用细胞因子前药。用于此类方法的细胞因子前药可以包括IL-2多肽序列。在一些实施方式中,提供了一种治疗自身免疫性疾病和/或炎性疾病的方法,所述方法包括向所关注区域(例如,炎症或自身免疫活性区域)施用细胞因子前药。用于此类方法的细胞因子前药可以包括IL-2多肽序列。这些方法利用了某些细胞因子在相对低水平下刺激T调节细胞的能力,所述能力可以发挥抗炎效应并降低或抑制自身免疫活性。

[0359] 任何前述方法和用途中的细胞因子前药可以使用任何合适的施用途径递送到受

试者。在一些实施方式中，所述细胞因子前药是肠胃外递送的。在一些实施方式中，所述细胞因子前药是静脉内递送的。

[0360] 本文提供的细胞因子前药可以单独使用或与疗法中的其它药剂组合使用。例如，本文提供的细胞因子前药可以与至少一种另外的治疗剂共同施用。

[0361] 上文指出的此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂被包括在相同或单独的制剂中)和分别施用，在这种情况下，本文所提供的细胞因子前药的施用可以在施用所述另外的治疗剂和/或佐剂之前、同时和/或之后发生。

[0362] 将以符合良好医疗实践的方式调配、给药和施用细胞因子前药。在此上下文中考虑的因素包含被治疗的特定病症、被治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床病状、病症的起因、药剂的递送部位、施用方法、施用时间安排以及执业医师已知的其它因素。所述细胞因子前药不一定但任选地与当前用于预防或治疗所讨论的病症的一或多种药剂一起调配。此类其它药剂的有效量取决于制剂中存在的细胞因子前药的量、病症或治疗的类型以及上文所讨论的其它因素。这些通常以相同的剂量并且用如本文所述的施用途径或本文所述的剂量的约1％到99％或以经验地/临床地确定适当的任何剂量和任何途径使用。

[0363] 对于疾病的预防或治疗，细胞因子前药的所述适当剂量(当单独使用或与一种或多种其它另外的治疗剂组合使用时)将取决于要治疗的疾病类型、细胞因子前药的类型、疾病的严重程度和进程、施用所述细胞因子前药是否出于预防或治疗目的、先前的疗法、患者的临床病史和对抗体或免疫缀合物的应答以及主治医师的判断。所述细胞因子前药适合在一次或在一系列治疗中施用于患者。

[0364] 核酸、宿主细胞和产生方法

[0365] 可以使用重组方法和组合物产生细胞因子前药或其前体。在一些实施方式中，提供了一种编码本文所描述的细胞因子前药的分离的核酸。此类核酸可以编码包括所述细胞因子多肽序列、所述接头和所述抑制性多肽序列的氨基酸序列以及可能存在的所述细胞因子前药的任何其它多肽组分。表1中提供了示例性核酸序列。在另外的实施方式中，提供了一种或多种包括此类核酸的载体(例如，表达载体)。在另外的实施方式中，提供了一种包括此类核酸的宿主细胞。在一些此类实施方式中，宿主细胞包括载体(例如，已经用载体转化)，所述载体包括编码根据本公开的细胞因子前药的核酸。在一些实施方式中，所述宿主细胞是真核的，例如，中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如，Y0、NS0、Sp20细胞)。在一些实施方式中，提供了一种制备本文公开的细胞因子前药的方法，其中所述方法包括在适于表达所述细胞因子前药的条件下培养如上文所提供的包括编码所述细胞因子前药的核酸的宿主细胞，以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0366] 对于细胞因子前药的重组产生，例如如上文所描述的编码所述细胞因子前药的核酸被制备和/或分离(例如，在使用合成和/或分子克隆技术构建之后)并插入到一个或多个载体中以进一步在宿主细胞中克隆和/或表达。可以使用已知技术容易地制备和/或分离此类核酸。

[0367] 用于克隆或表达细胞因子前药编码载体的合适宿主细胞包括本文所描述的原核细胞或真核细胞。例如，可以在细菌中产生细胞因子前药，特别是当不需要糖基化时。对于多肽在细菌中的表达，参见例如美国专利第5,648,237号、第5,789,199号和第5,840,523号。表达后，可以从细菌细胞糊中以可溶部分分离所述细胞因子前药，并且可以进一步纯化

所述细胞因子前药。

[0368] 除原核生物外,如丝状真菌或酵母等真核微生物是细胞因子前药编码载体的合适克隆或表达宿主,包括糖基化通路已“人源化”的真菌和酵母菌株,从而产生具有部分或完全人糖基化模式的多肽。参见Gerngross,《自然生物技术(Nat.Biotech.)》22:1409-1414(2004)和Li等人,《自然生物技术》24:210-215(2006)。

[0369] 用于表达细胞因子前药的合适宿主细胞也源自多细胞生物体(植物、无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括昆虫细胞。已鉴定出许多杆状病毒株,所述杆状病毒株可以与昆虫细胞结合使用,具体地是用于转染草地贪夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞。

[0370] 植物细胞培养物也可以用作宿主。参见例如美国专利第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号和第6,417,429号。

[0371] 脊椎动物细胞也可以用作宿主。例如,适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它实例是由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1系;人胚胎肾系(例如在Graham等人,《普通病毒学期刊(J.Gen Virol.)》36:59(1977)中所描述的293或293细胞);小仓鼠肾细胞(BHK);小鼠支持细胞(例如在Mather,《生殖生物学(Biol.Reprod.)》23:243-251(1980)中所描述的TM4细胞);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK;水牛大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,例如在Mather等人,《纽约科学院年鉴(Annals N.Y.Acad.Sci.)》383:44-68(1982)中所描述的;MRC 5细胞;以及FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括$DHFR^-$CHO细胞(Urlaub等人,《美国国家科学院院刊》77:4216(1980));以及如Y0、NS0和Sp2/0等骨髓瘤细胞系。

[0372] ***

[0373] 本说明书和示例性实施方式不应视为是限制性的。出于本说明书和所附权利要求的目的,除非另外说明,否则表示量、百分比或比例的所有数量和本说明书和权利要求书中使用的其它数值在所有情况下若其尚未被如此修饰,应理解为被术语“约”修饰。“约”指示基本上不会影响所描述主题的性质的变化程度,例如在10%、5%、2%或1%内。因此,除非有相反指出,否则以下说明书和所附权利要求书中阐述的数值参数是可以根据寻求获得的期望的性质改变的近似值。至少,并且并非试图将等效原则的应用限制于权利要求的范围,每个数值参数应该至少根据所报告的有效数字的数量并且通过应用常规的舍入技术来解释。

[0374] 实施例

[0375] 提供了以下实施例以说明某些公开的实施例并且不应被解释为以任何方式限制本公开的范围。

[0376] 实施例1:编码融合蛋白的哺乳动物表达载体的构建。

[0377] 包括接头序列的所有蛋白质结构域的编码序列被合成为完整的基因(新泽西州金斯瑞公司(Genscript,NJ))。所有合成基因都被设计成含有N端信号肽的编码序列(以促进蛋白质分泌)、5'Kozak序列和5'端和3'端处的独特限制位点。然后将这些基因定向克隆到哺乳动物表达载体pcDNA3.1(加利福尼亚州卡尔斯巴德英杰公司(Invitrogen,Carlsbad,

CA))中。表5A中列出了融合蛋白构建体的实施例。使用标准分子生物学技术和适当的试剂盒(雷根斯堡的GeneArt公司(GeneArt,Regensburg))进行定点诱变。

[0378] 表5A.示例性细胞因子前药构建体

[0379]

名称	SEQ ID NO	特征
构建体 A	100	mIL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – 6His
构建体 B	101	m IL2-2x(SG4) – MMPcs1 – 2x (G4S) – IL2Rα – mIgG1 Fc
构建体 C	102	m IL2(C140S)- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – mIgG1 Fc(T252M)- 6xHIS
构建体 D	104	m IL2(C140S)- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – 可溶 IL2Rα – mIgG1 Fc(T252M)- 6xHIS
构建体 E	106	Hu IL2(C125S)- 2x(SG4) – MMPcs1 – 2x(G4S) – IL2Rα – hu IgG1 Fc – 6xHIS
构建体 F	803	h IL2(C125S)-2x(SG4) -MMPcs1-2x(G4S)-嵌合 IL2Ra（sushi 小鼠）-hIgG1 Fc
构建体 G	804	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra (1-219)-GSGGGG-hu IgG1 Fc
构建体 H	805	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra (1-178)-GSGGGG-hu IgG1 Fc
构建体 V	806	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-4x(G4S)-hIL2Ra (1-219)-GSGGGG-hu IgG1 Fc
构建体 W	807	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-6x(G4S)-hIL2Ra (1-219)-GSGGGG-hu IgG1 Fc
构建体 I	837	h IL2(C125S)-2x(SG4) -MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra(1-219; M25I)-hIgG1 Fc-6xHis
构建体 J	838	h IL2(C125S)-2x(SG4) -MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra(1-219;L42V)-hIgG1 Fc-6xHis

[0380]

构建体 X	808	m IL2(C140S)- 2x(SG4) – MMPik – 2x(G4S) – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 Y	809	m IL2(C140S)– VRIQRKKEKMKET-MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)- mu IgG1 Fc
构建体 Z	810	m IL2- 2x(SG4) – MMPlk – 2x(G4S) – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 AA	811	m IL2-SGG – FHRRIKA- MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)-mu IgG1 Fc
构建体 BB	812	m IL2-SGG – FHRRIKA- MMPscr-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)-mu IgG1 Fc
构建体 CC	813	m IL2 – 2x(GHHPH)- MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)- mu IgG1 Fc
构建体 DD	814	m IL2 – 2x(GHHPH)- MMPscr-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)- mu IgG1 Fc
构建体 EE	815	m IL2 - SGG– GGWSHW- MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)-mu IgG1 Fc
构建体 FF	816	m IL2 -SGG– GGWSHW- MMPscr-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)-mu IgG1 Fc
构建体 GG	817	m IL2 -SGG– KLWVLPK- MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)-mu IgG1 Fc
构建体 HH	818	m IL2 -SGG– KLWVLPK- MMPscr-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)-mu IgG1 Fc
构建体 II	819	m IL2 – LHERHLNNN - MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)-mu IgG1 Fc
构建体 JJ	820	m IL2 – LHERHLNNN - MMPscr-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)- mu IgG1 Fc
构建体 KK	821	m IL2 – VRIQRKKEKMKET- MMPscr-2x(G4S)-mIL2Ra (1-215)- mu IgG1 Fc
构建体 LL	822	m IL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – FHRRIKAGGS – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 MM	823	m IL2- 2x(SG4) – MMPscr – FHRRIKAGGS – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 NN	824	m IL2 –2x(SG4)-MMPcs1-2x(GHHPH)-mIL2Ra (1-215)- mu IgG1 Fc
构建体 OO	825	m IL2 –2x(SG4)-MMPscr-2x(GHHPH)-mIL2Ra (1-215)- mu IgG1 Fc
构建体 PP	826	m IL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – GGWSHWGGS – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc

[0381]

构建体 QQ	827	m IL2- 2x(SG4) – MMPscr – GGWSHWGGS – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 RR	828	m IL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – KLWVLPKGGS – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 SS	829	m IL2- 2x(SG4) – MMPscr– KLWVLPKGGS – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 TT	830	m IL2- 2x(SG4) – MMPcs1 – LHERHLNNNG – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 UU	831	m IL2- 2x(SG4) – MMPscr – LHERHLNNNG – mIL2Rα (1-215)– mu IgG1 Fc
构建体 VV	832	m IL2 – SGGGGGHHPH- MMPcs1- 2x(G4S)-mIL2Ra- mu IgG1 Fc
构建体 WW	833	m IL2 – GHHPHSGGGG- MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra- mu IgG1 Fc
构建体 XX	834	m IL2 –2x(SG4)-MMPcs1-GHHPHGGGGS-mIL2Ra- mu IgG1 Fc
构建体 YY	835	m IL2 –2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra- mu IgG1 Fc-2x(GHHPH)
构建体 ZZ	836	m IL2 –2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-mIL2Ra- mu IgG1 Fc-(GHHPH)
构建体 L	840	h IL2(C125S)-2x(SG4) -MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra(1-219; SGSL39-42ELV)-hIgG1 Fc-6xHis
构建体 K	839	h IL2(C125S)-2x(SG4) -MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra(1-219; DD4-5LY)-hIgG1 Fc- 6xHis
构建体 M	841	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra (1-192)-hu IgG1 Fc-6xHis
构建体 N	842	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra (1-192)-GSGGGG-hu IgG1 Fc -6xHis
构建体 O	843	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra (1-192/M25I)-GSGGGG-hu IgG1 Fc -6xHis
构建体 P	844	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra (1-192/L42V)-GSGGGG-hu IgG1 Fc - 6xHis
构建体 Q	845	hIL2 (C125S)-2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra (1-192/D4L, D5Y)-GSGGGG-hu IgG1 Fc - 6xHis
构建体 AAA	846	h IL2 (C125S)– 2x(SG4)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra(M25I)-GSGGGG- hu IgG1 Fc (LALA)

[0382]

构建体 BBB	847	h IL2 (C125S)– 2x(SG4)-MMPscr-2x(G4S)-hIL2Ra(M25I)-GSGGGG- hu IgG1 Fc (LALA)
构建体 CCC	848	h IL2 (C125S)– 2x(GHHPH)-MMPscr-2x(G4S)-hIL2Ra(M25I)-GSGGGG- hu IgG1 Fc (LALA)
构建体 DDD	849	h IL2 (C125S)– 2x(GHHPH)-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra(M25I)-GSGGGG- hu IgG1 Fc (LALA)
构建体 EEE	850	h IL2 (C125S)– VRIQRKKEKMKET-MMPcs1-2x(G4S)-hIL2Ra(M25I)-GSGGGG- hu IgG1 Fc (LALA)
构建体 FFF	851	h IL2 (C125S)– VRIQRKKEKMKET-MMPscr-2x(G4S)-hIL2Ra(M25I)-GSGGGG- hu IgG1 Fc (LALA)
构建体 GGG	852	m IL2(C140S)- 2x(SG4) – MMPscr– 2x(G4S) – mIL2Rα (1-215)– mIgG1 Fc

[0383] 实施例2:融合蛋白的表达和纯化。

[0384] 融合蛋白的瞬时表达

[0385] 不同的哺乳动物细胞表达系统用于产生融合蛋白(ExpiCHO-S™、Expi293F™和Freestyle CHO-S™,生命技术公司(Life Technologies))。简而言之,按照制造商的方案并使用相应的表达试剂盒中提供的试剂将表达构建体瞬时转染到细胞中。然后融合蛋白表达并分泌到所述细胞培养上清液中。每天从所述生产培养物中收集样品并评估细胞密度和活力。通过SDS-PAGE分析细胞培养上清液中的蛋白质表达滴度和产物完整性以确定所述最佳采集时间。通常在4天与12天之间在培养物活力通常>75%时采集细胞培养上清液。在采集当天,在进一步使用前通过离心和真空过滤清除细胞培养上清液。

[0386] 融合蛋白的纯化

[0387] 在一步或两步程序中从细胞培养上清液中纯化融合蛋白。简而言之,通过蛋白A亲和色谱法(HiTrap MabSelect SuRe,通用电气医疗集团(GE Healthcare))纯化含有Fc结构域的蛋白质。His标记的蛋白质首先在镍琼脂糖柱(Ni-NTA琼脂糖,凯杰公司(Qiagen))上纯化,随后进行阴离子交换色谱法(HiTrap Capto Q ImpRes,西格玛公司(Sigma))。所有经纯化的样品都经过缓冲液交换,并通过超滤浓缩到>1mg/mL的典型浓度。在还原和非还原条件下通过SDS PAGE评估最终样品的纯度和均质性(通常>90%),随后使用抗His或抗Fc抗体进行免疫印迹。将经纯化的蛋白质等分并且在进一步使用之前储存在-80℃下。图1示出了成功纯化的融合蛋白的实施例。

[0388] 实施例3:MMP蛋白酶对融合蛋白的切割

[0389] 首先用对氨基苯汞乙酸盐激活重组MMP9和/或MMP2(R&D系统公司(R&DSystems)),并且在37C下使用这种激活的蛋白酶或不含所述蛋白酶的等效量的激活溶液来消化或模拟消化所述融合蛋白1小时、2小时、4小时并过夜(18小时到22小时)。在TCNB缓冲液中设置切割测定:50mM Tris,10mM CaCl2,150mM NaCl,0.05% Brij-35(w/v),pH 7.5。将经消化的蛋白质在测试前等分并储存在-80℃下。随后通过SDS-PAGE分析消化物的等分试样,然后进行蛋白质印迹以评估切割程度。还在功能测定(如CTLL-2增殖和HEK-Blue白介素报告测定)

中评估消化物。如图2A至E所示，在过夜温育后观察到具有功能位点的所述融合蛋白被MMP9蛋白酶基本上完全切割。相比之下，含有乱序MMP切割位点的蛋白质没有被切割(图2E)。

[0390] 实施例4:通过ELISA检测小鼠IL-2/IL-2Ra融合蛋白和小鼠IL-2

[0391] 开发了一种ELISA测定来检测和定量包括IL-2和IL-2Ra部分的融合蛋白。在PBS中用100uL大鼠抗小鼠IL-2单克隆抗体(JES6-1A12;赛默飞世尔公司(ThermoFisher))以1mg/ml涂覆96孔板的孔过夜。洗涤后，用TBS/0.05% Tween 20/1% BSA封闭孔，然后在室温下添加融合蛋白和/或未知生物样品持续1小时。洗涤后，添加抗小鼠IL-2Ra生物素标记的检测抗体(BAF2438，R&D系统公司)并使用Ultra Strepavidin HRP(赛默飞世尔公司)检测结合。通过添加发色四甲基联苯胺底物(Ultra TMB，赛默飞世尔公司)使ELISA板显色。通过添加0.5M H2SO4终止反应，并且在450nm至650nm处读取吸光度。

[0392] 开发了第二种ELISA测定来检测和定量小鼠IL-2和/或包括IL-2部分的融合蛋白。在PBS中用100uL大鼠抗小鼠IL-2单克隆抗体(JES6-1A12;赛默飞世尔公司(ThermoFisher))以1mg/ml涂覆96孔板的孔过夜。洗涤后，用TBS/0.05% Tween 20/1% BSA封闭孔，然后在室温下添加融合蛋白和/或未知生物样品持续1小时。洗涤后，添加抗小鼠IL-2生物素标记的检测抗体(JES6-5H4，赛默飞世尔公司)并使用Ultra Strepavidin HRP(赛默飞世尔公司)检测结合。通过添加发色四甲基联苯胺底物(Ultra TMB，赛默飞世尔公司)使ELISA板显色。通过添加0.5M H2SO4终止反应，并且在450nm至650nm处读取吸光度。此测定能够同时检测游离小鼠IL-2以及在前药融合蛋白背景下的小鼠IL-2两者。

[0393] 实施例5:IL-2、IL-2Ra、6x组氨酸和Fc免疫印迹分析

[0394] 通过蛋白质印迹评估未经处理的和经消化的融合蛋白的切割产物。使用了以下单克隆抗体:大鼠抗小鼠IL-2抗体(JES6-1A12;赛默飞世尔公司)、山羊抗小鼠IL-2多克隆抗体(AF-402-NA;R&D系统公司)、小鼠抗6xHis单克隆抗体(MA1-21315，赛默飞世尔公司)、抗mIgG Fc HRP缀合抗体(赛默飞世尔公司目录号A16084)和抗人IL2抗体(英杰公司，目录号MA5-17097，小鼠IgG1)。使用山羊抗大鼠HRP缀合抗体、驴抗山羊HRP缀合抗体或山羊抗小鼠HRP缀合抗体(宾夕法尼亚州西格罗夫杰克逊免疫研究公司(Jackson Immuno Research，West Grove，PA))进行检测，并且按照制造商的建议使用SuperSignal West Femto最大灵敏度检测试剂(赛默飞世尔公司)显色。

[0395] 实施例6:基于IL-2功能细胞的测定

[0396] 使用CTLL-2细胞(ATCC)或报告细胞系(reporter cell line)HEK Blue IL2(圣地亚哥Invivogen公司(Invivogen，San Diego))测量IL-2活性。简而言之，对于CTLL-2测定，将一定滴定的未经处理的和经消化的样品添加到96孔板中的100ul培养基中每孔40 000个CTLL-2细胞中，并且在37C下在5% CO2中温育18小时至22小时。在此时间段结束时，添加50ug/孔噻唑蓝四唑溴化物(MTT)(西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))，并且将板在37C下在5% CO2中温育5小时。用HCl酸化的100ul/孔10% SDS(西格玛公司)裂解细胞，在37C下温育4小时，并且在570nm处读取吸光度。重组人或小鼠IL-2(分别为派普泰克公司(Peprotech)和R&D系统公司)用作阳性对照。图3A至B、图3K至L和图3N至P示出了在CTLL-2增殖测定中评估的未经处理的和经消化的融合蛋白的实施例。

[0397] HEK-Blue™IL-2细胞专门设计用于监测由IL-2诱导的JAK-STAT通路的激活。事实上，用人或鼠类IL-2刺激会触发JAK/STAT5通路并诱导分泌的胚胎碱性磷酸酶(SEAP)产生。

在使用QUANTI-Blue™(一种SEAP检测介质)时,可以轻松监测SEAP。这些细胞对人和鼠类IL-2做出应答。对于HEK Blue测定,将未经处理和经消化的样品滴定并添加到96孔板中的200ul培养基中每孔50 000个HEK Blue细胞中,并且在37C下在5% CO2中温育20小时至24小时。下一日,通过将20uL细胞上清液添加到QuantiBlue试剂中,随后在37C下温育1小时到3小时并在630nm处读取吸光度来测量SEAP的水平。图3C至J、图3Q至Y和表5B至5C示出了从在HEK Blue IL2测定中测试的IL2融合蛋白获得的结果。

[0398] 表5B.

[0399]

候选物	+MMP EC50 (nM)	-MMP EC50 (nM)	倍数差异 EC50 (HEK BLUE IL2)
构建体 E	0.0073	0.103	14
构建体 L	0.0061	0.0453	7.3
构建体 K	0.0055	0.0933	17
构建体 J	0.0059	0.1264	21
构建体 F	0.0078	0.1736	22
构建体 I	0.0074	0.3165	43

[0400] 表5C.

[0401]

候选物	+MMP EC50 (nM)	-MMP EC50 (nM)
构建体 AA	0.01088	0.4423
构建体 Y	0.0109	1.232
构建体 CC	0.013	0.66
构建体 EE	0.0066	1.18
构建体 GG	0.0072	0.14
构建体 II	0.009	0.489
构建体 AAA	0.0089	0.23
构建体 DDD	0.0094	0.181
构建体 EEE	0.0069	0.149

[0402] 使用考马斯染色的SDS-PAGE分析比较了构建体E、构建体M和构建体N的聚集、稳定性和均质性(图3M)。构建体M和构建体N示出聚集减少和更高的稳定性和均质性,这与由O-糖基化位点缺失引起的改善一致。

[0403] 实施例7:融合蛋白的体外血清稳定性

[0404] 在37C下将构建体B与分别从8周大的雌性C57BL/6原初和MC38荷瘤小鼠(n=2每种血清类型,收集时肿瘤体积>3000mm3)收集的血清一起温育至多72小时,以检查非特异性切割以及MMP特异性脱靶切割两者。在0小时、4小时、8小时、24小时、48小时和72小时收集样品,并且使用内部开发的夹心ELISA对完整的非MMP切割的融合蛋白进行定量。结果(参见图

4)示出,融合蛋白的水平在两种血清类型中都是稳定的,这表明1)在至多72小时内缺乏脱靶蛋白切割以及2)循环中没有活性MMP。

[0405] 实施例8:融合蛋白在非荷瘤小鼠中的药代动力学评估

[0406] 在此研究中,C57BL/6 8周到10周大的雌性小鼠(杰克逊实验室(Jackson Labs))被分配到不同的组(每个处理组3只小鼠)。小鼠通过静脉内注射(3,5mg/kg)接受单剂量的融合蛋白。3只小鼠/组/时间点在以下时间点采血:给药前(0小时)、给药后10分钟、30分钟、1小时、4小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时和120小时。将血液样品收集在微量离心管(Eppendorf tube)中并加工成血清,然后储存在-80C下,直到测试为止。然后通过ELISA评估样品以定量完整的融合蛋白水平。随时间推移绘制融合蛋白的平均血清浓度,并且使用WinNonlin 7.0(非区室模型)计算PK参数,如图5所示。

[0407] 实施例9:融合蛋白在同基因MC38结直肠癌模型中的体内功效

[0408] a.构建体A的肿瘤内注射

[0409] 试验PK数据表明构建体A从循环中迅速清除(静脉内注射30分钟内血清水平下降约30倍)。这对于分子量低于约60kDa至70kDa的肾小球过滤截止值的小型治疗蛋白很常见。因此,推断此融合蛋白不适用于POC体内功效研究的全身性静脉内给药。相反,选择了具有3个臂的直接肿瘤内递送设计:媒剂、重组人IL-2(r hIL2)和构建体A(n=3小鼠/臂)。IL-2先前已通过直接肿瘤注射在多种同基因模型中证明了抗肿瘤活性,并且基于此数据,选择以5ug/天(相当于50 000U/天)给药r hIL2。构建体A以70ug/天给药,这表示相较于重组IL-2,5摩尔过量以补偿在CTLL-2测定中观察到的EC50差异。每天将所有药剂和媒剂注射到在C57BL/6小鼠的胁腹上生长的皮下MC38肿瘤块(开始给药时大小为约200mm^3)中持续12天,前5次注射后有2天的假期(总共10次注射)。在所述研究期间,每周两次测量肿瘤和体重。使用以下方程计算肿瘤体积:(最长直径*最短直径^2)/2。如图6A所示,观察到构建体A的显著抗肿瘤活性。事实上,在构建体A处理组中观察到肿瘤完全消除,而在媒剂或r hIL2处理组中均未观察到肿瘤消退。当“治愈的”构建体A处理的小鼠在第40天再次接种MC38肿瘤细胞(对侧胁腹上10^6个细胞)时,在再激发后一个月没有产生肿瘤块,这表明这些小鼠中存在“记忆”免疫应答(图6B)。

[0410] b.构建体B的全身性静脉内注射

[0411] 本研究的目的是评估构建体B在携带MC38的雌性C57BL/6小鼠中的功效。在此研究中,向C57BL/6 6周至8周大的雌性小鼠(杰克逊实验室)皮下接种MC38细胞(10^6个细胞/动物),并且当平均肿瘤体积达到约80mm^3时,基于肿瘤体积将动物随机分为2组(每个处理组8只小鼠)。根据以下研究设计向动物给药:

[0412]

组	处理	N	给药途径	给药频率和持续时间	剂量水平(mpk)	剂量体积(ul)
1	媒剂对照	8	静脉内	Q3D,持续21天	N/A	100
2	构建体B	8	静脉内	Q3D,持续21天	10	100

[0413] 在21天时间段内向小鼠给药,然后进一步观察另一周。在所述研究期间,每周两次测量肿瘤和体重。使用以下方程计算肿瘤体积:(最长直径*最短直径^2)/2。图7示出了两组(图7a)的随时间推移的平均肿瘤体积以及媒剂和经处理的(图7B)动物的个体体重。

[0414] 结果显示,处理组的功效极佳,在第21天抑制了92%的肿瘤生长,而未观察到副作用。值得注意的是,在8例病例中,3例肿瘤完全消退(“治愈”)发生在结直肠癌同基因环境

中。

[0415] 实施例10:通过免疫组织化学(IHC)评估MC38结直肠癌样品中的免疫细胞群

[0416] 此研究的目的是通过IHC评估肿瘤样品中的免疫靶标。详情参见下文:

[0417] ●CD4+Foxp3双免疫荧光染色

[0418] ●CD8、CD25、CD3、CD4和CD335单IHC染色

[0419] 应注意,在执行IHC之前,对所有对照和构建体B处理的肿瘤进行H&E染色以检查组织质量。

[0420] 从全身性体内功效研究中选择7个肿瘤样品,并且按照标准包埋工艺制备福尔马林固定的石蜡包埋(FFPE)块。

[0421] 模型类型:MC38

[0422]

组	处理	FFPE块的数量
1	媒剂,静脉内,Q3D,持续21天	4
2	构建体B,10mg/kg,静脉内,Q3D,持续21天	3

[0423] 使用了以下抗体:

[0424]

抗体	公司	目录号	类型	反应性
CD4	细胞信号传导公司(Cell Signaling)	25229	兔 IgG mAb	小鼠
FoxP3	细胞信号传导公司	12653	兔 IgG mAb	小鼠
CD8	细胞信号传导公司	98941	兔 IgG mAb	小鼠
CD25	艾博抗公司(abcam)	ab227834	兔 IgG mAb	小鼠
CD3	细胞信号传导公司	99940	兔 IgG mAb	小鼠
CD335	R&D 系统公司	AF2225-SP	山羊 IgG pAb	小鼠
键聚合物细化检测	徕卡公司(Leica)	DS9800	含有含 10%(v/v)动物血清的抗兔 Poly-HRP-IgG(< 25 μg/mL)的 tris 缓冲盐水/0.09% ProClin™ 950(即用型)	
ImmPRESS HRP 抗山羊 Ig	载体公司(Vector)	MP-7405	含有含 10%(v/v)动物血清的抗山羊 Poly-HRP-IgG(< 25 μg/mL)的 tris 缓冲盐水(即用型)和内部血清(2.5%)	
兔(DA1E) mAb IgG	细胞信号传导公司	3900	同种型对照	
TRITC TSA(红色)	珀金埃尔默公司(PerkinElmer)	NEL742001KT	荧光双染色	
FITC TSA(绿色)	珀金埃尔默公司	NEL741001KT	荧光双染色	

[0425] 使用手动旋转切片机(4μm厚度/切片)对FFPE块进行切片,并且使用针对所有抗体的优化IHC测定方案。使用NanoZoomer-S60图像系统以40x放大率扫描所有染色切片。产生整个切片的高分辨率图片并进行进一步分析。

[0426] 评分方法:所有图像均使用HALO™图像分析平台进行分析。分析整个载玻片图像并排除坏死区域。对总细胞和IHC阳性细胞进行计数。IHC评分表示为阳性细胞计数相对于整个切片内总细胞数的比率并且在图8中示出。结果表明,在构建体B处理后,肿瘤浸润免疫细胞显著增加。

[0427] 实施例11:多种同基因肿瘤模型中的体内MMP活性评估。

[0428] 使用MMP可激活的荧光探针(即MMPSense 680™)在体内评估模型中MMP活性的程

度。此探针在其完整状态下是光学沉默的，并在MMP介导的切割后变得高度荧光，并且被设计成用作实时体内成像工具(珀金埃尔默公司)。在向荷瘤小鼠单剂量静脉内注射探针后，在6天内捕获荧光图像，并且对肿瘤区域中的荧光强度进行定量，所述荧光强度与存在的MMP活性成正比(图9)。所有模型都示出本质上不同水平的MMP活性。

[0429] 实施例12：构建体B在多种同基因肿瘤模型中的体内功效。

[0430] 对于功效研究，向C57BL/6或BALB/c小鼠皮下接种恶性细胞，并且当平均肿瘤体积达到平均90mm^{3}时，基于肿瘤体积将动物随机分为2组(n＝10只小鼠每处理组)。每3天(Q3D)以20mg/kg向小鼠静脉内给药。在所述研究持续时间内每周两次测量/收集肿瘤、体重和临床观察。图10A至D、图11A、图12A和图13B至C中示出了肿瘤体积。在若干个模型中观察到稳健的抗肿瘤活性，特别是在B16F10黑色素瘤模型中在第12天观察到49％的肿瘤生长抑制(TGI)，并且在侵袭性Ras/Myc转化的RM-1前列腺癌模型中在第10天观察到58％的肿瘤TGI(图10C至D和表6)。值得注意的是，没有发现任何毒性迹象，包括体重减轻和肝和/或肾酶水平升高，并且这些模型中临床观察是正常的。图11B至D和图12B至D中分别示出了对应于图11A和图12A的肝和肾酶结果。

[0431] 表6.

[0432]

癌症类型	品系	模型	给药方案	最大 TGI%	T 检验	MMP 评分
乳腺	BALB/c	EMT06	20 mpk，静脉内，Q3D	43（第 20 天）	P = 0.0006	高
黑色素瘤	C57BL/6	B16F10	20 mpk，静脉内，Q3D	49（第 12 天）	P = 0.0004	低
结直肠	BALB/c	CT-26	20 mpk，静脉内，Q3D	46（第 13 天）	P = 0.0114	中等/高
结直肠	C57BL/6	MC-38	10 mpk，静脉内，Q3D	92（第 21 天）	P < 0.0001	中等
前列腺	C57BL/6	RM_1	20 mpk，静脉内，Q3D	58（第 10 天）	P < 0.0001	未确定

[0433] P值表示最大TGI之日媒剂与构建体B组之间的未配对t检验(graphpad prism)。

[0434] MC38与B16F10模型之间的功效差异可能部分是由于在B16F10肿瘤中测量的MMP活性较低导致的，从而导致相对于MC38环境在TME中释放的功能性IL-2较少(图13A)。

[0435] 实施例13：下一代保留接头肽结合测定

[0436] 合成了在添加或不添加肿瘤保留序列的情况下一系列包括MMP可切割位点的肽，并将所述肽与所述荧光团EDANS(5-((2-氨基乙基)氨基)萘-1-磺酸)缀合(定制合成，赛默飞世尔公司)。表7示出了肽列表。然后测试这些肽与ECM蛋白(如在肿瘤基质中大量发现的肝素、纤连蛋白和胶原蛋白)结合的能力。

[0437] 表7.

[0438]

SEQ ID NO	序列	保留基序的靶标
901	GGGSGGGGPLGVRG-*	无（第1代）
902	GG***GHHPH***GPLGVRG-*	pH依赖性肝素
903	G***VRIQRKKEKMKET***-*	肝素
904	***FHRRIKA***GPLGVRG-*	肝素
907	GGGSGGGPAALIGG-*	无（第1代）
913	G***GGWSHW***GPLGVRG-*	pH依赖性纤连蛋白
914	***KLWVLPK***GPLGVRG-*	胶原蛋白IV
915	GGGSG***LHERHLNNN***-*	胶原蛋白I

[0439] 下划线表示MMP切割位点。粗斜体表示存在时的保留基序。-*代表与肽缀合的Edans荧光团。

[0440] 所有结合测定均在10mM TrisHCl pH 7.5和/或10mM TrisHCl pH 6中设置。将肽(20uM)在室温下在振荡器上与和肝素交联的琼脂糖或对照琼脂糖珠粒(分别是西格玛公司(Sigma)和Pierce公司)一起温育2小时。然后将珠粒洗涤4次，并且在黑色96孔板中重新悬浮于100uL的结合缓冲液中。通过使用EDANS的激发/发射光谱(激发340/发射490)测量样品的荧光来对肽结合进行定量。图14A示出，含有肝素结合基序的若干个下一代MMP接头肽与肝素-琼脂糖珠粒结合，而缺乏这些保留序列的第1代MMP接头则没有。一种此类肽显示相较于pH 7.5(正常组织的pH)在pH 6(肿瘤的pH)下与肝素的结合增强(图14B)。

[0441] 对于纤连蛋白和胶原结合测定，首先将链霉亲和素偶联的磁性珠粒(分别为Mag Sepharose公司(Mag Sepharose)、Cytiva与Dynabeads公司(Cytiva and Dynabeads)、赛默飞世尔公司(ThermoFisher))与生物素标记的纤连蛋白(细胞骨架公司(Cytoskeleton))或生物素标记的胶原蛋白IV(Prospec公司(Prospec))在轻微振荡下一起温育1小时。多次洗涤后，然后在室温下将ECM涂覆的珠粒与Edans肽(20uM)在中性或酸性结合缓冲液中在振荡下一起温育2小时。然后洗涤珠粒，并且在黑色96孔板中将其重新悬浮于100uL的结合缓冲液中。通过使用EDANS的激发/发射光谱(激发340/发射490)测量样品的荧光来对肽结合进行定量。图14D示出了肽13能够与纤连蛋白结合，并且显示出相较于pH 7.5(正常组织的pH)在pH 6(肿瘤的pH)下的结合增强。图14F示出了肽14与胶原蛋白IV强力结合，而肽15在较小程度上结合。

[0442] 实施例14:下一代肿瘤保留IL-2融合蛋白结合测定

[0443] 设计并成功地制备了一系列包括所述接头区中的肿瘤保留序列的IL-2融合蛋白(表3和图1C至D)。然后测试这些蛋白质与ECM蛋白(如在肿瘤基质中大量发现的肝素、纤连蛋白和胶原蛋白)结合的能力。

[0444] 在室温下在振荡器上(350rpm)用25ug/mL的肝素-BSA缀合物(由勃林格殷格翰公司(Boerhinger Ingelheim)的Mueller博士提供)或对照BSA涂覆96孔板持续18小时至22小时。洗涤后，用PBS-0.05% Tween 20/1% BSA封闭孔持续90分钟，然后在pH 7.5和/或pH 6下将融合蛋白滴定在1% BSA/PBS-0.05% Tween 20中，并且在室温下在振荡下添加2小时。洗涤后，添加抗小鼠IL-2生物素标记的检测抗体(JES6-5H4，赛默飞世尔公司)并使用Ultra Strepavidin HRP(赛默飞世尔公司)检测结合。通过添加发色四甲基联苯胺底物(Ultra TMB，赛默飞世尔公司)使板显色。通过添加0.5M H2SO4终止反应，并且在450nm至650nm处读取吸光度。IL-2融合变体构建体Y和构建体CC在酸性pH下以剂量依赖性方式与肝

素结合并且比构建体B具有更高的亲和力(图14C)。引人注目的是,构建体CC在酸性pH下优先与肝素结合,并在EC50为约10nM时表现出最稳健的结合,而具有>100倍EC50值的构建体B的结合要弱得多。

[0445] 开发了类似的基于板的测定来质询IL-2融合变体与纤连蛋白的结合。在室温下在振荡器上(350rpm)用4ug/mL的纤连蛋白(西格玛公司)或对照BSA涂覆96孔板持续18小时到22小时。洗涤后,用无蛋白封闭缓冲液(Pierce公司)封闭孔持续90分钟,然后在pH 7.5和/或pH 6下将融合蛋白滴定在封闭缓冲液-0.1% Tween 20中,并且在室温下在振荡下添加1小时。洗涤后,添加抗小鼠IL-2生物素标记的检测抗体(JES6-5H4,赛默飞世尔公司)并使用Ultra Streptavidin HRP(赛默飞世尔公司)检测结合。通过添加发色四甲基联苯胺底物(Ultra TMB,赛默飞世尔公司)使板显色。通过添加0.5M H2SO4终止反应,并且在450nm至650nm处读取吸光度。构建体EE在酸性pH下优先与纤连蛋白结合并显示剂量依赖性结合,而在pH 7.5下未观察到结合(图14E)。在中性或酸性条件下均未观察到构建体B的显著结合。

[0446] 为了测试与胶原蛋白的结合,使用与胶原蛋白交联的琼脂糖(西格玛公司)进行下拉测定。在4C下将IL-2融合蛋白与胶原蛋白-琼脂糖或对照琼脂糖珠粒在轻微旋转下在1% BSA/PBS-0.05% Tween 20中一起温育18小时至22小时。洗涤后,通过将珠粒重新悬浮于SDS样品缓冲液(生命技术公司)中来洗脱与珠粒结合的蛋白质。然后通过SDS-PAGE在4%至12% BisTris梯度凝胶上分离所结合的蛋白质,随后用山羊抗小鼠IL-2多克隆抗体(AF-402-NA;R&D系统公司)进行免疫印迹。驴抗山羊HRP缀合抗体用于检测(宾夕法尼亚州西格罗夫杰克逊免疫研究公司),并且印迹按照制造商的建议使用SuperSignal West Femto最大灵敏度检测试剂(赛默飞世尔公司)进行显色。图14G中示出了印迹图像。构建体GG和构建体II被胶原蛋白-琼脂糖珠粒特异性结合,而没有IL-2融合蛋白与对照琼脂糖珠粒结合。使用iBright成像系统(英杰公司)对印迹进行定量示出,尽管所结合的构建体GG和构建体II的分率很低(<输入的1%),但其分率是所结合的构建体B的分率的2.5倍和1.4倍(表8)。

[0447] 表8.

[0448]

	输入(2%)	结合	结合(输入%)	归一化
构建体 B	16707	2306	0.3%;	1
构建体 GG	15267	5191	0.7%;	2.5
构建体 II	12094	2277	0.4%;	1.4

[0449] 实施例15:下一代保留接头IL-2融合蛋白在体内肿瘤中示出更大保留。

[0450] 通过利用荧光标记的蛋白质和实时全身成像评估了体内肿瘤中存在的IL-2融合蛋白的水平。根据制造商的方案(Dylight 650抗体标记试剂盒,赛默飞世尔公司),将非可切割构建体GGG和构建体DD与Dylight 650探针缀合。证实了缀合并没有显著改变蛋白质与肝素的结合。向BALB/c小鼠皮下接种EMT6乳腺癌同基因模型,并且当平均肿瘤体积达到240mm^{3}时,基于肿瘤体积将动物随机分为3组(n=2只小鼠每处理组)。下表示出了研究设计:

[0451]

组	处理	N	给药途径	给药频率和持续时间	剂量水平（mg/kg）	剂量体积（mL/kg）
1	对照-PBS	2	静脉内	一次	NA	4
2	构建体 GGG-DY650	2	静脉内	一次	8	4
3	构建体 DD-DY650	2	静脉内	一次	8	4

[0452] 向荷瘤小鼠施用所述单剂量标记的IL-2融合蛋白后，在IVIS系统(珀金埃尔默公司，IVIS Lumina Series III)上在96小时内捕获荧光图像(激发640/发射680，符合Dylight 650探针激发/发射光谱)并且在图15A中示出。跨各组定量肿瘤区域中的荧光强度，在每个时间点从组2和组3值中减去平均背景肿瘤荧光(组1)，并使数据相对于相同量的每个标记的蛋白质的初始荧光强度归一化。图15B示出了在每个被测时间点，组3的肿瘤相关荧光是组2的肿瘤相关荧光的约2倍。这意味着下一代保留接头构建体DD在肿瘤中累积和保留的水平是第1代IL-2融合蛋白构建体GGG在肿瘤中累积和保留的水平的2倍。

[0453] 实施例16：下一代保留MMP接头使体内肿瘤和血清中的药物和IL2的水平升高。

[0454] 对在临床前功效研究期间收集的肿瘤样品中的全长IL2-IL2Ra融合蛋白和IL-2的水平进行定量，从而比较构建体B和保留接头IL-2融合药物(参见实施例17)。

[0455] 在最后一次剂量注射后24小时收集肿瘤(n＝3每组)，快速冷冻并储存在-80C下，直到进一步处理为止。使用补充有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的组织萃取试剂(赛默飞世尔公司)产生肿瘤裂解物，并且使用BCA测定(Pierce公司)确定标准技术和蛋白质浓度。

[0456] 使用内部ELISA测试裂解物以测量全长IL-2融合蛋白(IL-2捕获/IL-2Ra检测)和IL-2融合蛋白+游离IL-2(IL-2捕获/IL-2检测)。通过从药物+IL-2数据集中减去药物水平来计算肿瘤中的游离IL-2水平。使结果相对于1mg的肿瘤裂解物归一化，并且图15C至H中示出了平均值。尽管构建体B以40mg/kg给药，但肿瘤中构建体CC(20mg/kg剂量)的水平是构建体B的水平的约3倍(图C)。来自10mg/kg给药队列的样品中的药物水平比较显示在胶原蛋白结合构建体GG处理的肿瘤中存在最高水平(图15F)。这表明保留接头技术可能会导致体内肿瘤中的药物量稳健增加。同样，与构建体B处理的肿瘤相比，构建体CC、构建体GG和构建体II处理的肿瘤中的IL-2水平也升高(图15E/H)。这意味着下一代保留接头技术能够在TME中保留全长药物和切割后释放的IL-2。

[0457] 还用内部ELISA测试等效血清样品(n＝3每组)以定量全长IL-2融合药物，并且图15I-K中示出了结果。给药后24小时，尽管剂量不同，但构建体B(40mg/kg)和构建体CC(20mg/kg)的循环药物水平大致相似，而在10mg/kg队列中，血清中的构建体GG和构建体II药物水平是构建体B血清水平的约5倍和3倍(图15J)。在第17天(构建体B 20mg/kg)和第21天(构建体Y 20mg/kg)，即分别是最后一次静脉内注射后4天和8天收集的另外的血清样品用于测定全长IL-2融合药物。图15K示出尽管晚了4天收集血清，但循环中的构建体Y药物水平惊人地是构建体B的药物水平的10倍以上。总的来说，这些数据表明保留接头技术使循环中的药物水平增加。

[0458] 实施例17：保留接头IL-2药物在B16F10同基因模型中的体内功效

[0459] 在第一功效研究中，向C57BL/6小鼠皮下接种B16F10黑色素瘤细胞，并且当平均肿瘤体积达到平均70mm^{3}至90mm^{3}时，基于肿瘤体积将动物随机分为5组(n＝6只小鼠每处理组)。根据以下设计，每3天(Q3D)向小鼠静脉内给药，总共5个剂量：

[0460]

组	处理	N	给药途径	给药频率和持续时间	剂量水平（mg/kg）	剂量体积（mL/kg）
1	PBS-媒剂	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	NA	4
2	构建体 B	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	20	4
3	构建体 B	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	40	8
4	构建体 Y	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	20	4.45
5	构建体 CC	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	20	5

[0461] 在所述研究期间，每周两次测量肿瘤体积。图16A中示出了平均肿瘤体积。在所有处理组中均观察到抗肿瘤活性，然而与构建体B处理组中约60％的TGI相比，在所述保留接头药物构建体Y和构建体CC中观察到最稳健的肿瘤生长抑制(TGI)(分别为77％和78％)(无论剂量如何，表9)。

[0462] 表9.

[0463]

组	药物	剂量	TGI(％)第13天	P值
2	构建体B	20mg/kg	61.43	0.0002
3	构建体B	40mg/kg	58.44	0.0019
4	构建体Y	20mg/kg	76.59	0.0001
5	构建体CC	20mg/kg	77.84	0.0002

[0464] P值表示第13天媒剂与测试制品组之间的未配对t检验(graphpad prism)。

[0465] 在同一模型中的第二功效研究中，向C57BL/6小鼠皮下接种B16F10黑色素瘤细胞，并且当平均肿瘤体积达到平均70mm^{3}到90mm^{3}时，基于肿瘤体积将动物随机分为5组(n＝6只小鼠每处理组)。根据以下设计，每3天(Q3D)向小鼠静脉内给药，总共5个剂量：

[0466]

组	处理	N	给药途径	给药频率和持续时间	剂量水平（mg/kg）	剂量体积（mL/kg）
1	PBS-媒剂	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	NA	5
2	构建体 B	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	10	5
3	构建体 EE	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	10	5

[0467]

4	构建体 GG	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	10	5
5	构建体 II	6	静脉内	Q3D，持续 14 天（5 个剂量）	10	5

[0468] 在所述研究期间每周两次测量肿瘤体积，直到第20天，即第五剂量后的7天。在第20天，小鼠接受另外剂量的药物，24小时后处死动物，并且收集组织和血液(加工成血清)并储存在-80C下以进行进一步测试。图16B中示出了平均肿瘤体积。在此侵袭性模型中，使用10mg/kg的构建体B仅观察到适度的抗肿瘤活性(第15天27％ TGI，表10)。引人注目的是，在等效剂量下，所有保留接头IL-2融合药物都显示出优异的TGI(表10)。具体地，胶原蛋白结

合药物构建体GG和构建体II(10mg/kg给药)示出稳健的肿瘤控制,与先前在两倍更高剂量下观察到的构建体B相似(分别是表10中第15天57% TGI相对于表9中第13天61% TGI)。此外,在7天的给药假期后,构建体B示出降低的功效,而所有保留接头药物在第20天维持相似水平的肿瘤控制。总的来说,图16A至B证明了保留接头IL-2药物在临床前黑色素瘤模型中具有优异的抗肿瘤功效。这很可能是由于血清中的循环药物和TME中的驻留药物两者的较高水平引起的,所述药物即使在延长给药假期后也可能发挥延长的抗肿瘤活性。

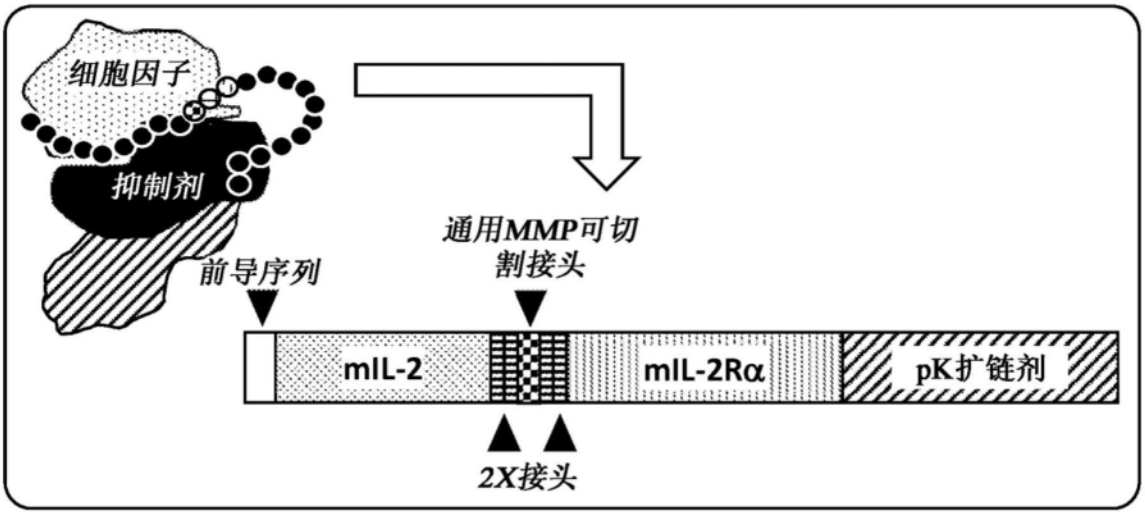
[0469] 表10.

[0470]

组	药物	剂量	TGI(%)D15	TGI(%)D20
2	构建体B	10mg/kg	27.43	14.02
3	构建体EE	10mg/kg	39.32	37.61
4	构建体GG	10mg/kg	57.18	64.70
5	构建体II	10mg/kg	57.68	68.52

[0471] 实施例18:肿瘤样品中的IFN-γ水平

[0472] 根据制造商的方案(英杰公司),使用Luminex试剂盒测量肿瘤裂解物(n=3每组)中的IFN-γ细胞因子水平。使结果相对于1mg的裂解物归一化,并且图17A/B中示出了平均值。与构建体B处理的肿瘤相比,在所有保留接头IL-2药物处理的肿瘤中测量到IFN-γ的水平升高。在媒剂处理的肿瘤中检测不到IFN-γ。


细胞因子
抑制剂
前导序列
通用MMP可切
割接头
mIL-2
mIL-2Rα
pK扩链剂
2X接头

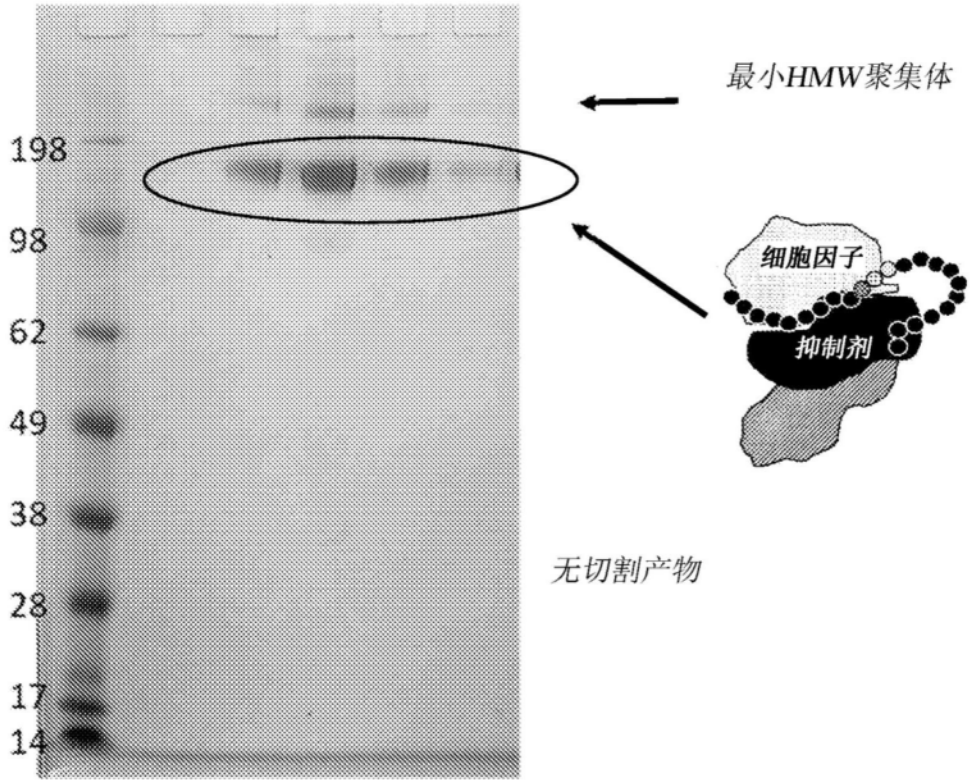
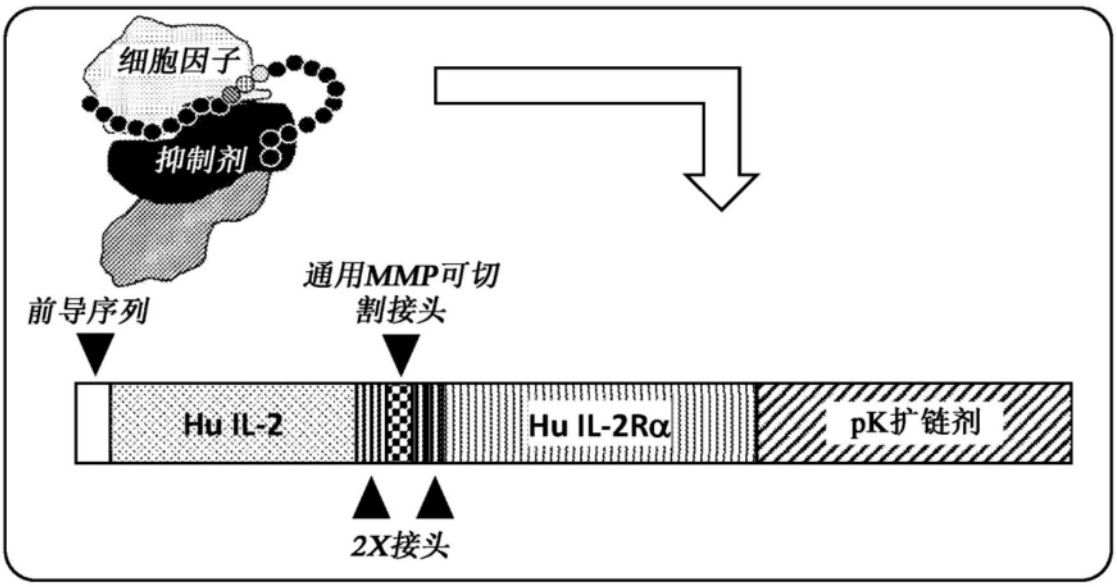

198
98
62
49
38
28
17
14
最小HMW聚集体
细胞因子
抑制剂
无切割产物

图1A


细胞因子
抑制剂
前导序列
通用MMP可切割接头
Hu IL-2
Hu IL-2Rα
pK扩链剂
2X接头

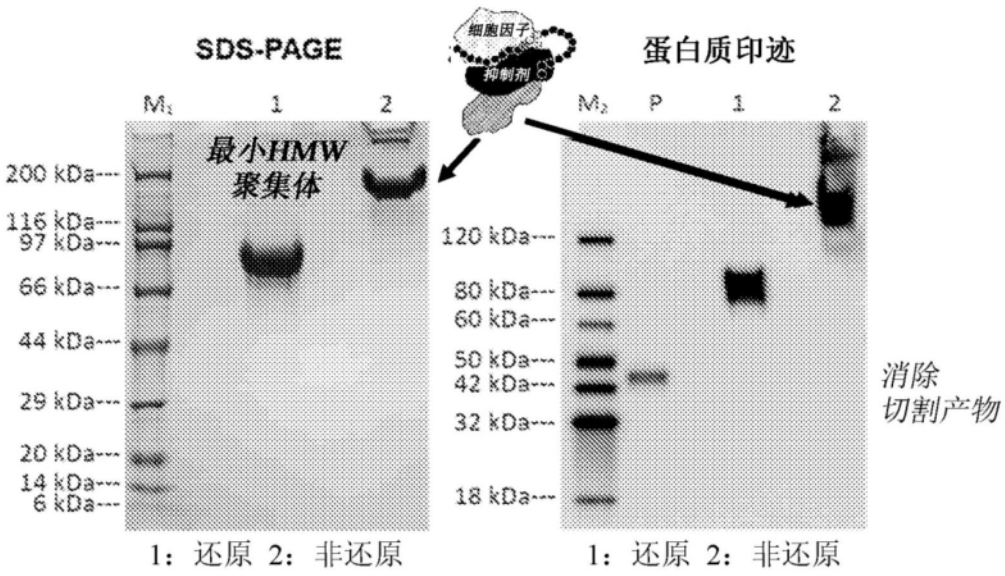
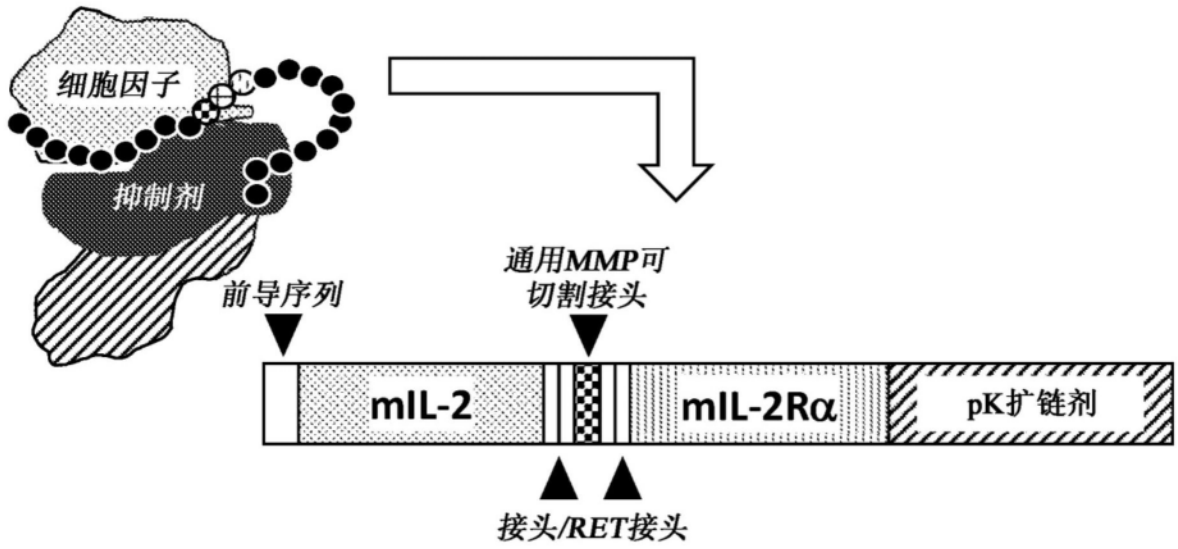

SDS-PAGE
蛋白质印迹
细胞因子
抑制剂
M1
1
2
M2
P
1
2
最小HMW聚集体
200 kDa
116 kDa
97 kDa
66 kDa
44 kDa
29 kDa
20 kDa
14 kDa
6 kDa
120 kDa
80 kDa
60 kDa
50 kDa
42 kDa
32 kDa
18 kDa
消除切割产物
1：还原 2：非还原
1：还原 2：非还原

图1B


细胞因子
抑制剂
前导序列
通用MMP可
切割接头
mIL-2
mIL-2Rα
pK扩链剂
接头/RET接头

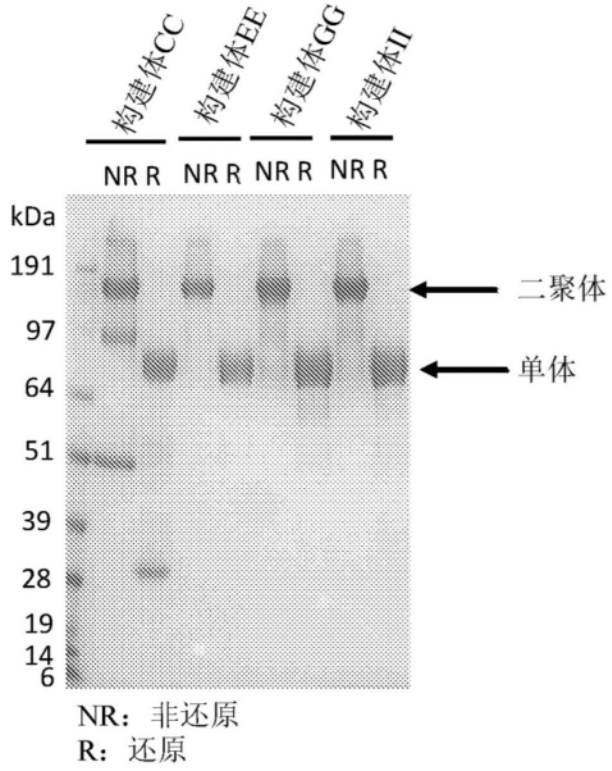
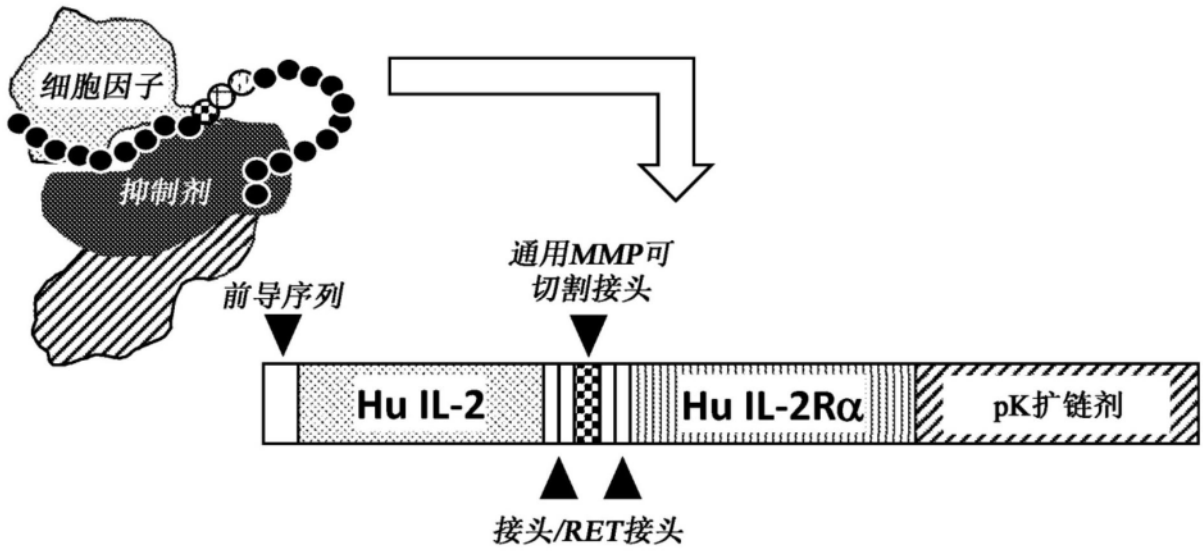

构建体CC
构建体EE
构建体GG
构建体II
NR R NR R NR R NR R
kDa
191
97
64
51
39
28
19
14
6
二聚体
单体
NR：非还原
R：还原

图1C


细胞因子
抑制剂
前导序列
通用MMP可
切割接头
Hu IL-2
Hu IL-2Rα
pK扩链剂
接头/RET接头

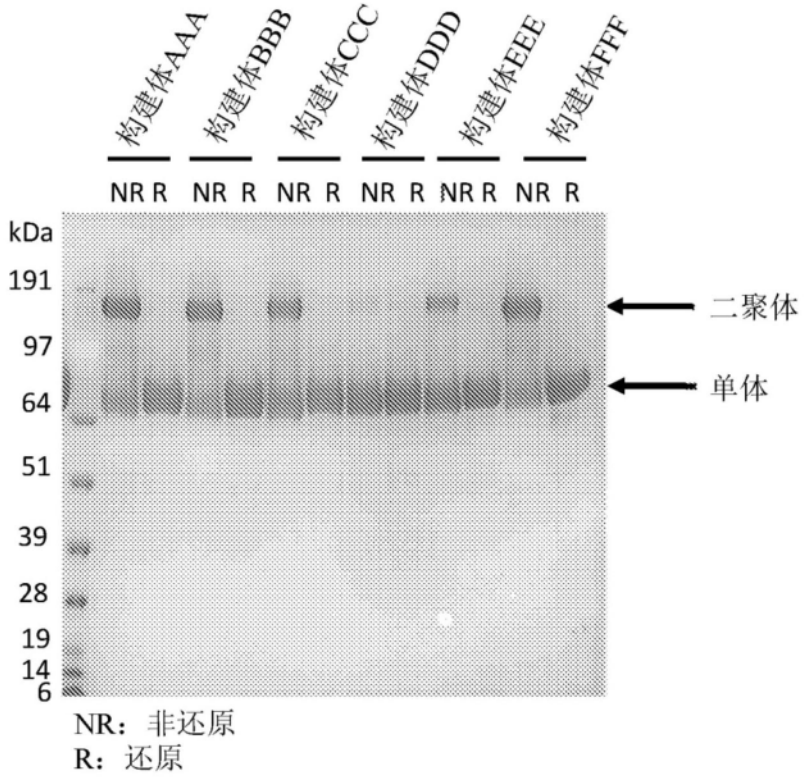

构建体AAA
构建体BBB
构建体CCC
构建体DDD
构建体EEE
构建体FFF
NR R NR R NR R NR R NR R NR R
kDa
191
97
64
51
39
28
19
14
6
二聚体
单体
NR：非还原
R：还原

图1D

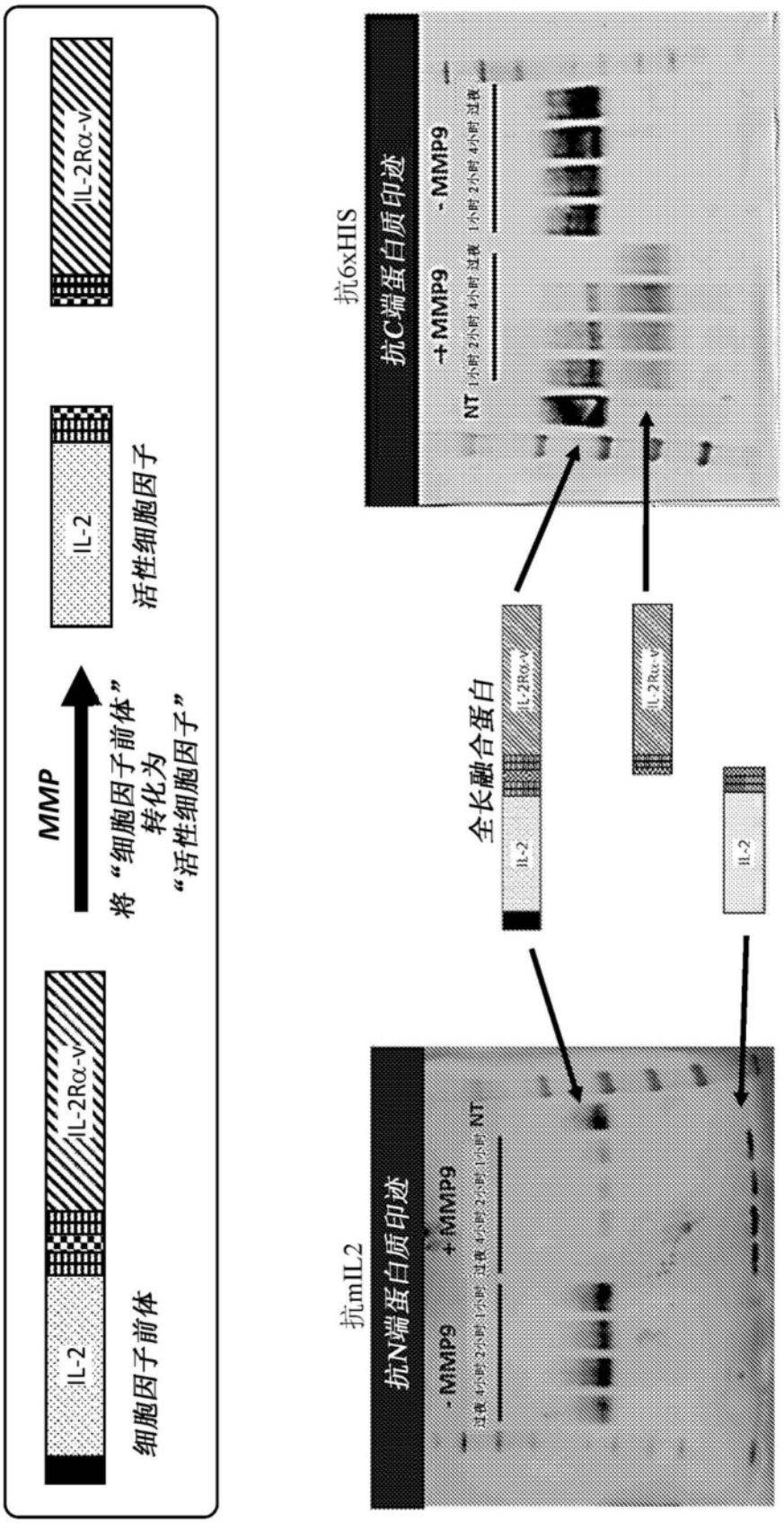

IL-2
IL-2Rα-v
细胞因子前体
MMP
将“细胞因子前体”
转化为
“活性细胞因子”
IL-2
IL-2Rα-v
活性细胞因子
抗6xHIS
抗C端蛋白质印迹
+MMP9
-MMP9
NT
全长融合蛋白
IL-2
IL-2Rα-v
IL-2Rα-v
IL-2
抗mIL2
抗N端蛋白质印迹
-MMP9
+MMP9
NT

图2A

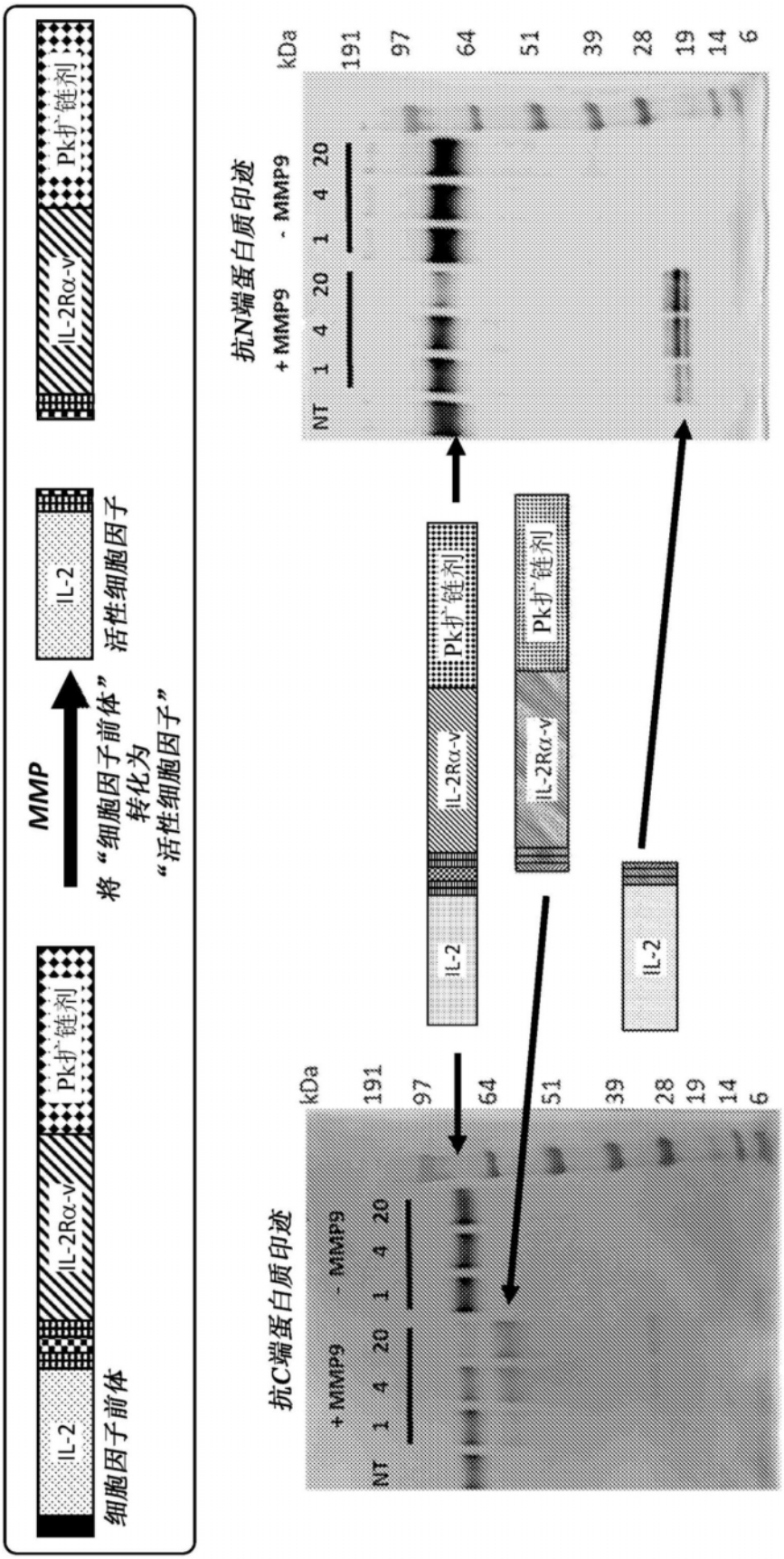

IL-2
IL-2Rα-v
Pk扩链剂
细胞因子前体
MMP
将“细胞因子前体”转化为“活性细胞因子”
活性细胞因子
抗C端蛋白质印迹
抗N端蛋白质印迹
kDa
191
97
64
51
39
28
19
14
6
NT
+MMP9
-MMP9
1
4
20

图2B

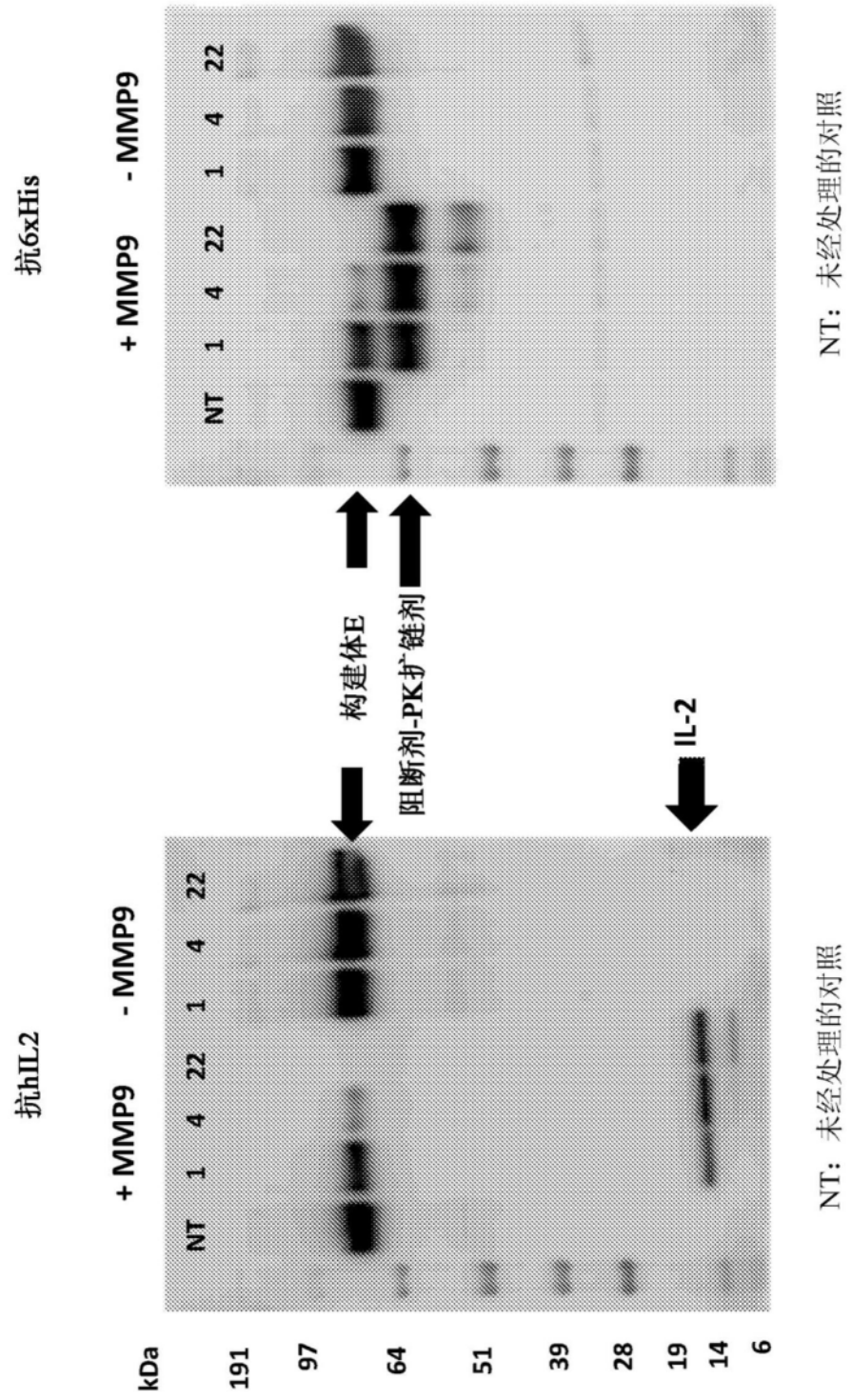

抗6xHis
+ MMP9
- MMP9
NT 1 4 22 1 4 22
构建体E
阻断剂-PK扩链剂
NT：未经处理的对照
抗hIL2
+ MMP9
- MMP9
NT 1 4 22 1 4 22
IL-2
NT：未经处理的对照
kDa
191
97
64
51
39
28
19
14
6

图2C

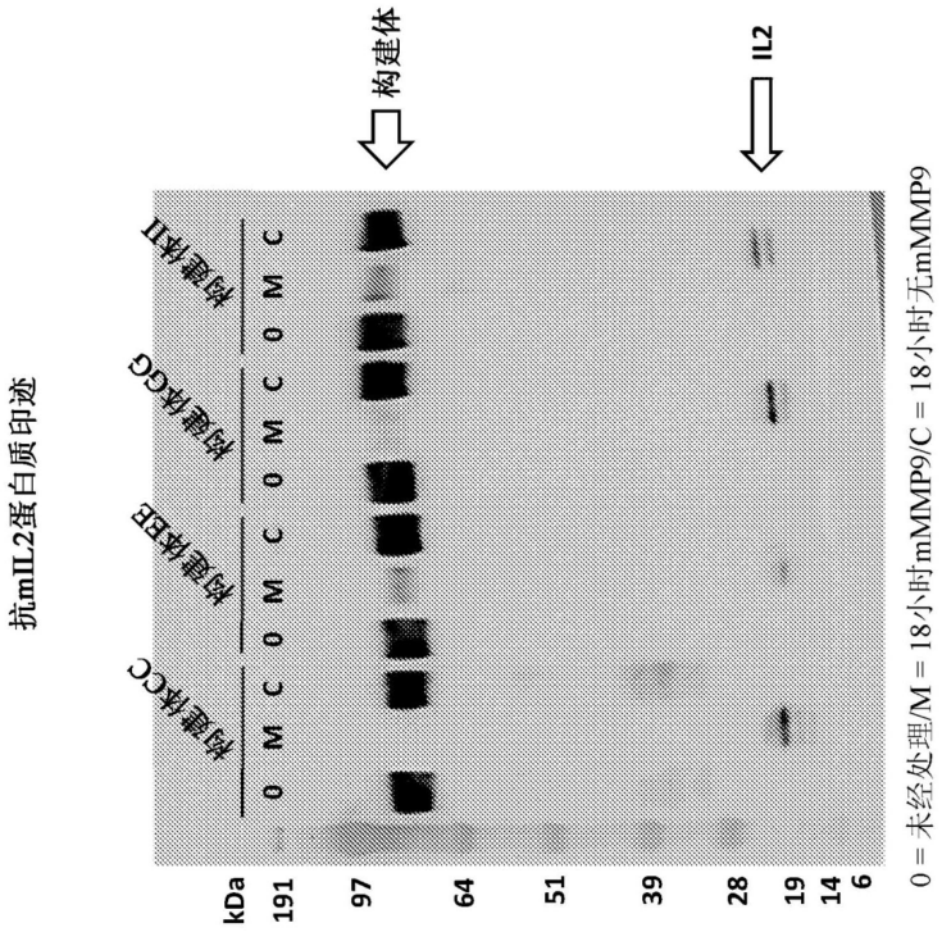

抗mIL2蛋白质印迹
构建体CC
构建体EE
构建体GG
构建体II
0 M C 0 M C 0 M C 0 M C
kDa
191
97
64
51
39
28
19
14
6
构建体
IL2
0 = 未经处理/M = 18小时mMMP9/C = 18小时无mMMP9

图2D

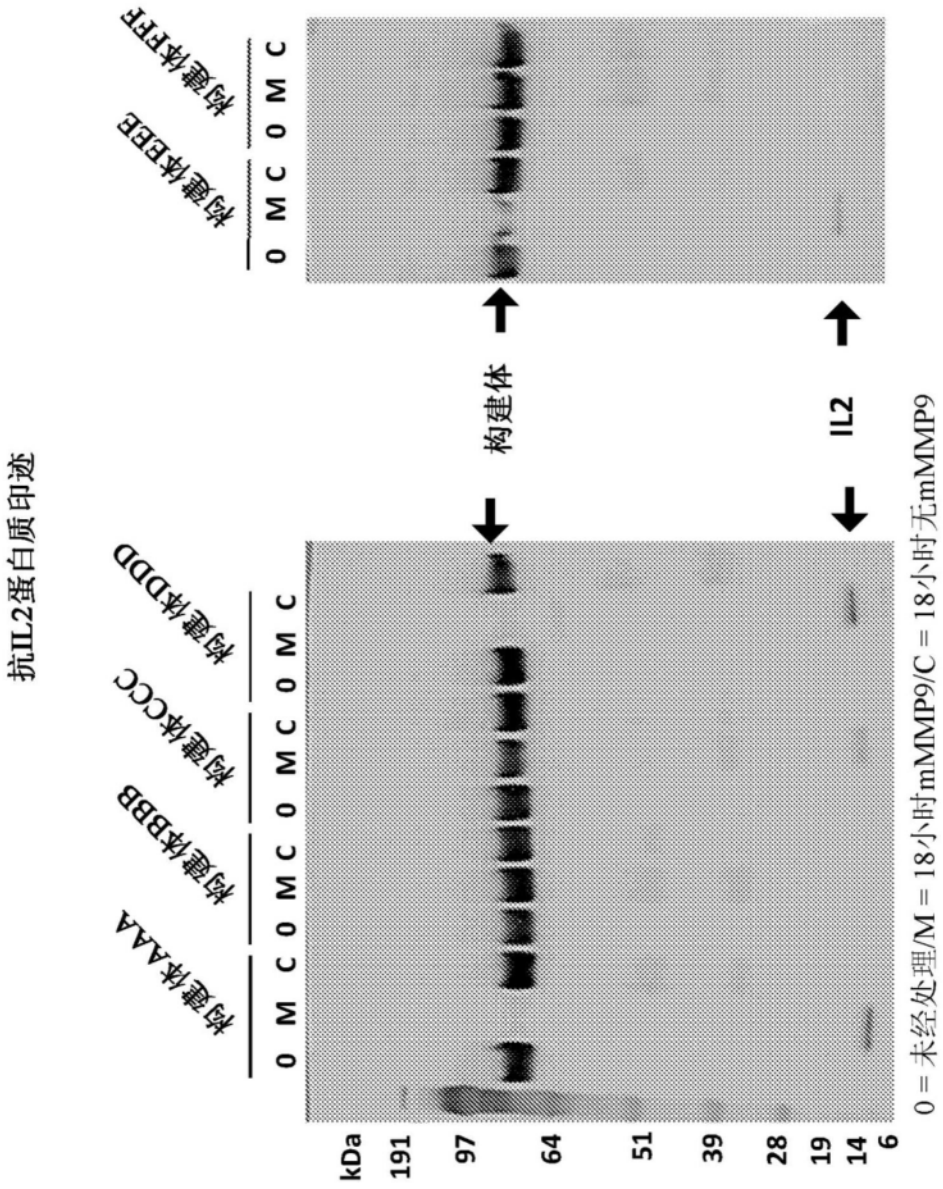

抗IL2蛋白质印迹
kDa
191
97
64
51
39
28
19
14
6
0 M C 0 M C 0 M C 0 M C
构建体AAA
构建体BBB
构建体CCC
构建体DDD
0 M C 0 M C
构建体EEE
构建体FFF
构建体
IL2
0 = 未经处理/M = 18小时mMMP9/C = 18小时无mMMP9

图2E

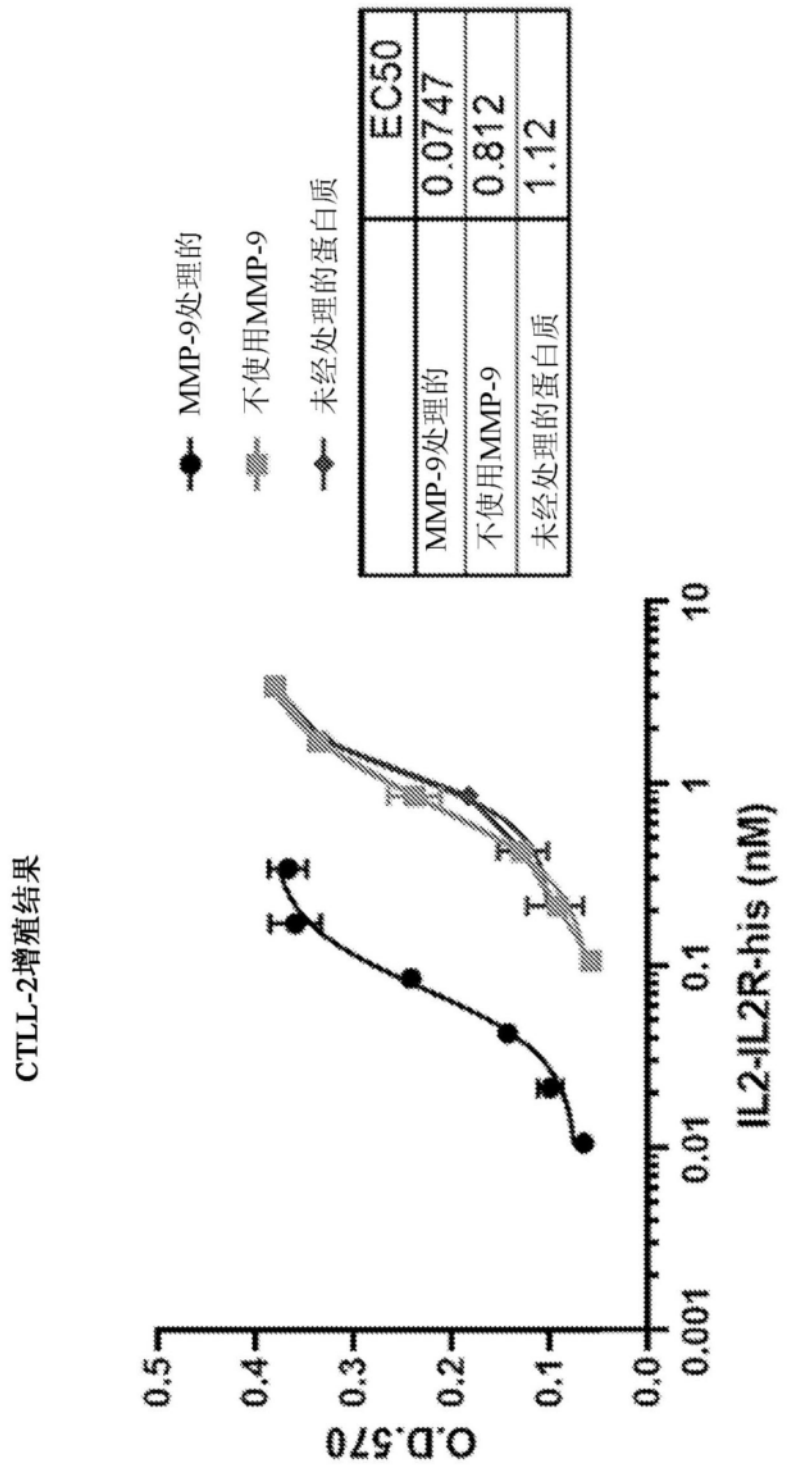

CTLL-2增殖结果
O.D.570
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
IL2-IL2R-his (nM)
MMP-9处理的
不使用MMP-9
未经处理的蛋白质
EC50
MMP-9处理的 0.0747
不使用MMP-9 0.812
未经处理的蛋白质 1.12

图3A

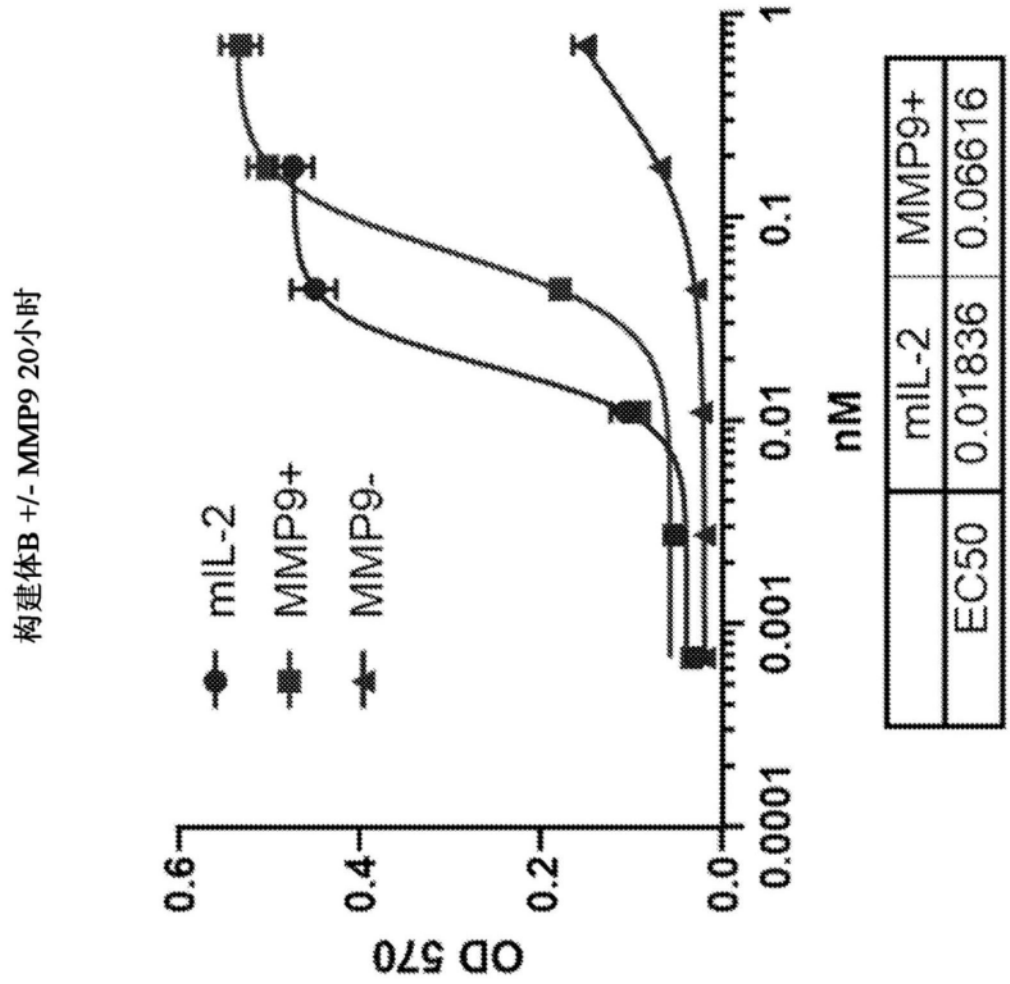
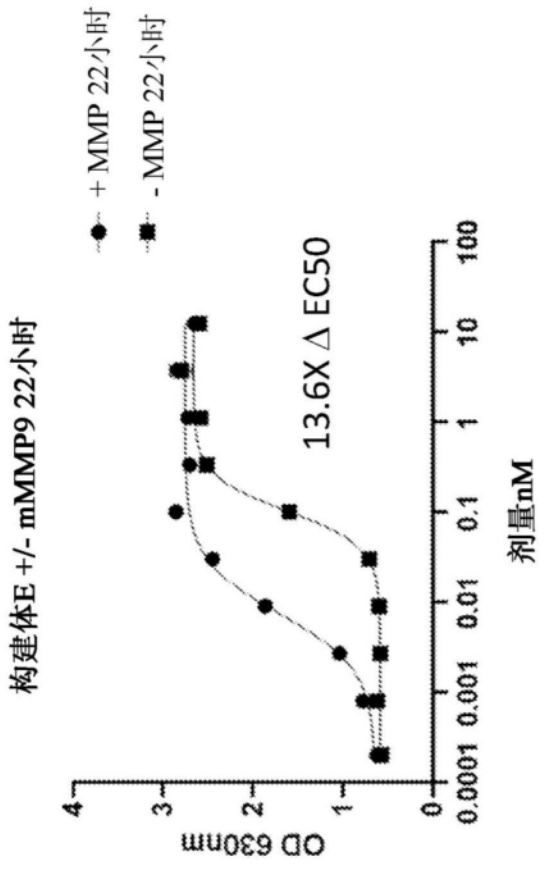
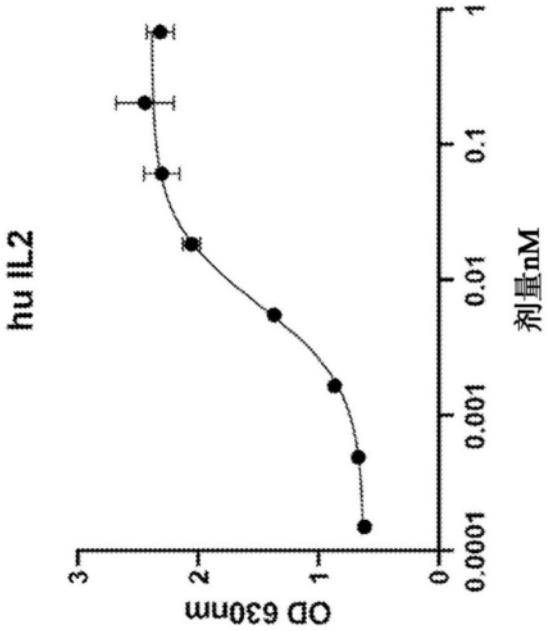

构建体B +/- MMP9 20小时
mIL-2
MMP9+
MMP9-
OD 570
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
nM
mIL-2
MMP9+
EC50
0.01836
0.06616

图3B



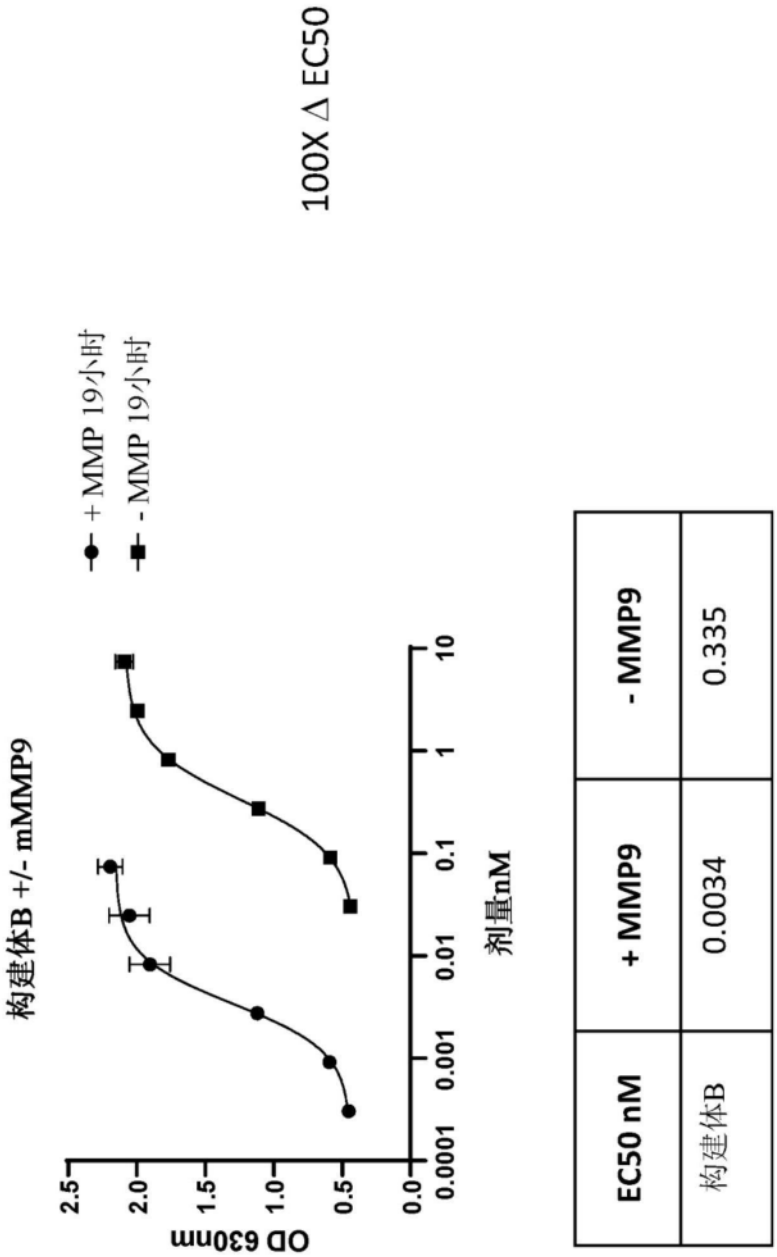
EC50 nM	+ MMP9	- MMP9
构建体E	0.00736	0.103

图3C



nM	hu IL2
EC50	0.0066

图3D



EC50 nM	+ MMP9	- MMP9
构建体B	0.0034	0.335

图3E

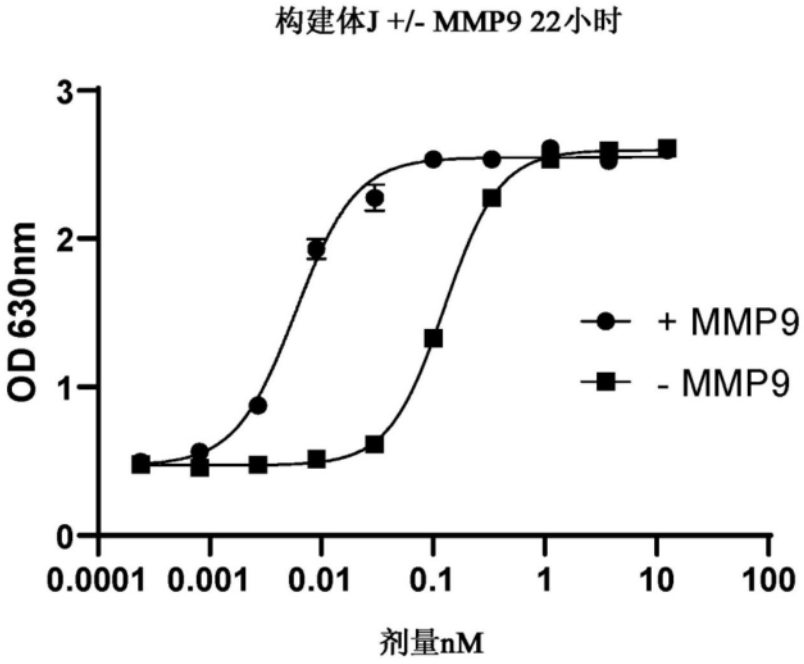

构建体J +/- MMP9 22小时
OD 630nm
3
2
1
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM
+ MMP9
- MMP9

图3F

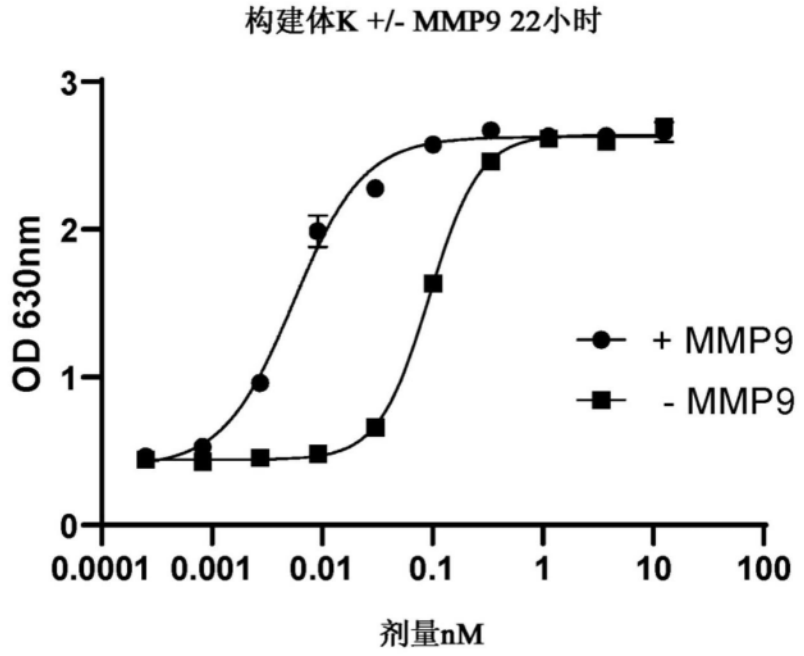

构建体K +/- MMP9 22小时
OD 630nm
3
2
1
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM
+ MMP9
- MMP9

图3G

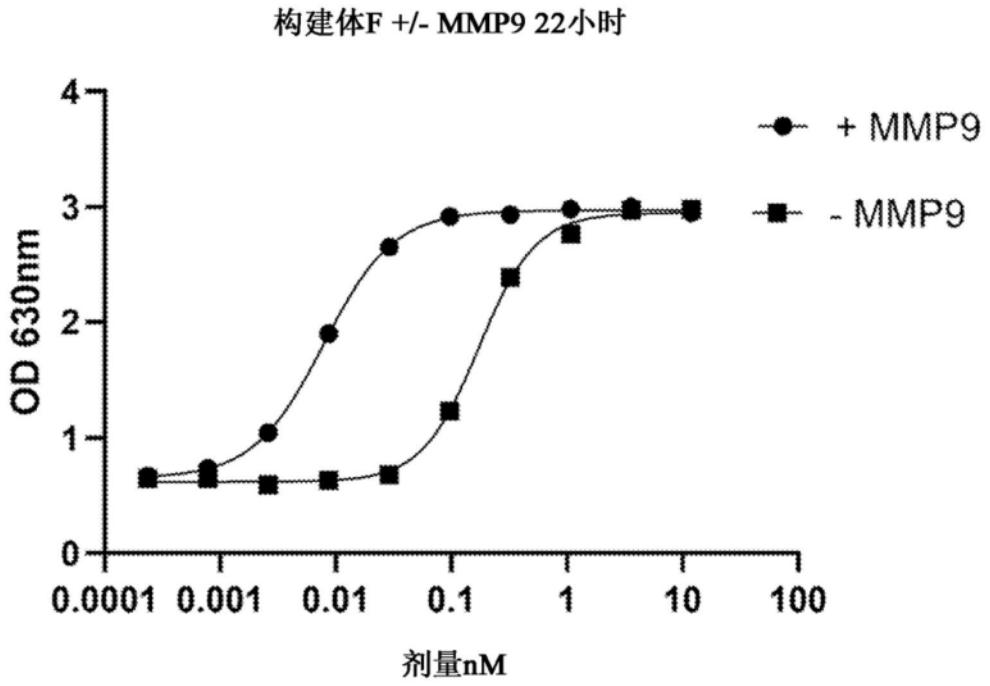

构建体F +/- MMP9 22小时
+ MMP9
- MMP9
OD 630nm
0
1
2
3
4
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM

图3H

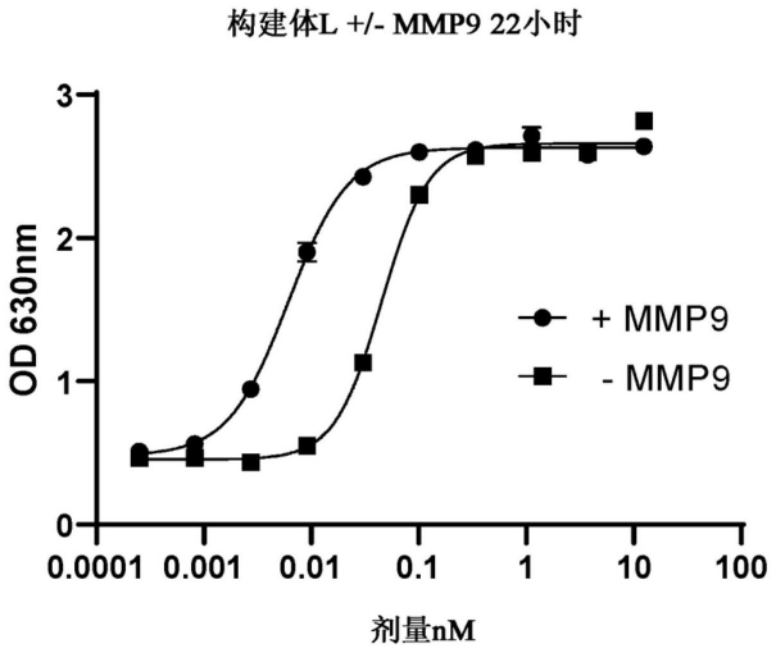

构建体L +/- MMP9 22小时
+ MMP9
- MMP9
OD 630nm
0
1
2
3
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM

图3I

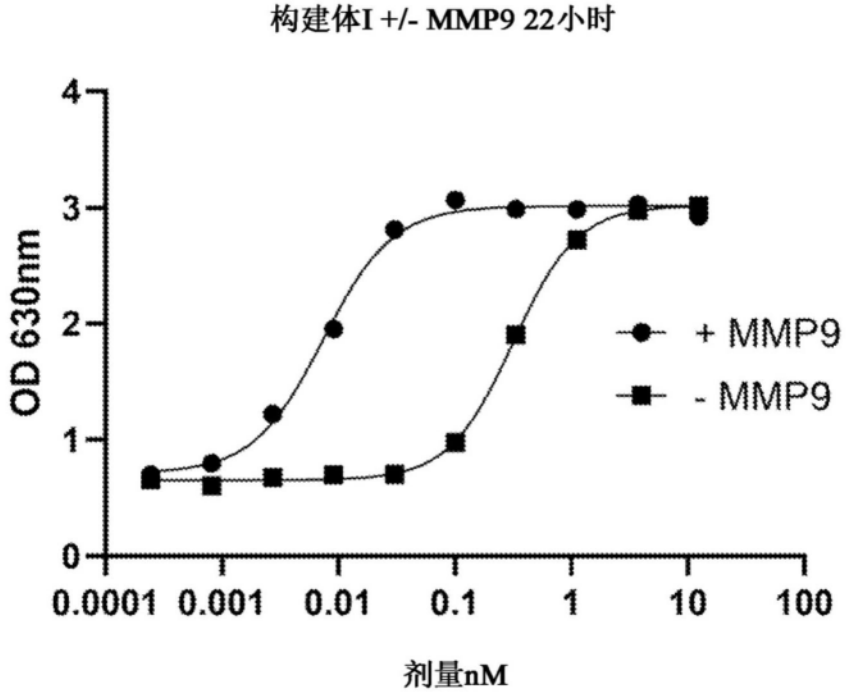
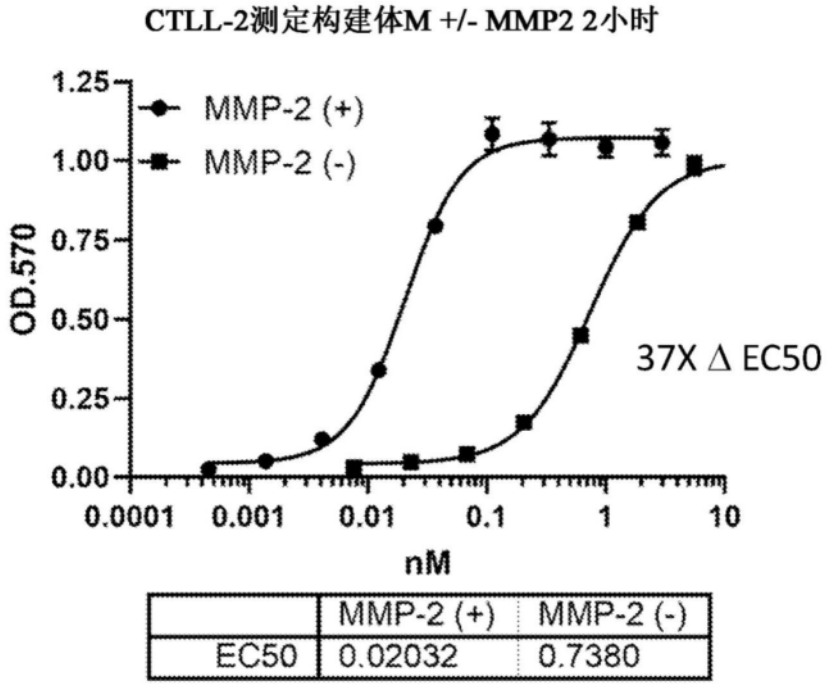
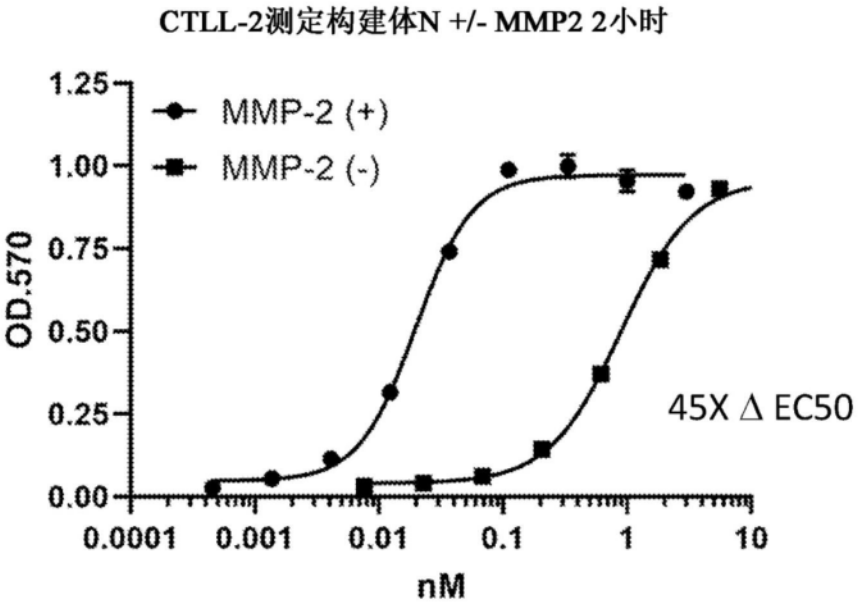


图3J



	MMP-2 (+)	MMP-2 (-)
EC50	0.02032	0.7380

图3K



	MMP-2 (+)	MMP-2 (-)
EC50	0.01977	0.8936

图3L

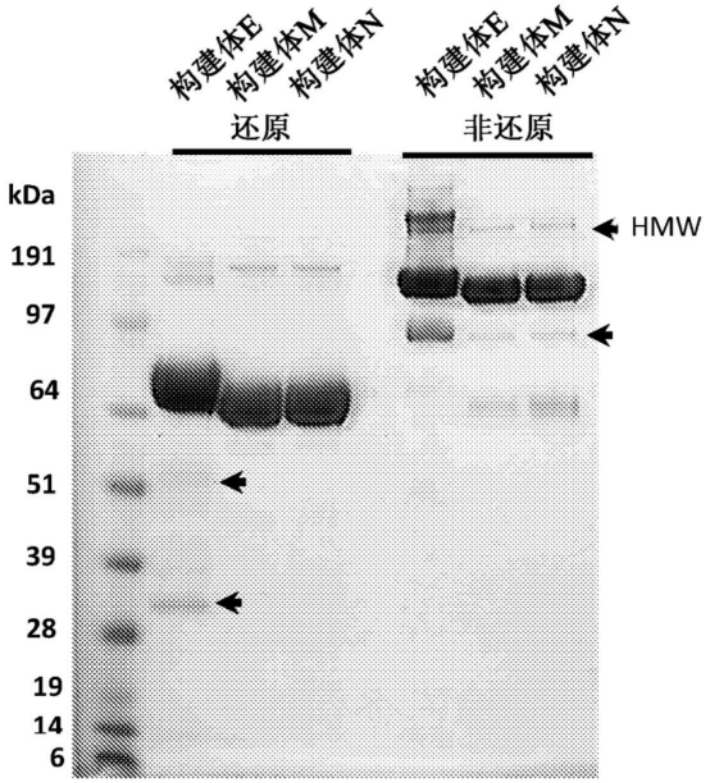
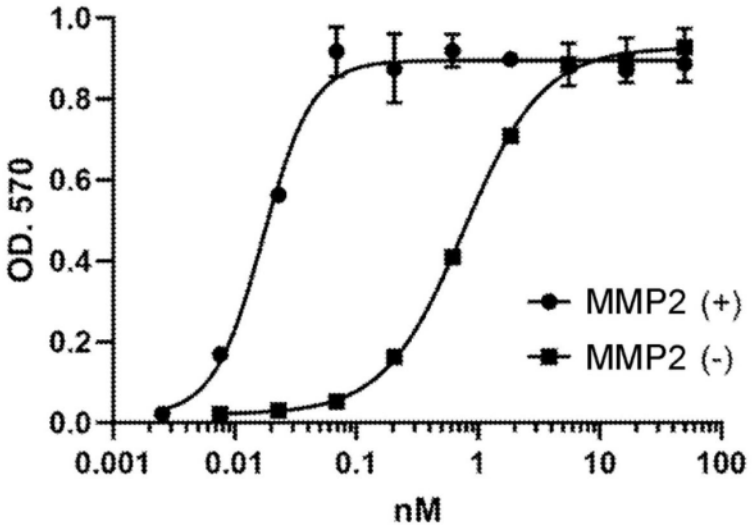


图3M

构建体O

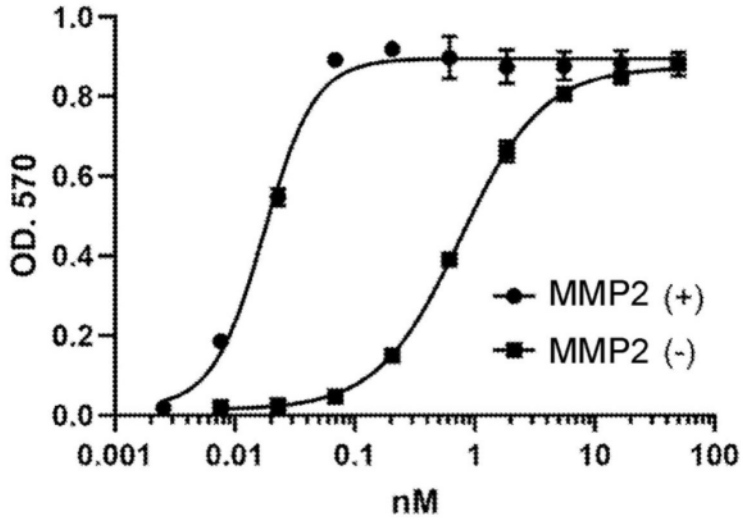


MMP2

	MMP2 (+)	MMP2(-)
EC50	0.01707	0.7609

图3N

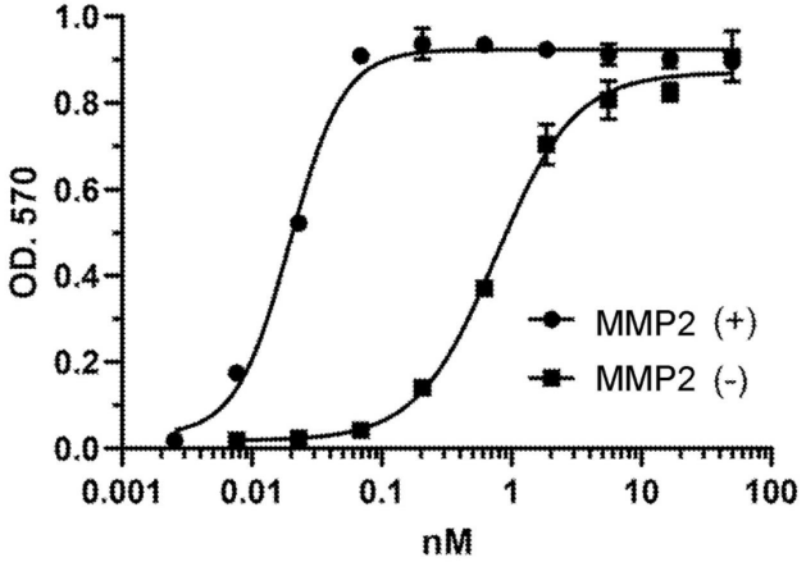
构建体P



	MMP2(+)	MMP2(-)
EC50	0.01748	0.7623

图30

构建体Q



	MMP2 (+)	MMP2 (-)
EC50	0.01952	0.7566

图3P

构建体CC +/- MMP

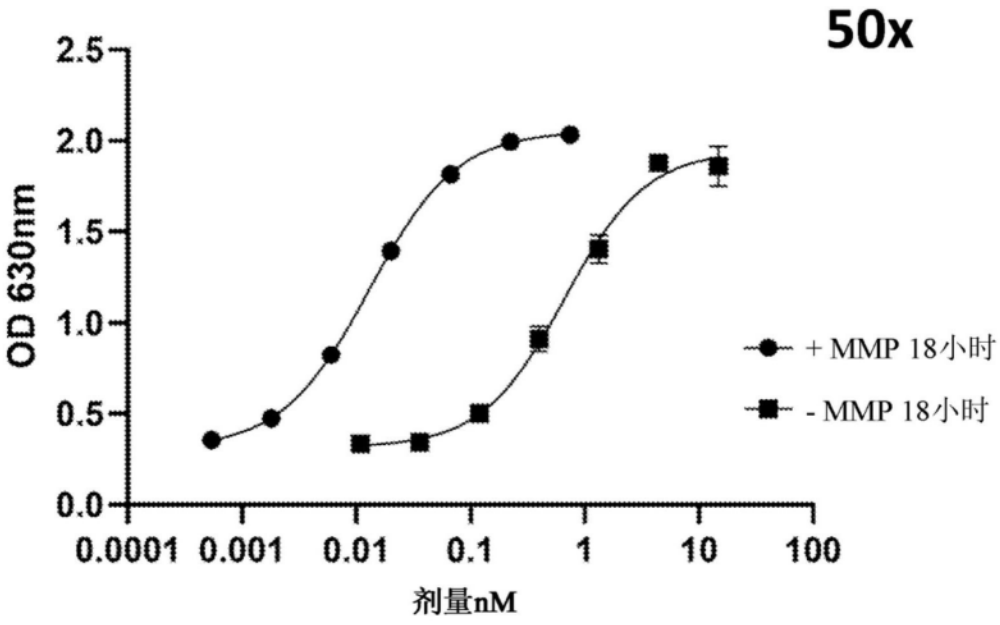


图3Q

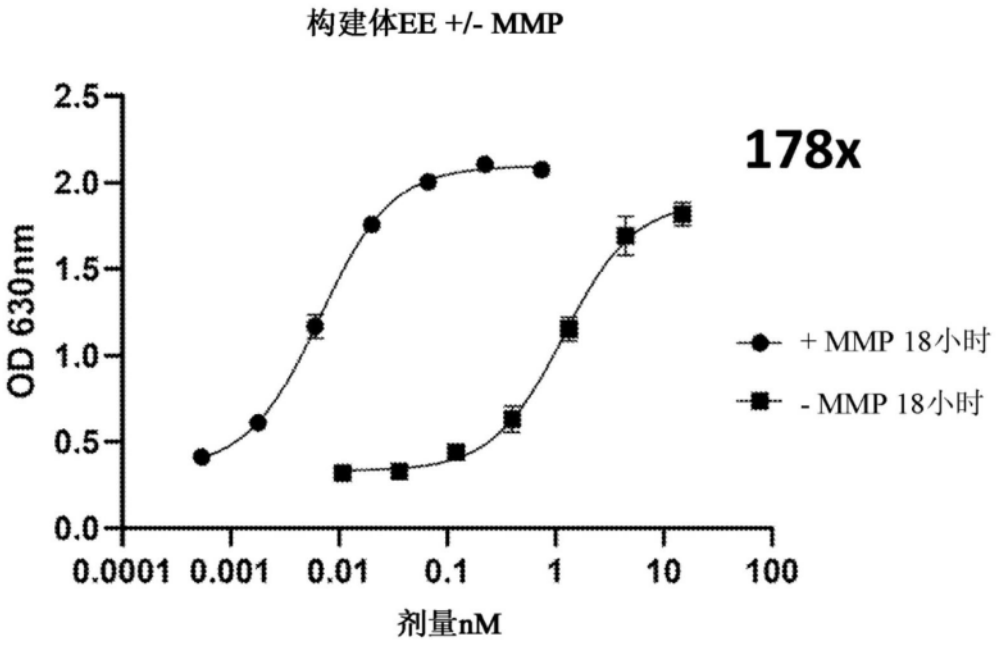

构建体EE +/- MMP
178x
OD 630nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM
+ MMP 18小时
- MMP 18小时

图3R

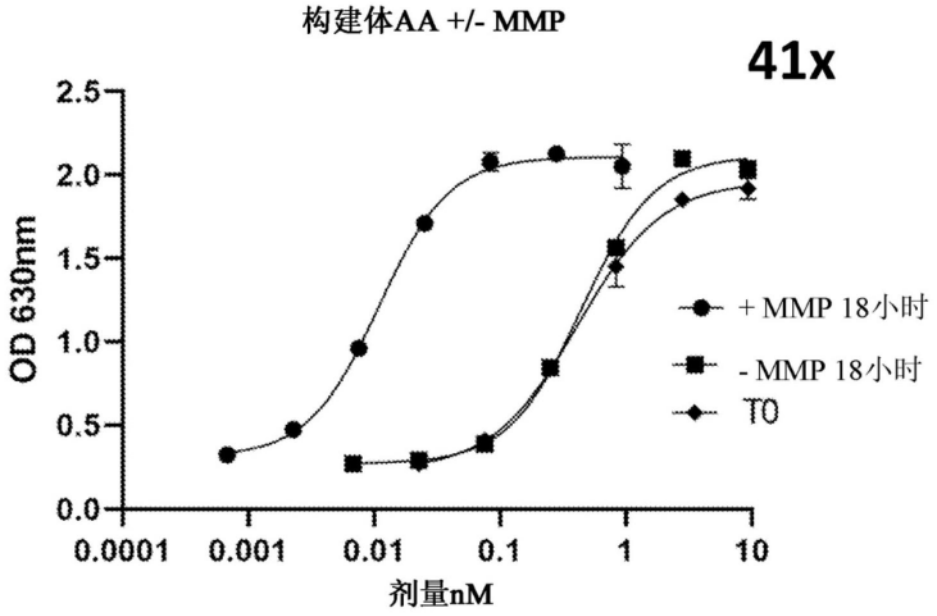

构建体AA +/- MMP
41x
OD 630nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
剂量nM
+ MMP 18小时
- MMP 18小时
T0

图3S

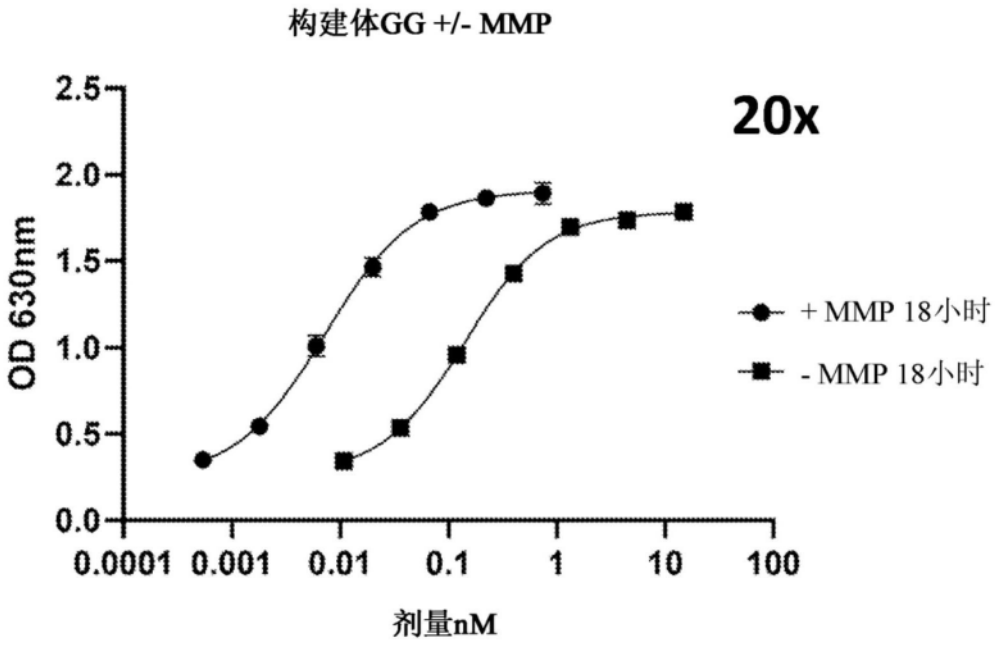

构建体GG +/- MMP
20x
OD 630nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM
+ MMP 18小时
- MMP 18小时

图3T

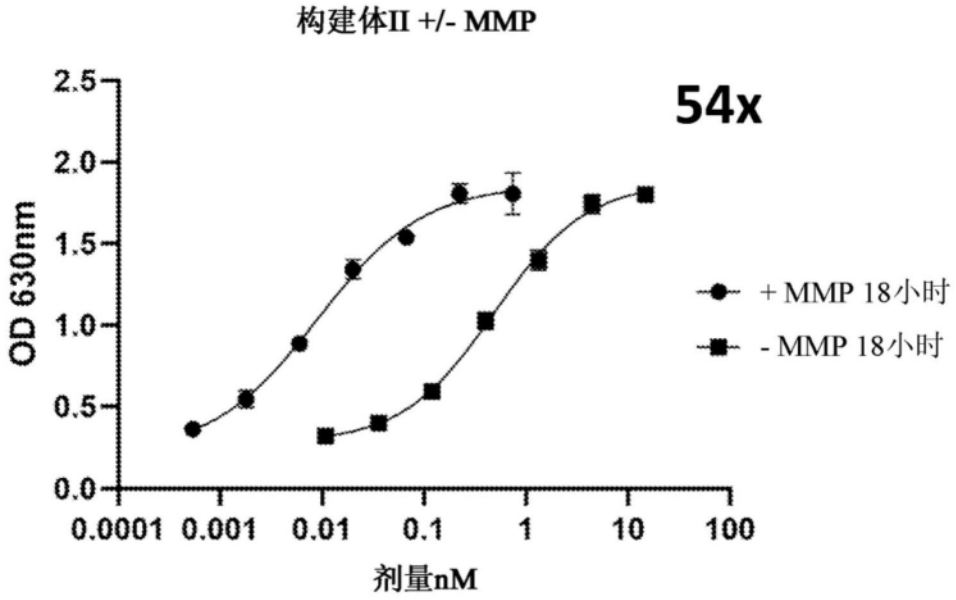

构建体II +/- MMP
54x
OD 630nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM
+ MMP 18小时
- MMP 18小时

图3U

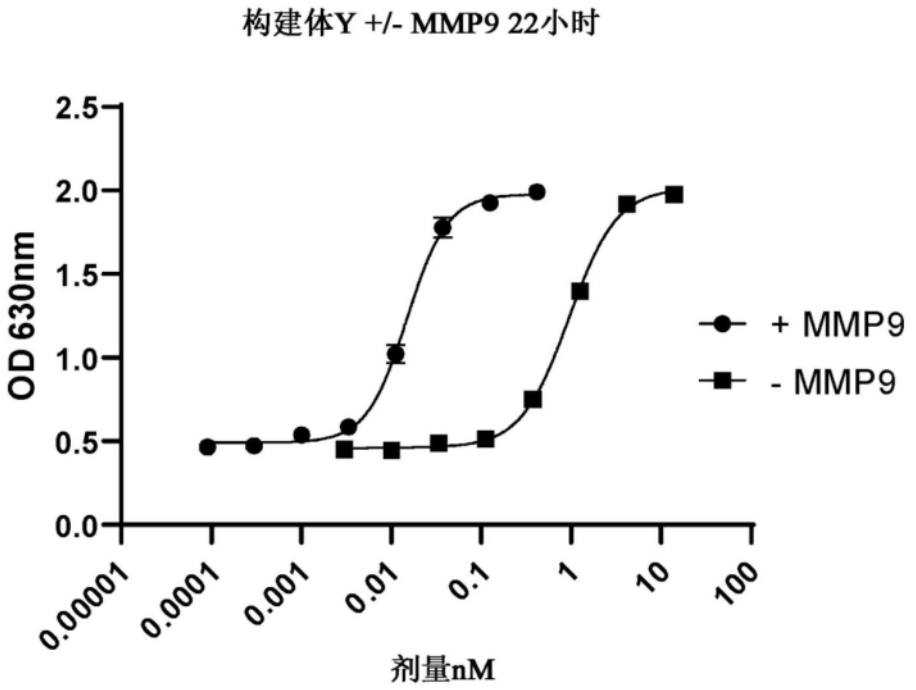

构建体Y +/- MMP9 22小时
OD 630nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
剂量nM
+ MMP9
- MMP9

图3V

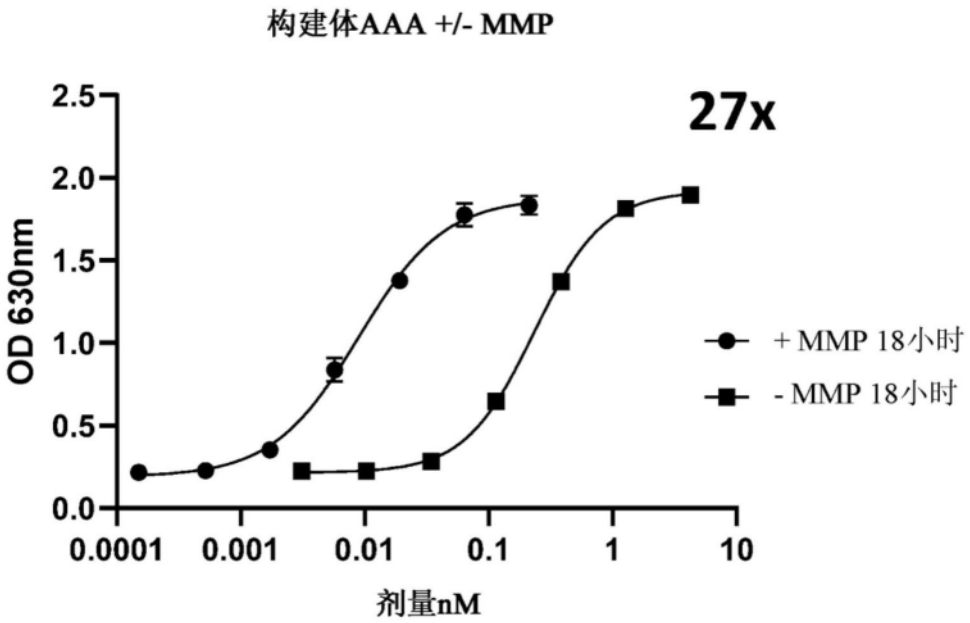

构建体AAA +/- MMP
27x
OD 630nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
剂量nM
+ MMP 18小时
- MMP 18小时

图3W

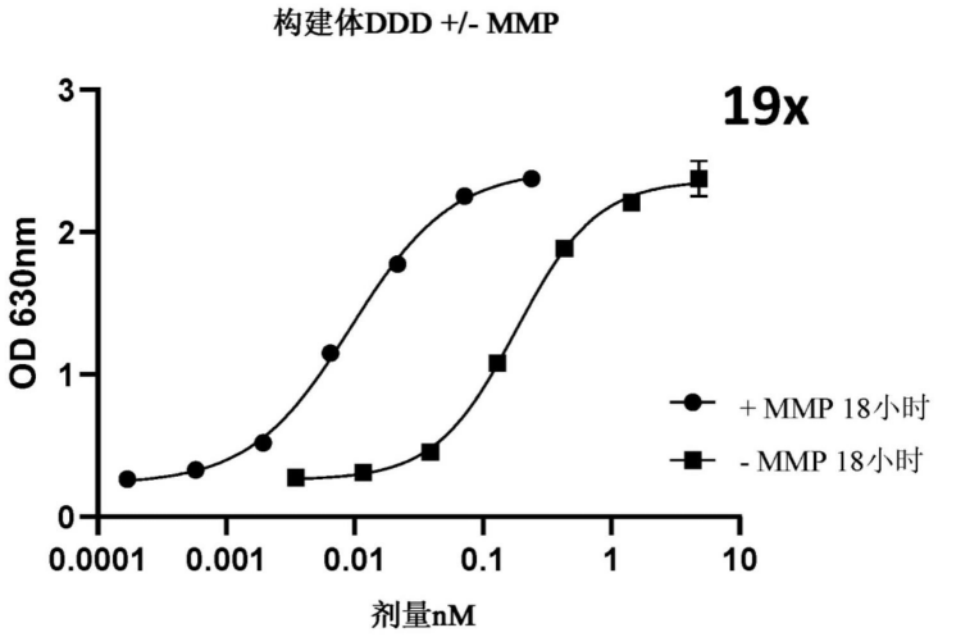

构建体DDD +/- MMP
19x
OD 630nm
3
2
1
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
剂量nM
+ MMP 18小时
- MMP 18小时

图3X

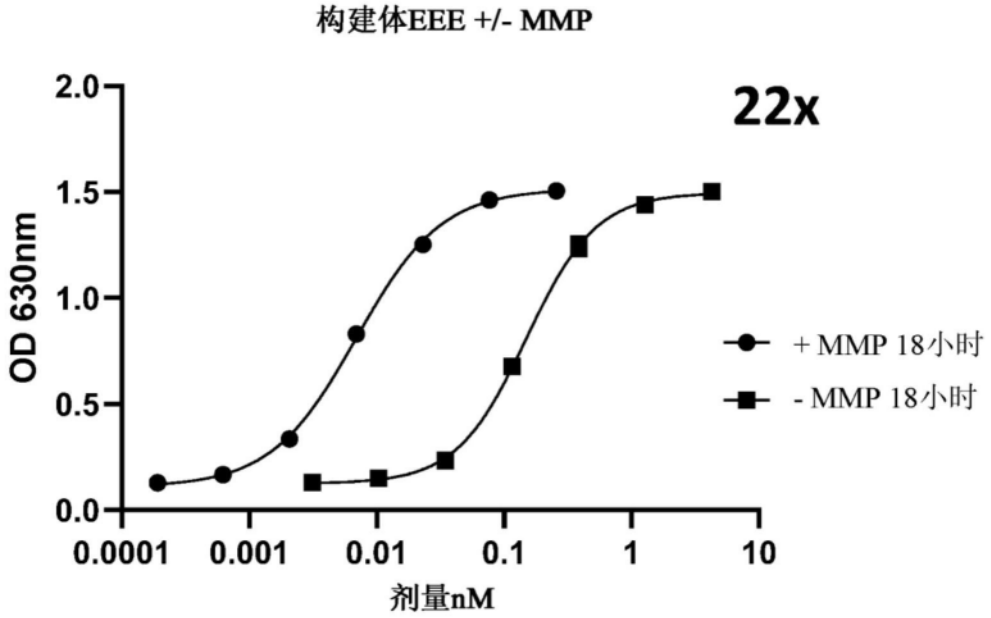

构建体EEE +/- MMP
22x
OD 630nm
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
剂量nM
+ MMP 18小时
- MMP 18小时

图3Y

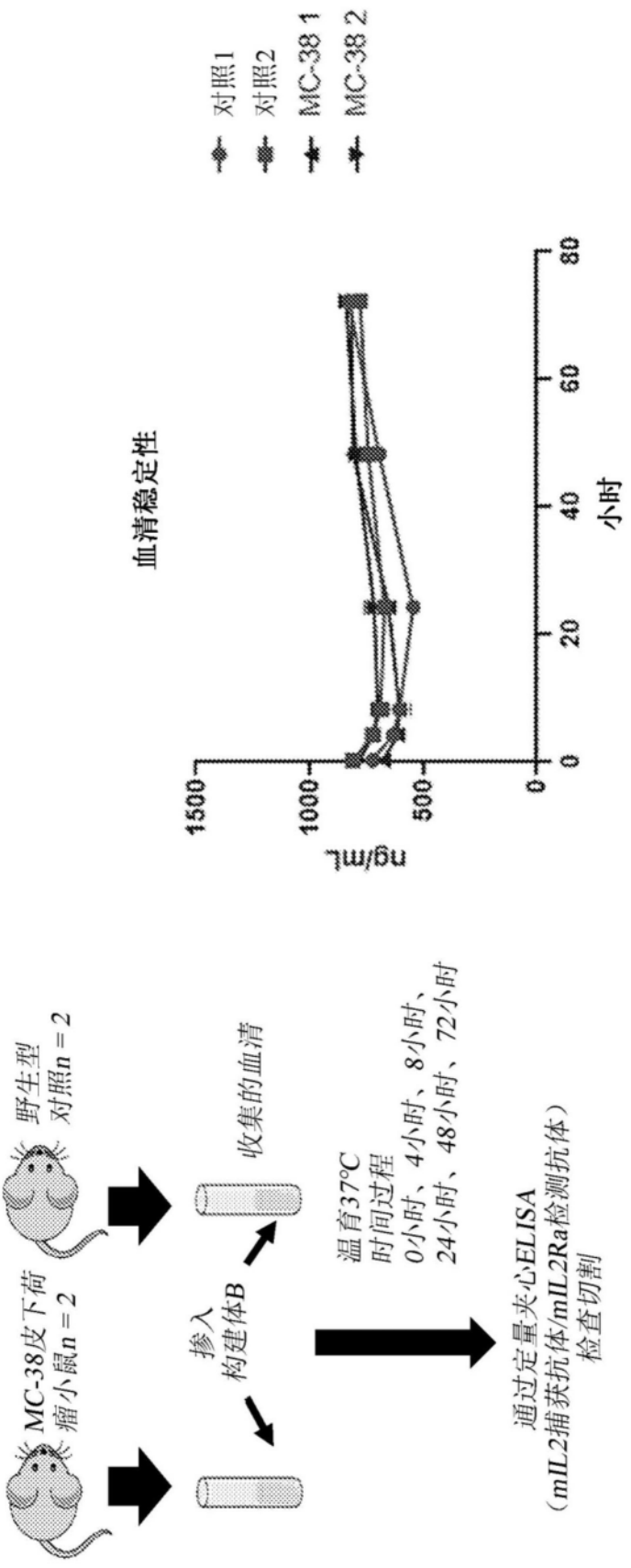
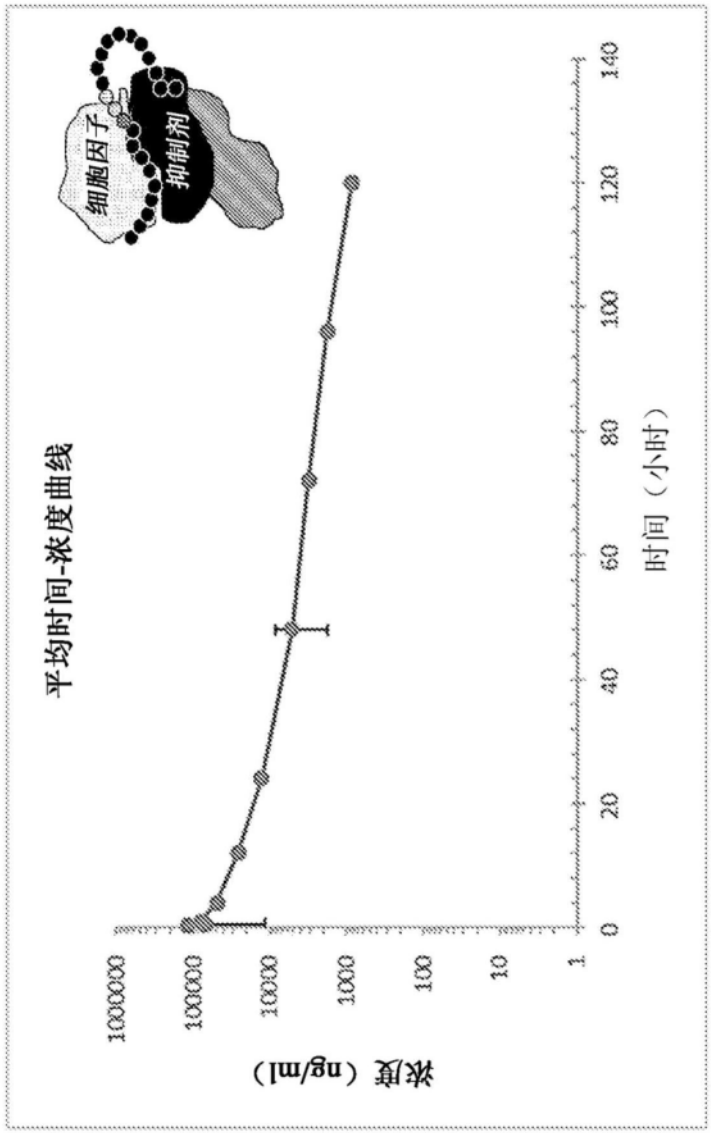

血清稳定性
对照1
对照2
MC-38 1
MC-38 2
ng/mL
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
小时
MC-38皮下荷瘤小鼠n = 2
野生型对照n = 2
掺入构建体B
收集的血清
温育37℃
时间过程
0小时、4小时、8小时、24小时、48小时、72小时
通过定量夹心ELISA
(mIL2捕获抗体/mIL2Ra检测抗体)
检查切割

图4



	平均血清PK参数
$t_{1/2}$（小时）	27.95
$T_{最大}$（小时）	0.2
AUC_{0-t}（纳克·小时/毫升）	1226407
$AUC_{0-\infty}$（纳克·小时/毫升）	1260724
Cl（毫升/分钟/千克）	0.1
Vz(L/kg)	0.21

	研究设计
品系	C57BL/6
途径/施用	静脉内，尾静脉单次团注
剂量	3.5 mg/kg（0.8 mg/kg IL2当量）
时间点（小时）	0.2, 0.5, 1, 4, 12, 24, 48, 72, 96, 120
样品分析	定量ELISA（Trutino）

图5

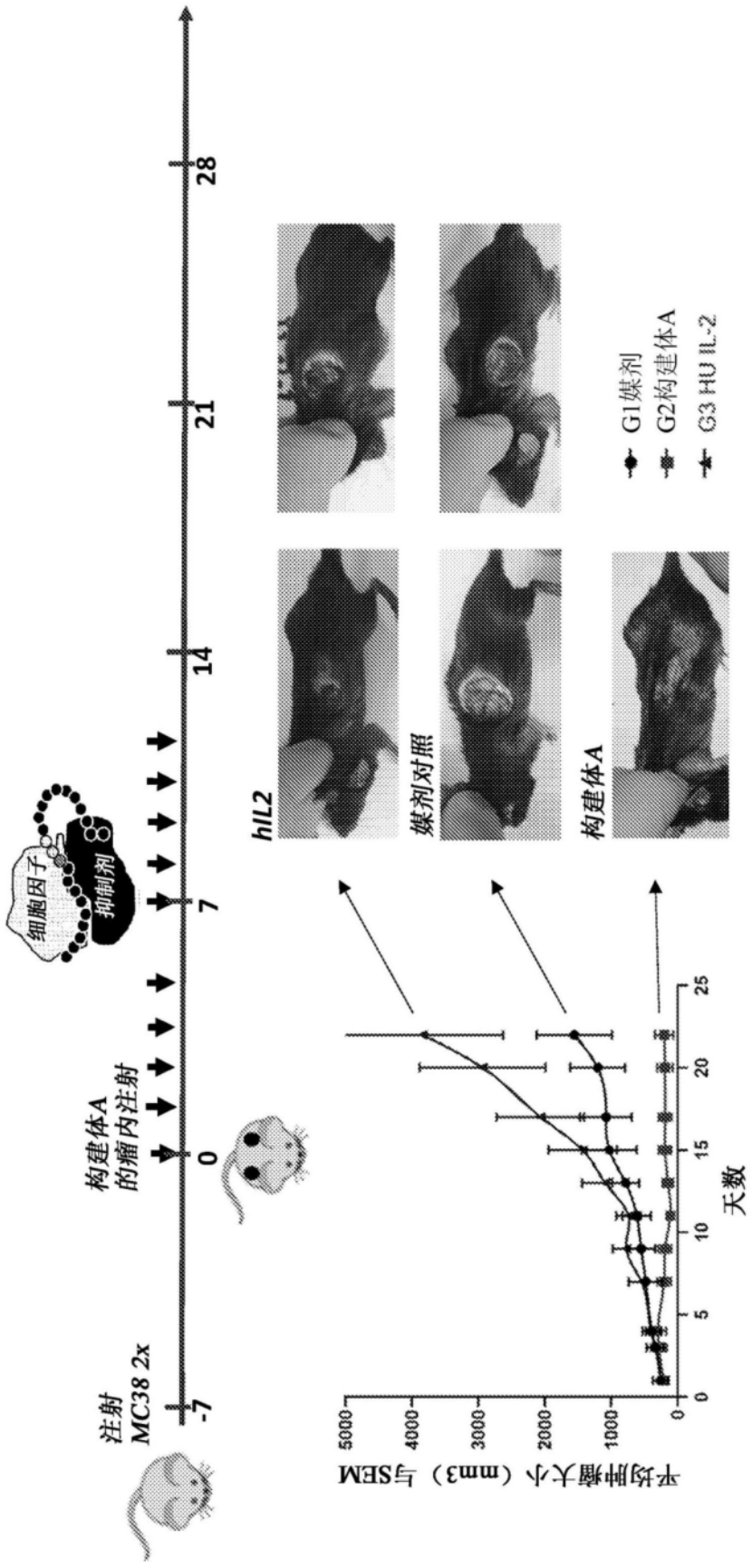

注射
MC38 2x
-7
构建体A
的瘤内注射
0
7
14
21
28
细胞因子
抑制剂
hIL2
媒剂对照
构建体A
G1媒剂
G2构建体A
G3 HU IL-2
平均肿瘤大小（mm3）与SEM
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
25
天数

图6A

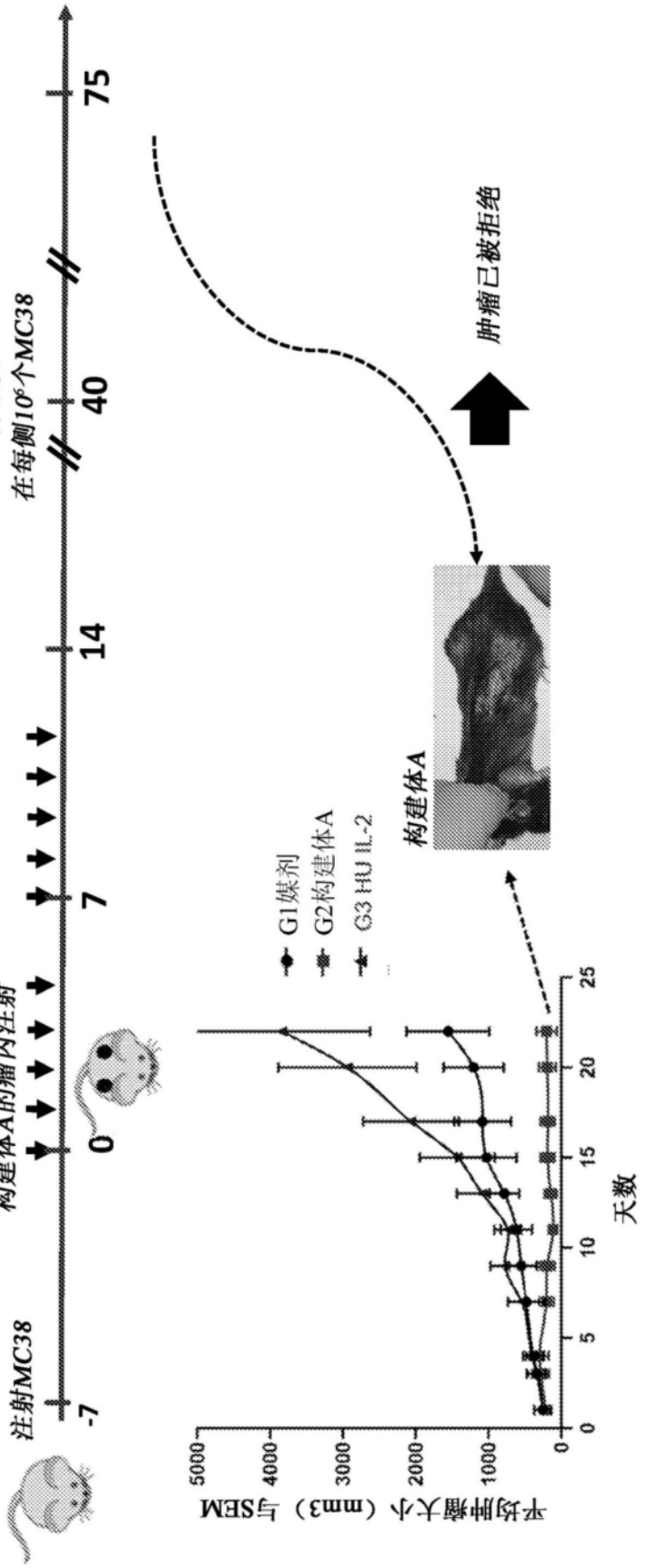

注射MC38
构建体A的瘤内注射
再激发
在每侧10⁶个MC38
-7
0
7
14
40
75
肿瘤已被拒绝
构建体A
G1媒剂
G2构建体A
G3 HU IL-2
平均肿瘤大小（mm3）与SEM
天数
0
1000
2000
3000
4000
5000
0
5
10
15
20
25

图6B

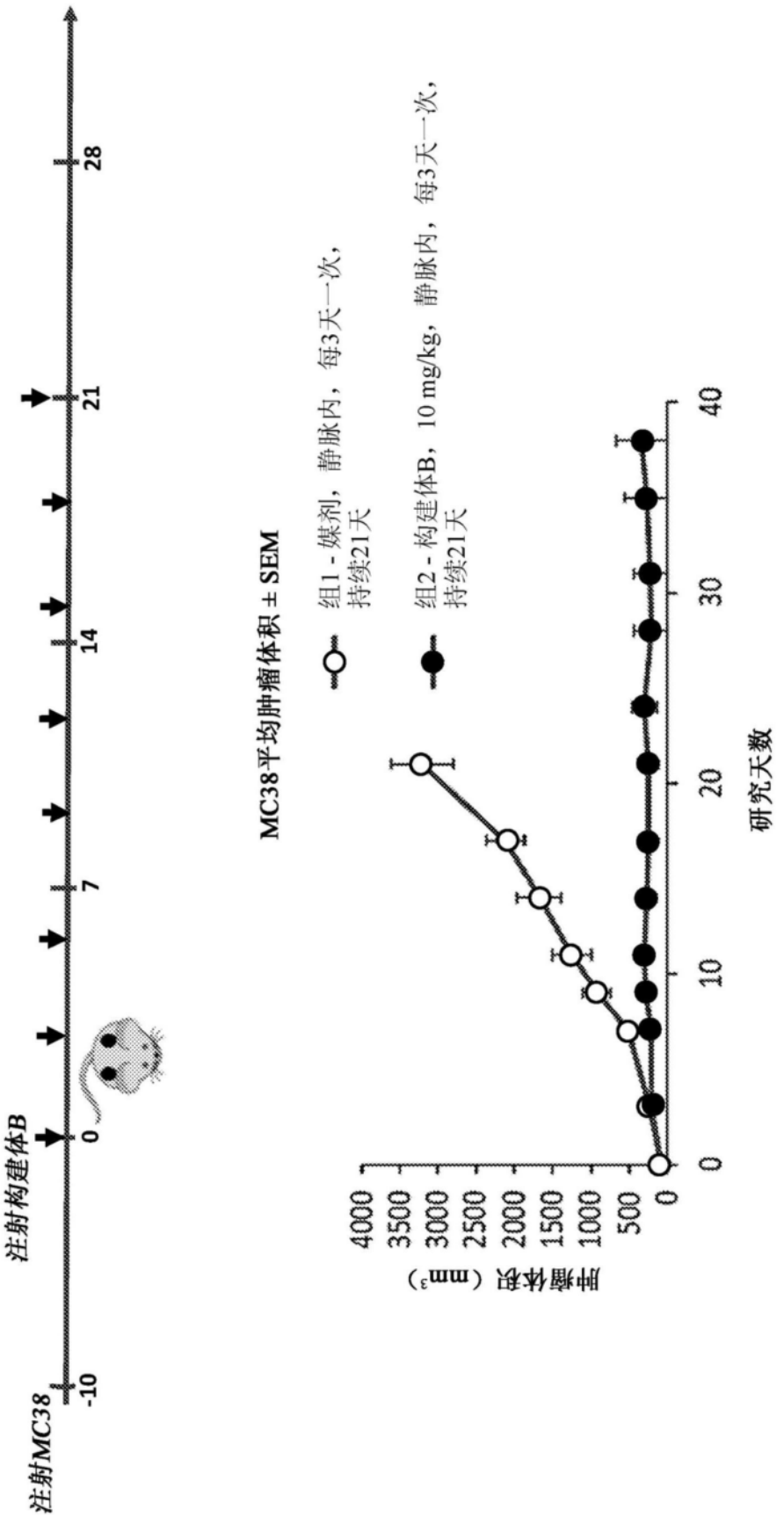

注射MC38
注射构建体B
-10
0
7
14
21
28
MC38平均肿瘤体积 ± SEM
组1 - 媒剂，静脉内，每3天一次，持续21天
组2 - 构建体B，10 mg/kg，静脉内，每3天一次，持续21天
肿瘤体积（mm³）
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
40
研究天数

图7A

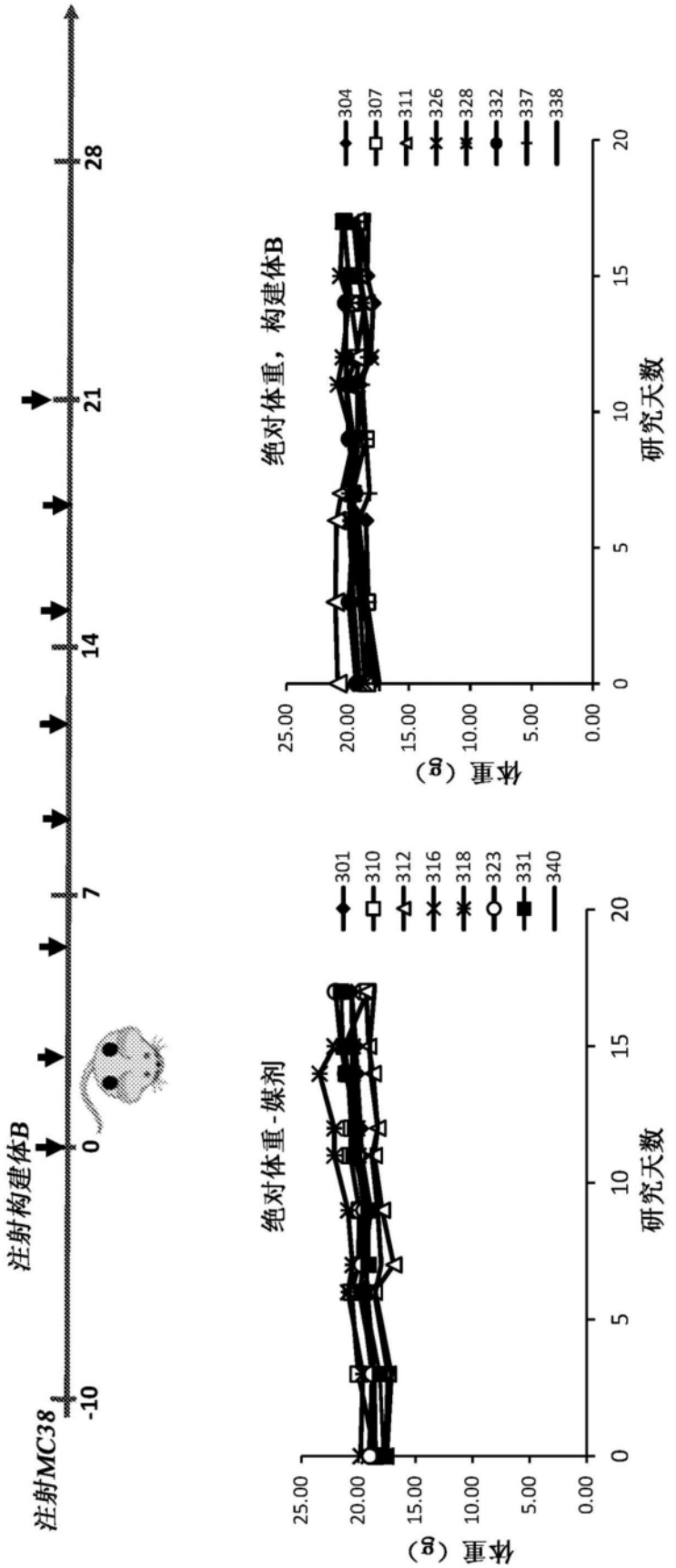

注射MC38
注射构建体B
-10
0
7
14
21
28
绝对体重-媒剂
体重（g）
研究天数
301
310
312
316
318
323
331
340
绝对体重，构建体B
304
307
311
326
328
332
337
338

图7B

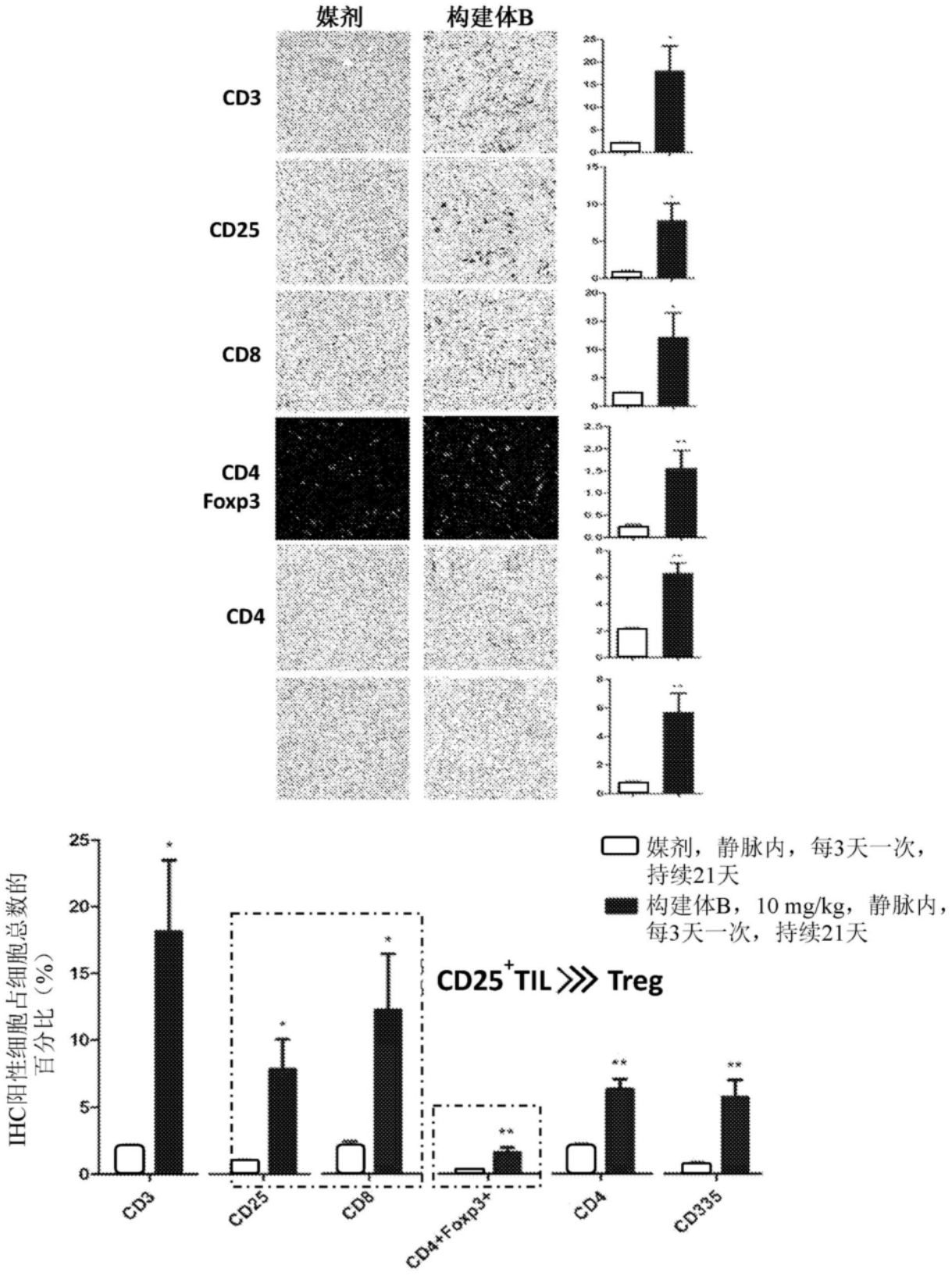

媒剂
构建体B
CD3
CD25
CD8
CD4
Foxp3
CD4
媒剂，静脉内，每3天一次，持续21天
构建体B，10 mg/kg，静脉内，每3天一次，持续21天
IHC阳性细胞占细胞总数的百分比（%）
CD25+TIL》》Treg
CD3
CD25
CD8
CD4+Foxp3+
CD4
CD335

图8

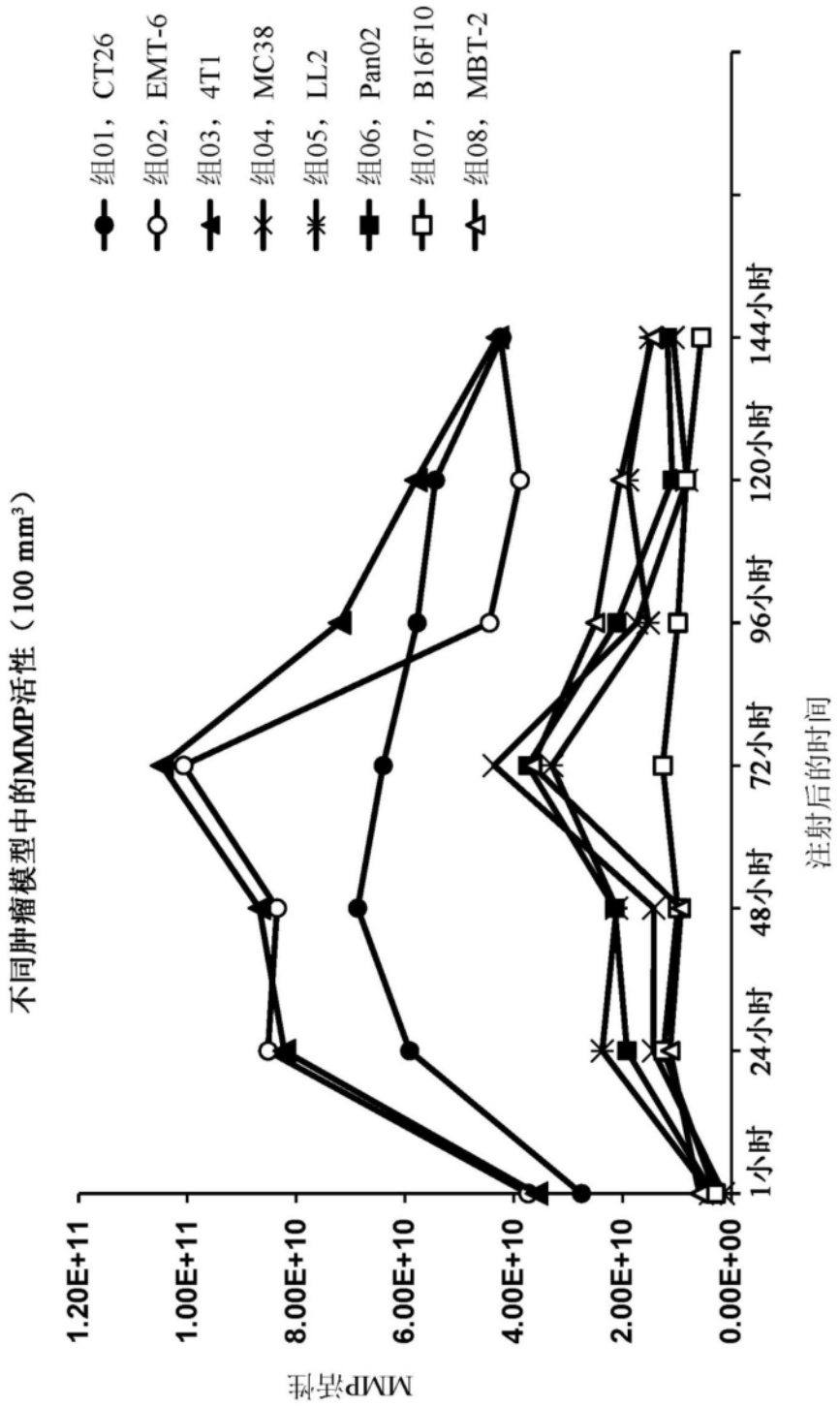

不同肿瘤模型中的MMP活性（100 mm³）
组01，CT26
组02，EMT-6
组03，4T1
组04，MC38
组05，LL2
组06，Pan02
组07，B16F10
组08，MBT-2
1.20E+11
1.00E+11
8.00E+10
6.00E+10
4.00E+10
2.00E+10
0.00E+00
MMP活性
1小时
24小时
48小时
72小时
96小时
120小时
144小时
注射后的时间

图9

媒剂（PBS），腹膜内，10 ul/g，BIW
构建体B，20 mg/kg，静脉内，5 ul/g，每3天一次

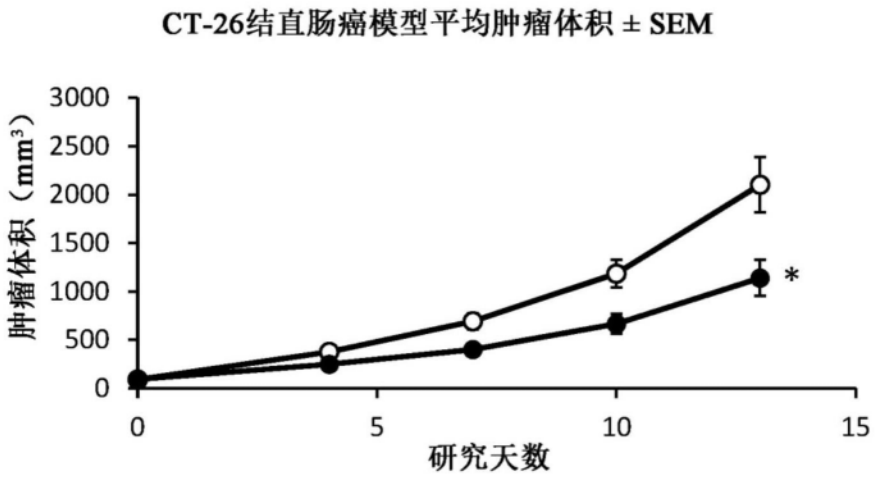


图10A

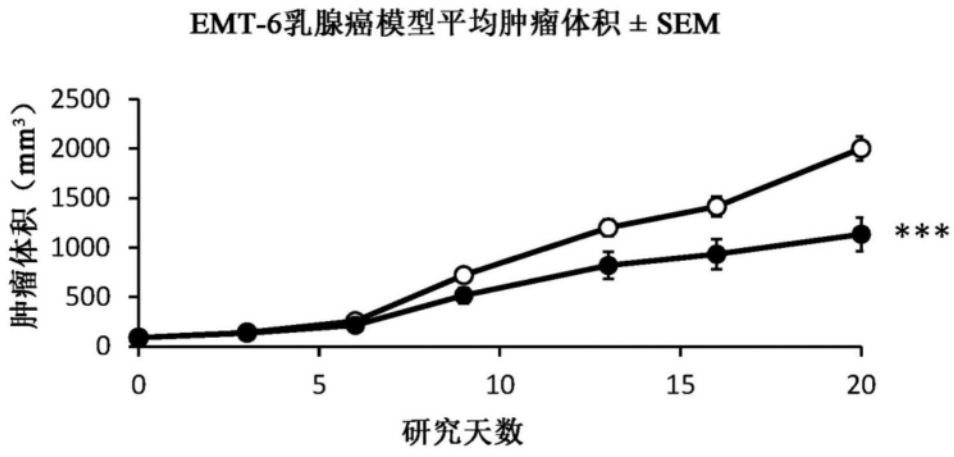


图10B

媒剂（PBS），腹膜内，10 ul/g，BIW
构建体B，20 mg/kg，静脉内，5 ul/g，每3天一次

RM-1前列腺癌模型平均肿瘤体积 ± SEM

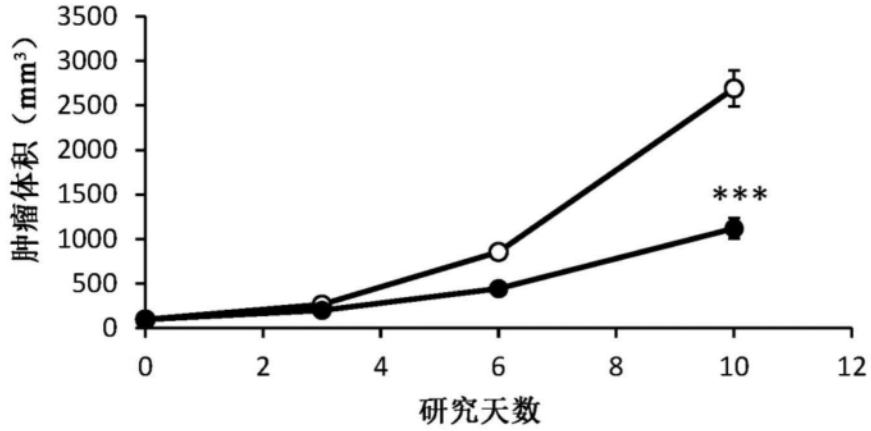


图10C

B16F10黑色素瘤模型平均肿瘤体积 ± SEM

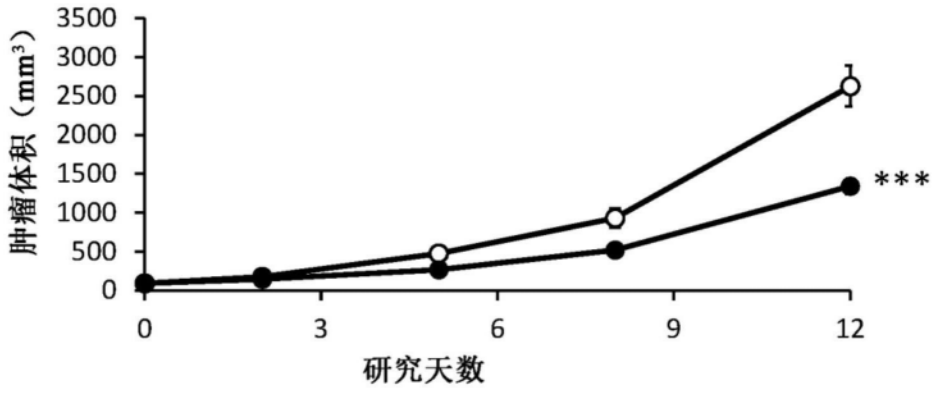


图10D

媒剂（PBS），腹膜内，10 ul/g，BIW
构建体B，20 mg/kg，静脉内，5 ul/g，每3天一次

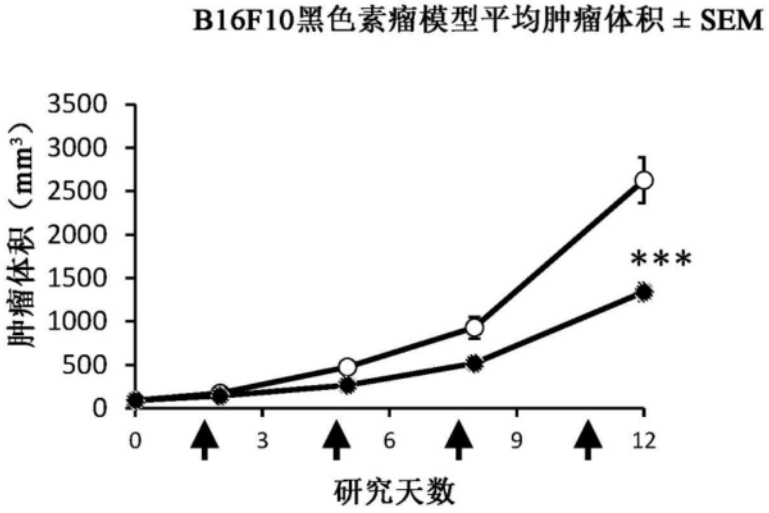


图11A

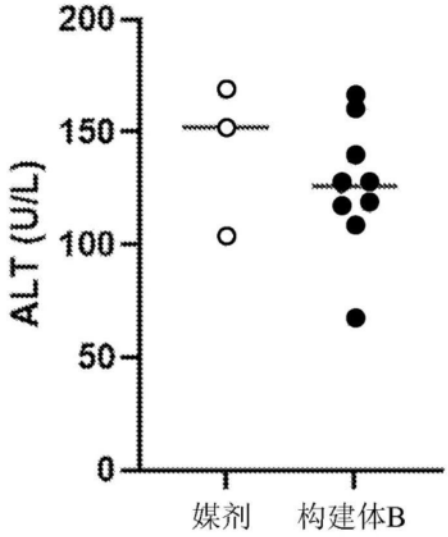


图11B

媒剂（PBS），腹膜内，10 ul/g，BIW
构建体B，20 mg/kg，静脉内，5 ul/g，每3天一次

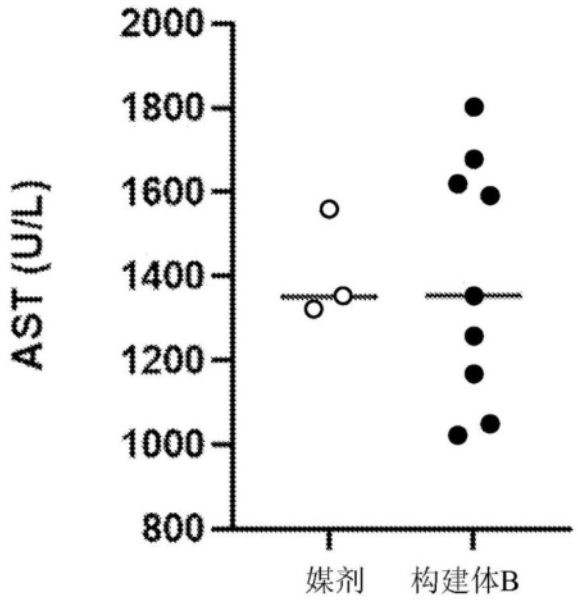


图11C

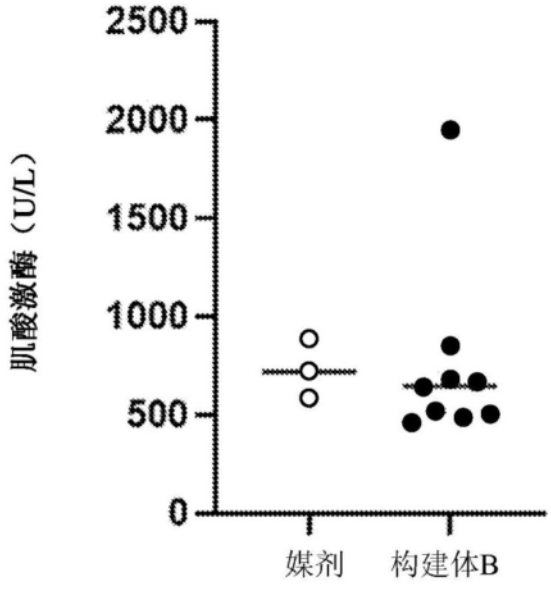


图11D

媒剂（PBS），腹膜内，10 ul/g，BIW
构建体B，20 mg/kg，静脉内，5 ul/g，每3天一次

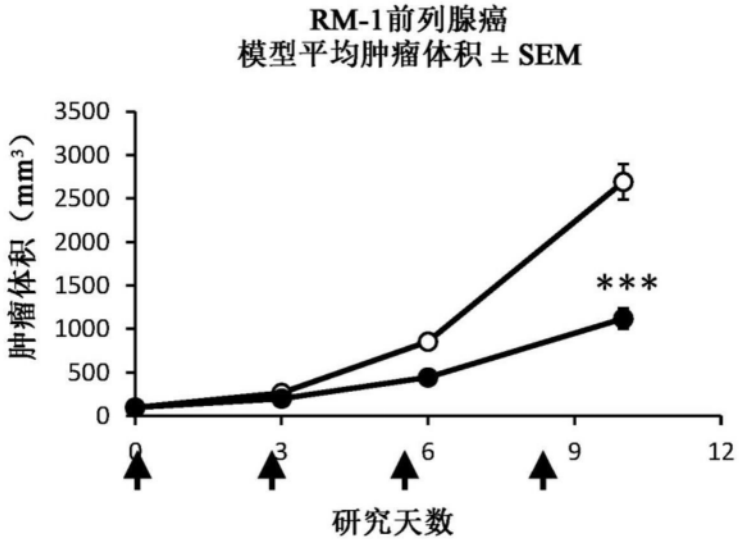


图12A

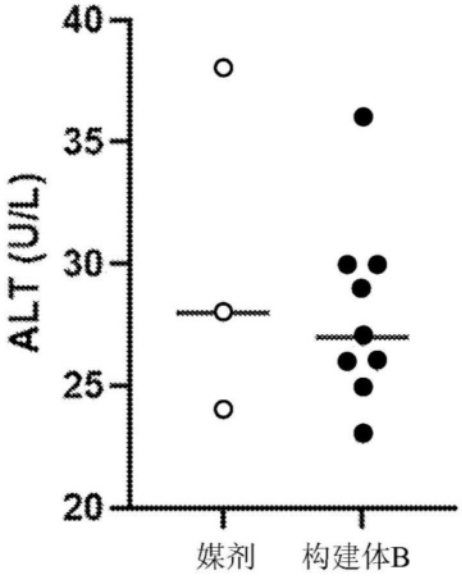


图12B

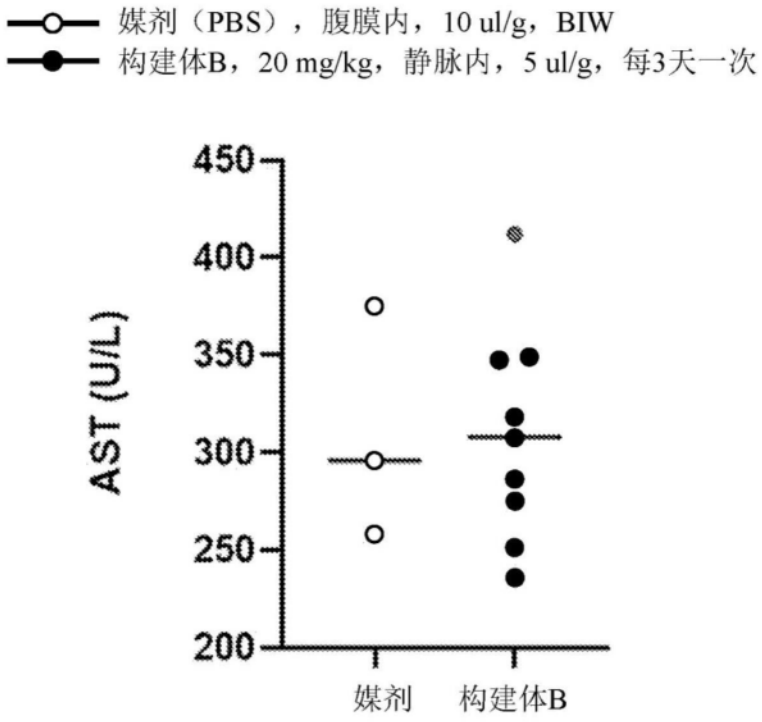

媒剂（PBS），腹膜内，10 ul/g，BIW
构建体B，20 mg/kg，静脉内，5 ul/g，每3天一次
AST (U/L)
450
400
350
300
250
200
媒剂
构建体B

图12C

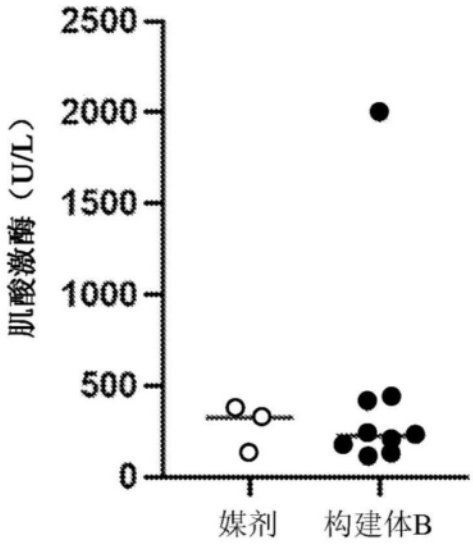

肌酸激酶（U/L）
2500
2000
1500
1000
500
0
媒剂
构建体B

图12D

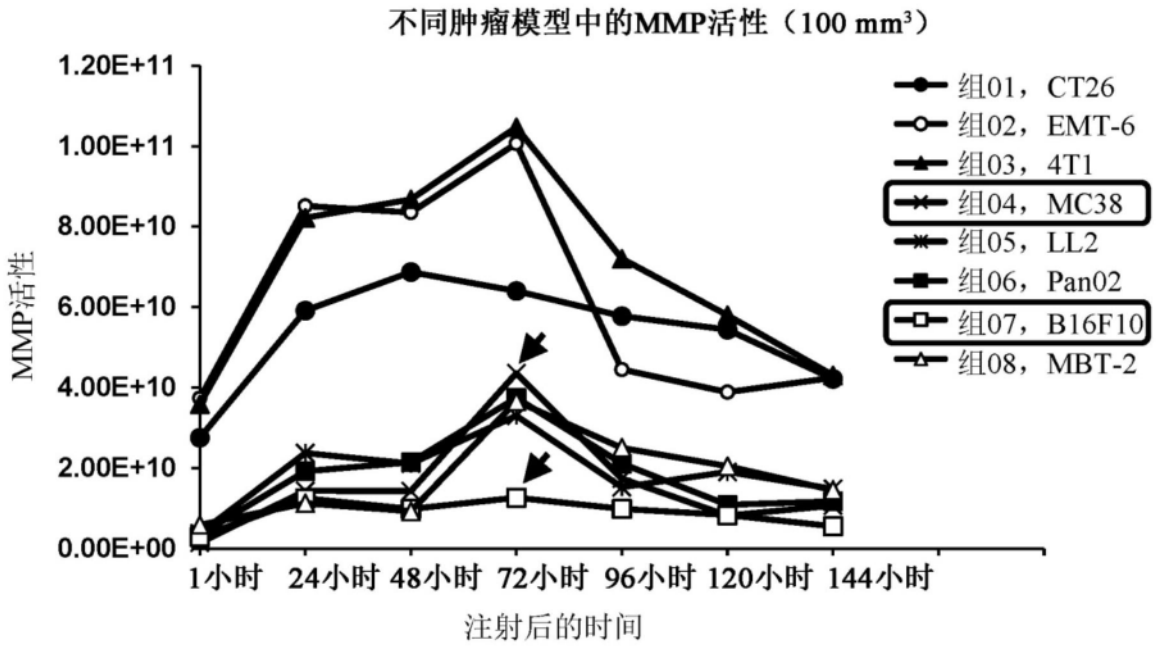

不同肿瘤模型中的MMP活性（100 mm³）
MMP活性
1.20E+11
1.00E+11
8.00E+10
6.00E+10
4.00E+10
2.00E+10
0.00E+00
1小时
24小时
48小时
72小时
96小时
120小时
144小时
注射后的时间
组01，CT26
组02，EMT-6
组03，4T1
组04，MC38
组05，LL2
组06，Pan02
组07，B16F10
组08，MBT-2

图13A

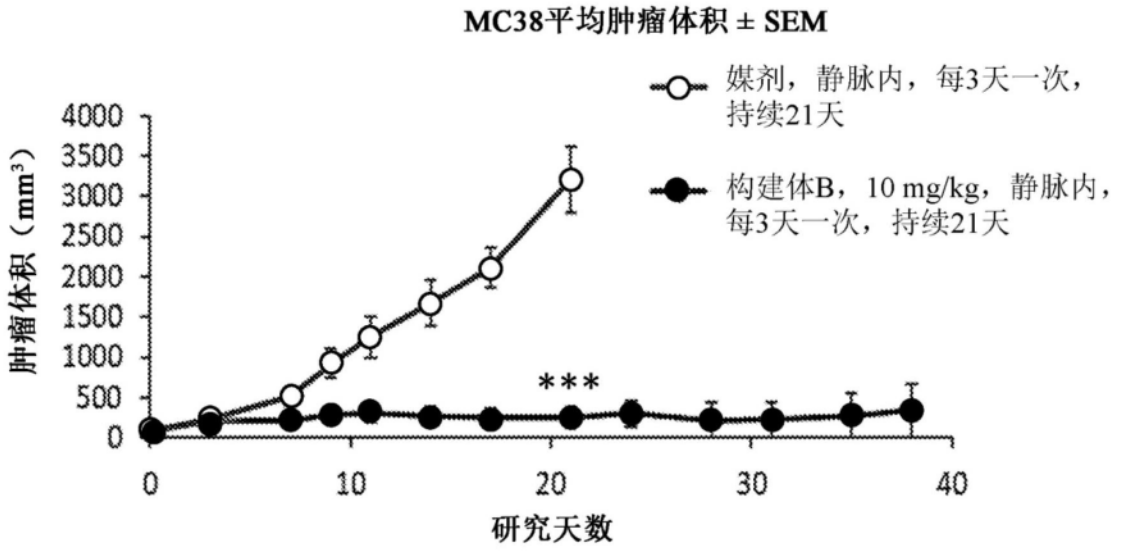

MC38平均肿瘤体积 ± SEM
媒剂，静脉内，每3天一次，持续21天
构建体B，10 mg/kg，静脉内，每3天一次，持续21天
肿瘤体积（mm³）
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
***
0
10
20
30
40
研究天数

图13B

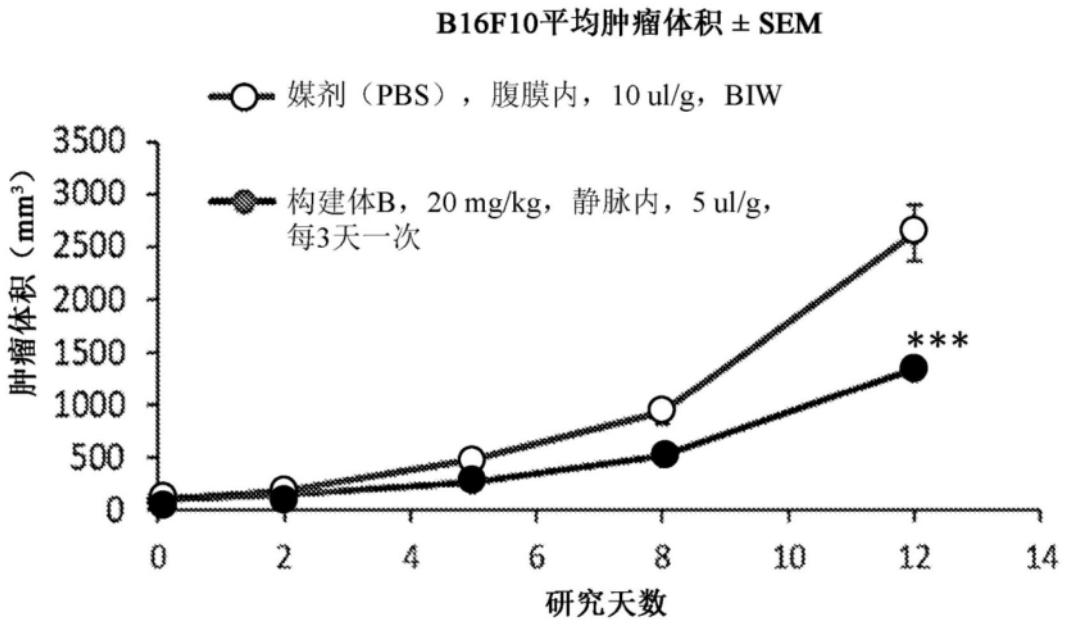

B16F10平均肿瘤体积 ± SEM
媒剂（PBS），腹膜内，10 ul/g，BIW
构建体B，20 mg/kg，静脉内，5 ul/g，
每3天一次
肿瘤体积（mm³）
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
***
0
2
4
6
8
10
12
14
研究天数

图13C

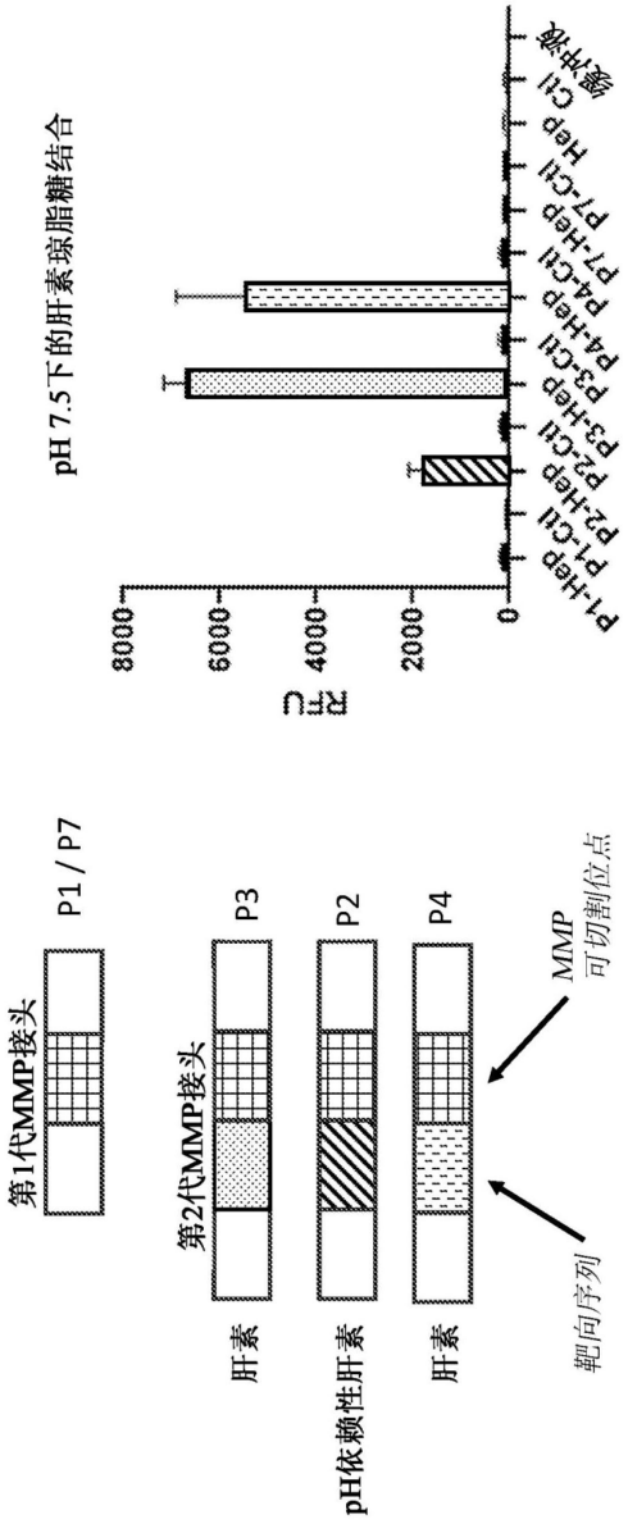

pH 7.5下的肝素琼脂糖结合
RFU
8000
6000
4000
2000
0
P1-Hep
P1-Cii
P2-Hep
P2-Cii
P3-Hep
P3-Cii
P4-Hep
P4-Cii
P7-Hep
P7-Cii
缓冲液
第1代MMP接头
P1 / P7
第2代MMP接头
P3
P2
P4
肝素
pH依赖性肝素
肝素
MMP
可切割位点
靶向序列

图14A

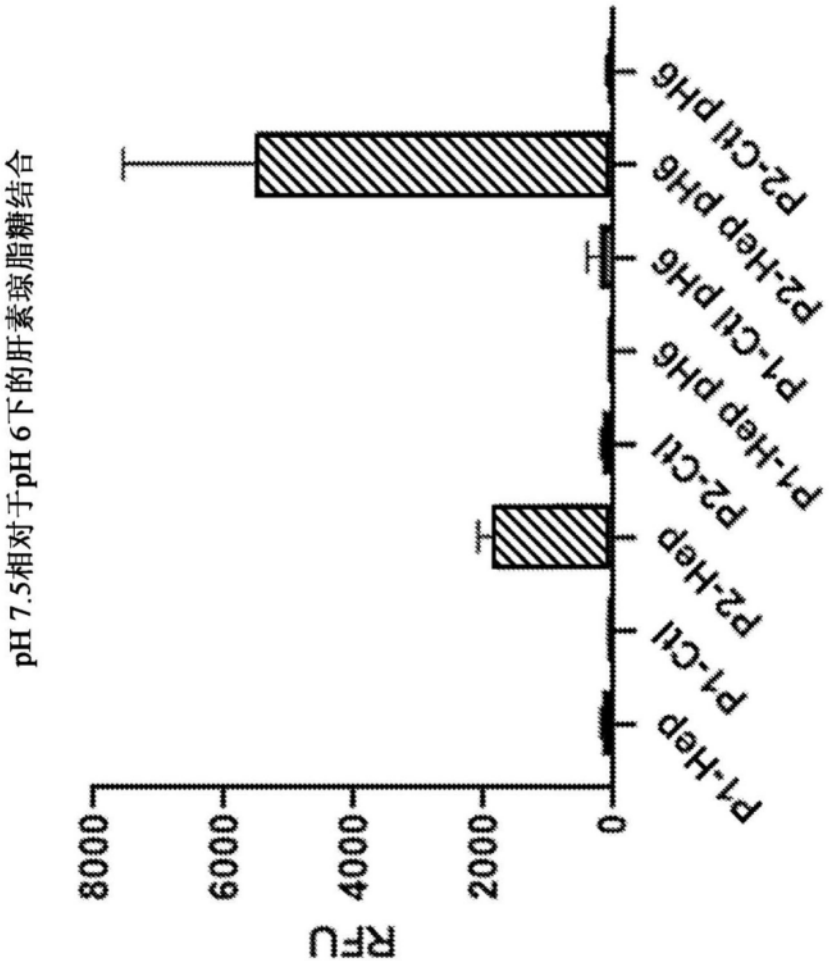

pH 7.5相对于pH 6下的肝素琼脂糖结合
RFU
8000
6000
4000
2000
0
P1-Hep
P1-Cll
P2-Hep
P2-Cll
P1-Hep pH6
P1-Cll pH6
P2-Hep pH6
P2-Cll pH6

图14B

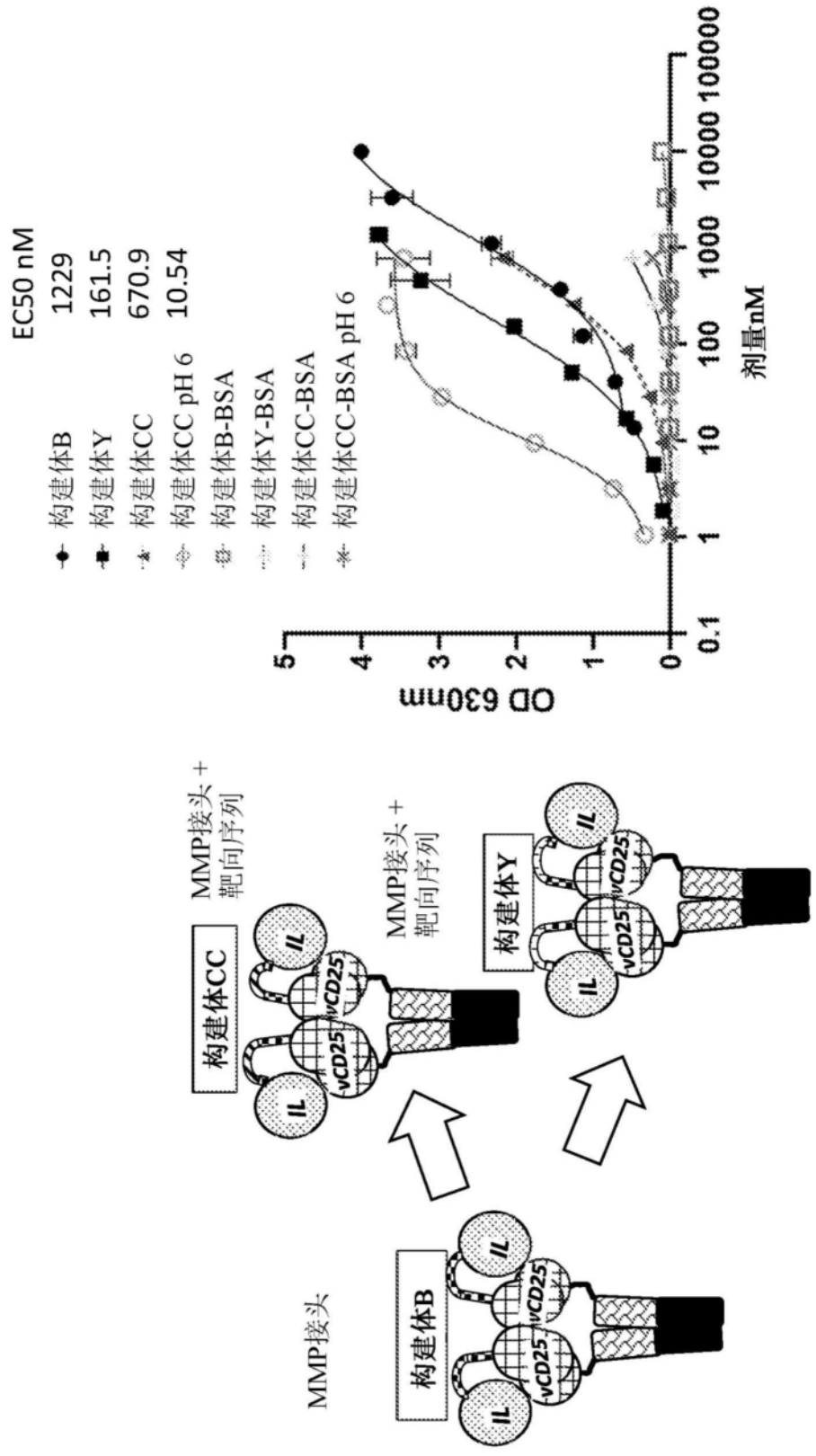
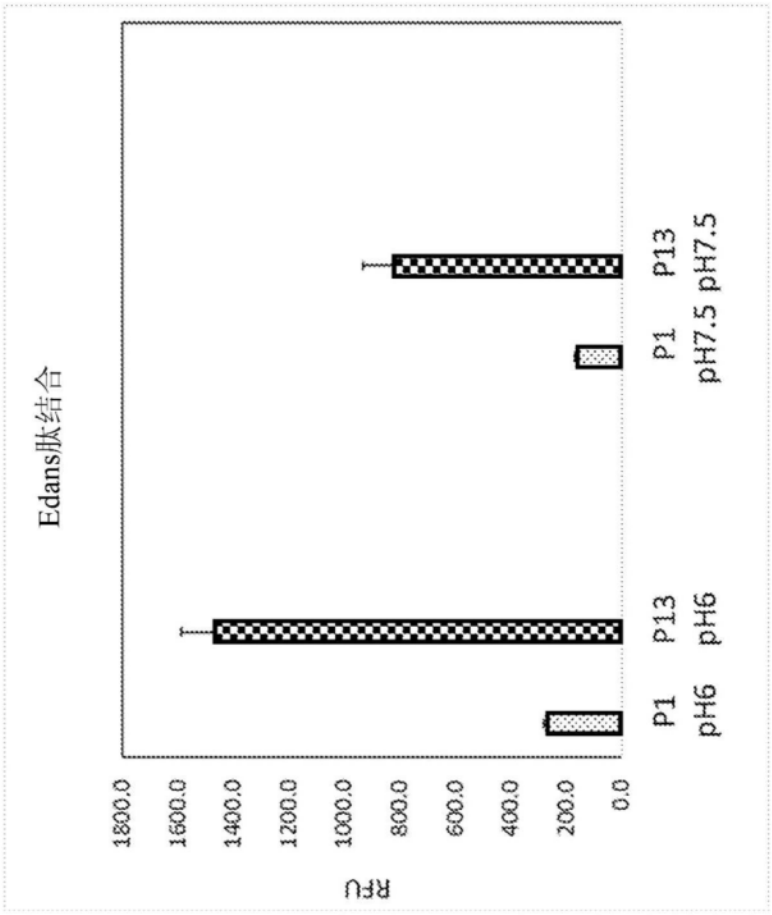

EC50 nM
构建体B 1229
构建体Y 161.5
构建体CC 670.9
构建体CC pH 6 10.54
构建体B-BSA
构建体Y-BSA
构建体CC-BSA
构建体CC-BSA pH 6
OD 630nm
剂量nM
MMP接头
构建体B
MMP接头 + 靶向序列
构建体CC
MMP接头 + 靶向序列
构建体Y
IL
vCD25

图14C


Edans肽结合
RFU
1800.0
1600.0
1400.0
1200.0
1000.0
800.0
600.0
400.0
200.0
0.0
P1 pH6
P13 pH6
P1 pH7.5
P13 pH7.5

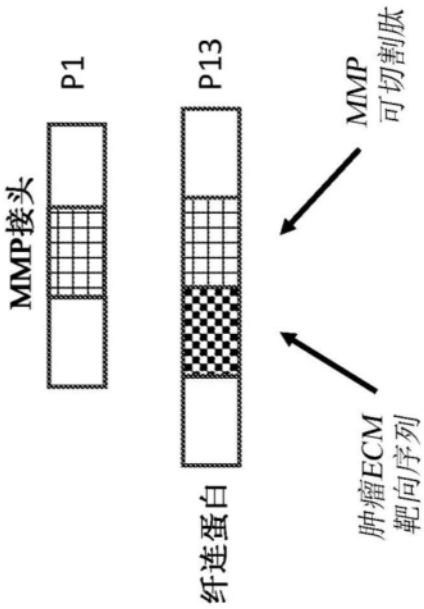

MMP接头
P1
P13
纤连蛋白
MMP
可切割肽
肿瘤ECM
靶向序列

图14D

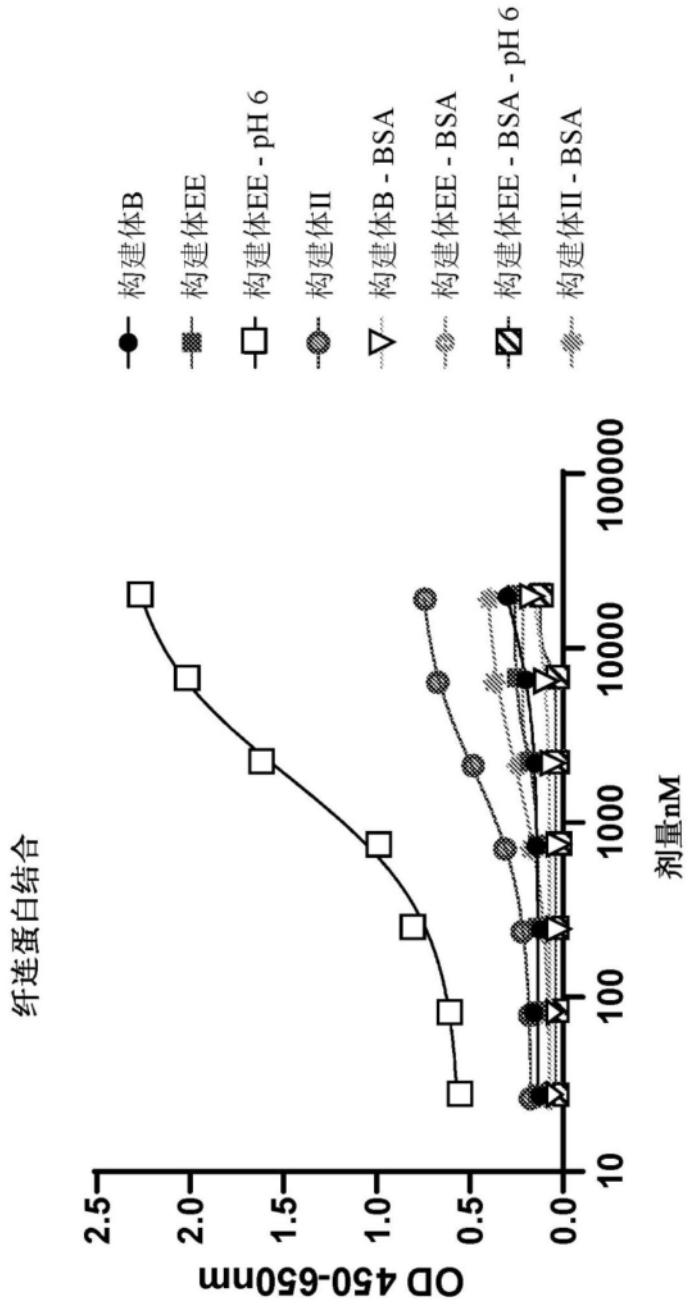
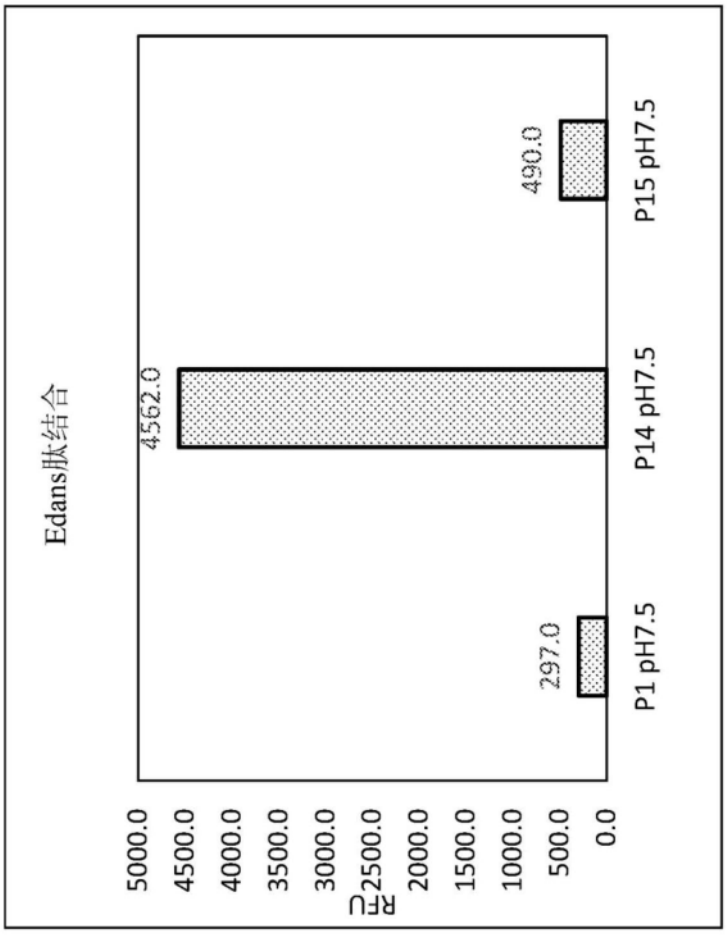

构建体B
构建体EE
构建体EE - pH 6
构建体II
构建体B - BSA
构建体EE - BSA
构建体EE - BSA - pH 6
构建体II - BSA
纤连蛋白结合
OD 450-650nm
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10
100
1000
10000
100000
剂量nM

图14E


Edans肽结合
RFU
5000.0
4500.0
4000.0
3500.0
3000.0
2500.0
2000.0
1500.0
1000.0
500.0
0.0
297.0
4562.0
490.0
P1 pH7.5
P14 pH7.5
P15 pH7.5

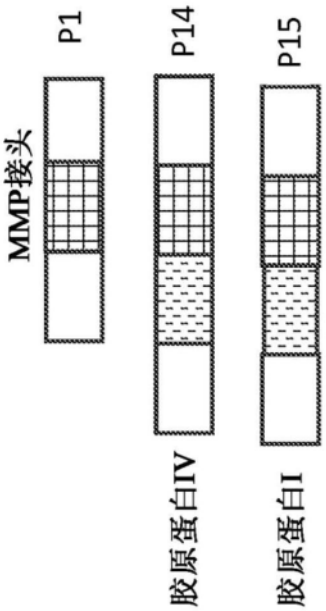

MMP接头
P1
P14
P15
胶原蛋白IV
胶原蛋白I

图14F

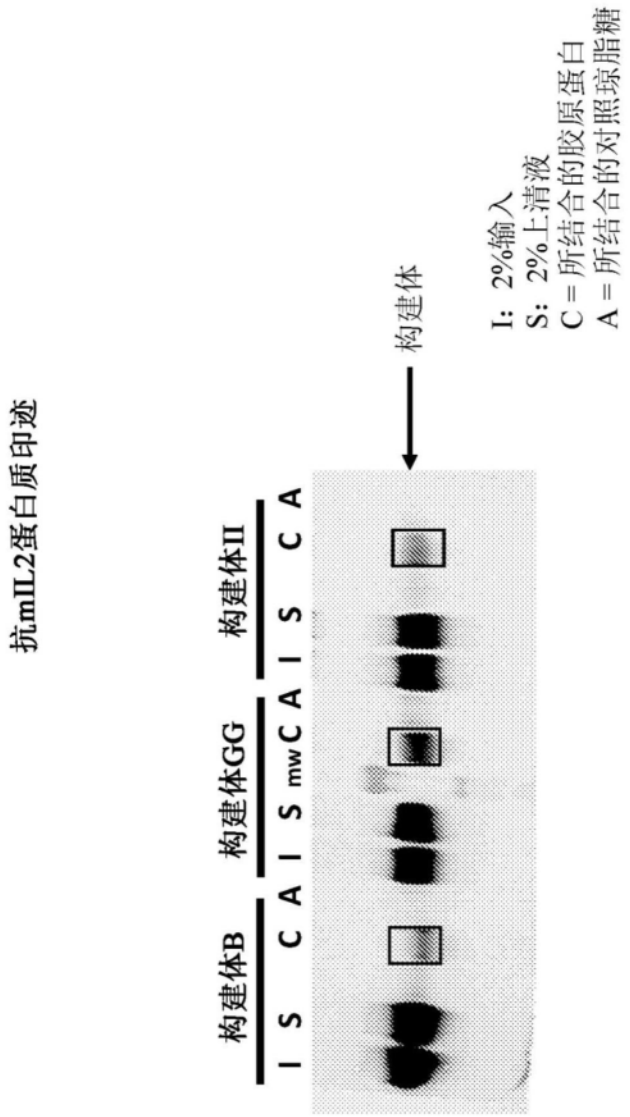

抗mIL2蛋白质印迹
构建体B
构建体GG
构建体II
I S C A I S mw C A I S C A
构建体
I：2%输入
S：2%上清液
C＝所结合的胶原蛋白
A＝所结合的对照琼脂糖

图14G

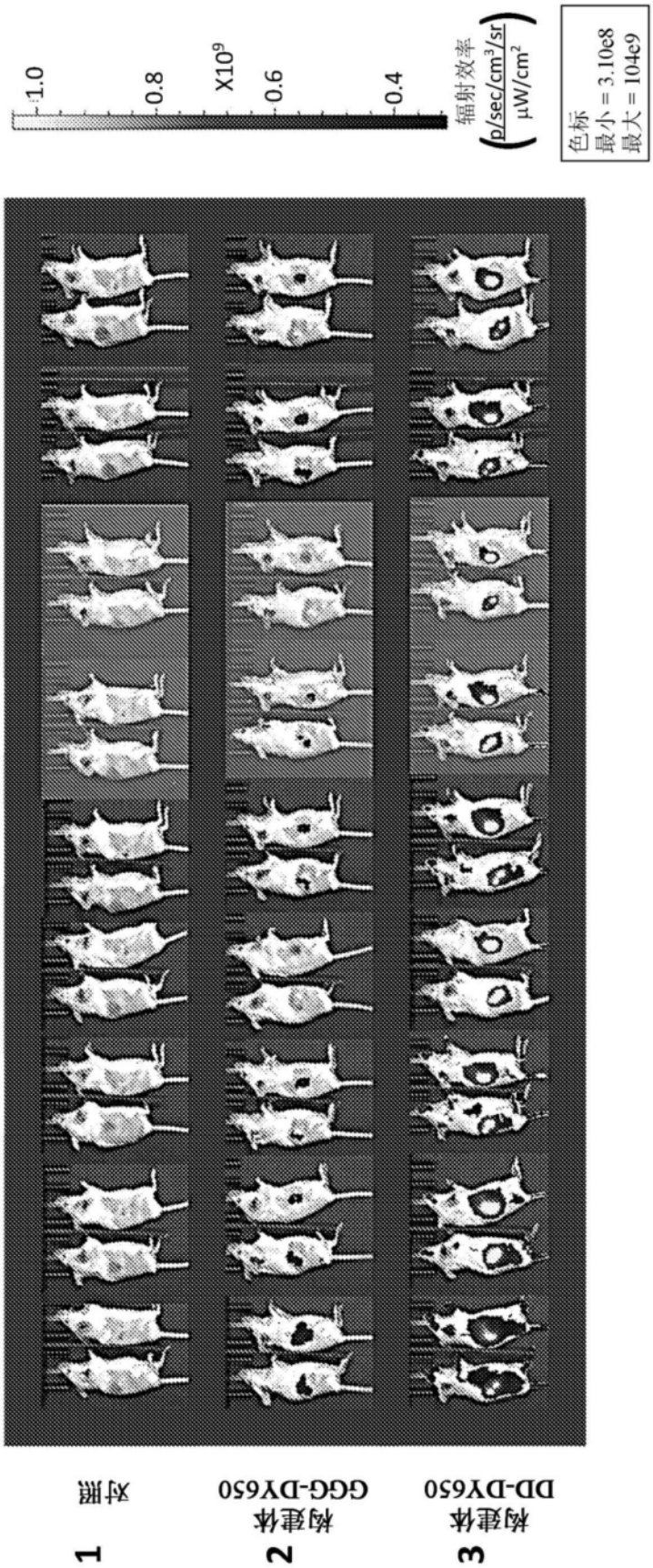

1.0
0.8
X10⁹
0.6
0.4
辐射效率
(p/sec/cm³/sr / μW/cm²)
色标
最小 = 3.10e8
最大 = 104e9
6小时
12小时
24小时
36小时
48小时
60小时
72小时
84小时
96小时
1
对照
2
构建体
GGG-DY650
3
构建体
DD-DY650

图15A

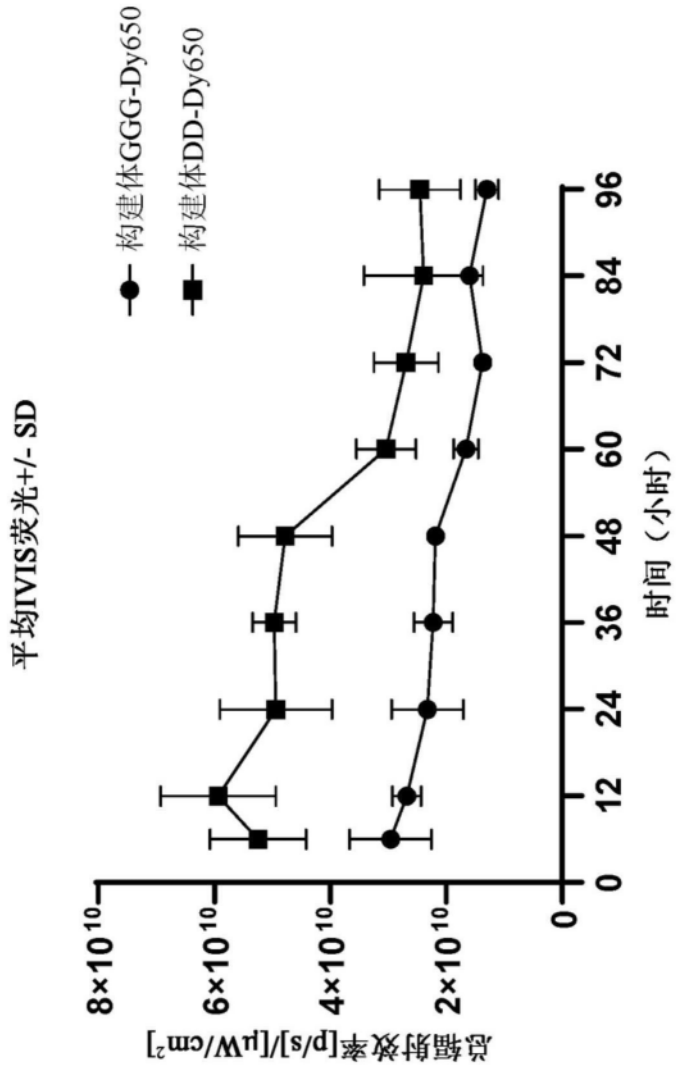

构建体GGG-Dy650
构建体DD-Dy650
平均IVIS荧光+/- SD
总辐射效率[p/s]/[μW/cm²]
8×10¹⁰
6×10¹⁰
4×10¹⁰
2×10¹⁰
0
0
12
24
36
48
60
72
84
96
时间（小时）

图15B

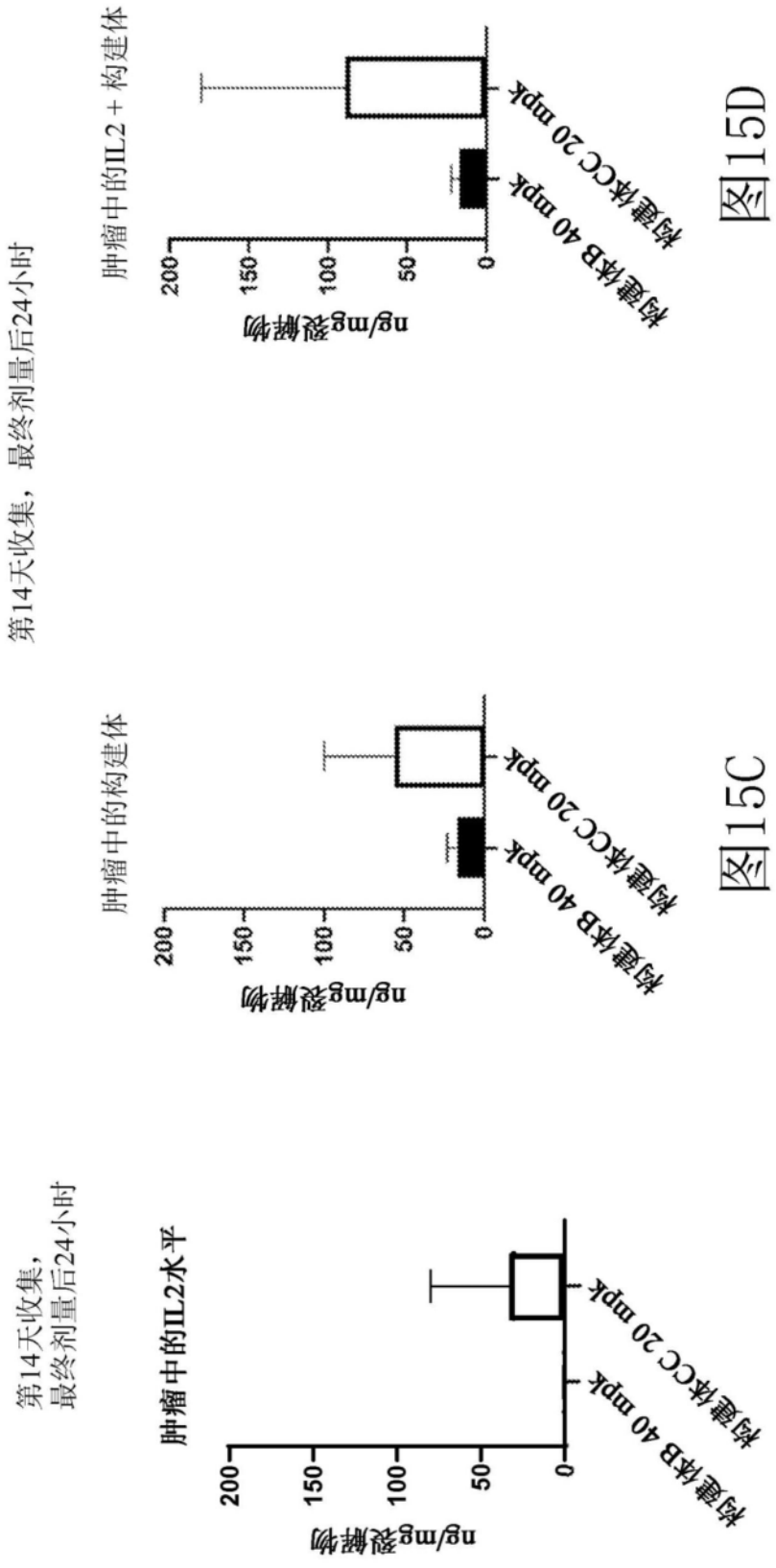

第14天收集，最终剂量后24小时
肿瘤中的IL2 + 构建体
ng/mg裂解物
200
150
100
50
0
构建体B 40 mpk
构建体CC 20 mpk
图15D
肿瘤中的构建体
ng/mg裂解物
200
150
100
50
0
构建体B 40 mpk
构建体CC 20 mpk
图15C
第14天收集，
最终剂量后24小时
肿瘤中的IL2水平
ng/mg裂解物
200
150
100
50
0
构建体B 40 mpk
构建体CC 20 mpk

图15E

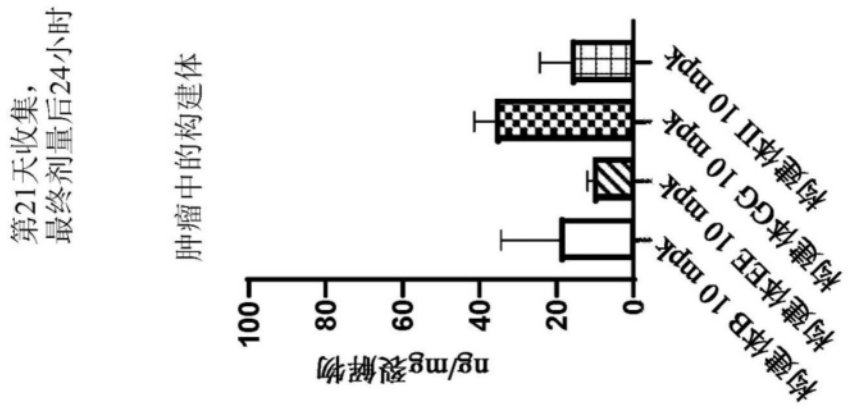


图15F

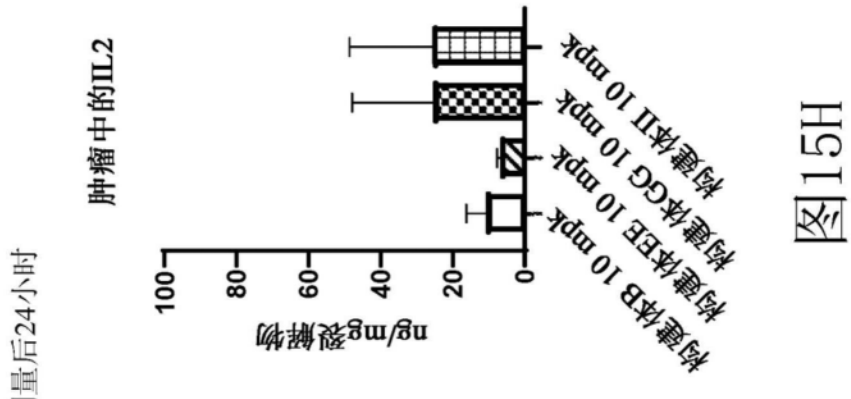


图15H

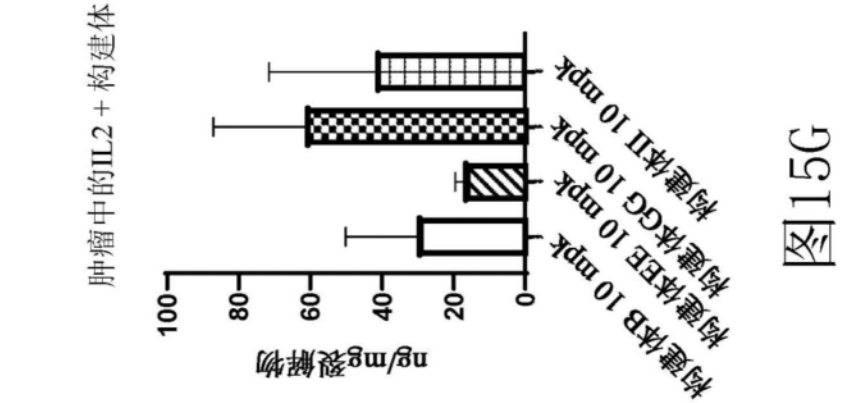


图15G

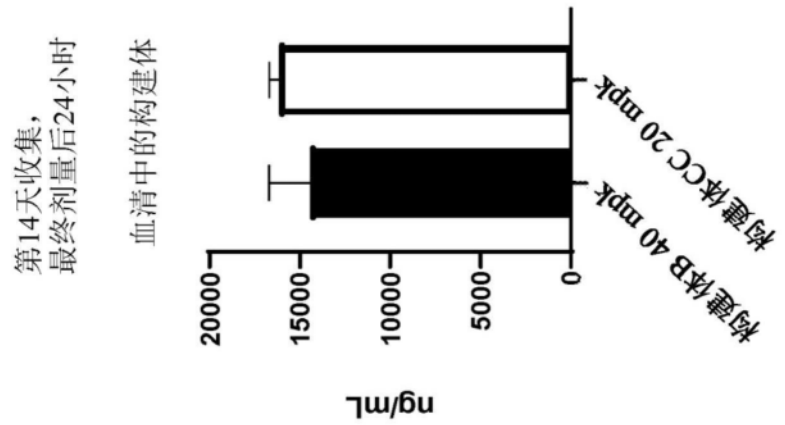

第14天收集，
最终剂量后24小时
血清中的构建体
构建体B 40 mpk
构建体CC 20 mpk
0
5000
10000
15000
20000
ng/mL

图15I

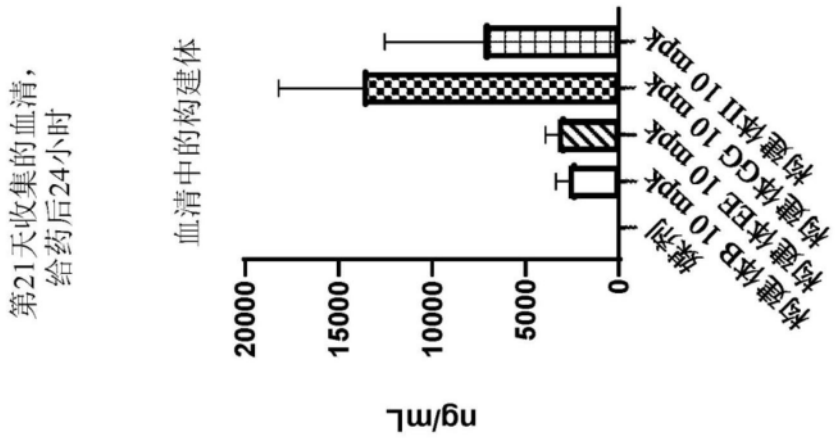

第21天收集的血清，
给药后24小时
血清中的构建体
媒剂
构建体B 10 mpk
构建体EE 10 mpk
构建体GG 10 mpk
构建体II 10 mpk
0
5000
10000
15000
20000
ng/mL

图15J

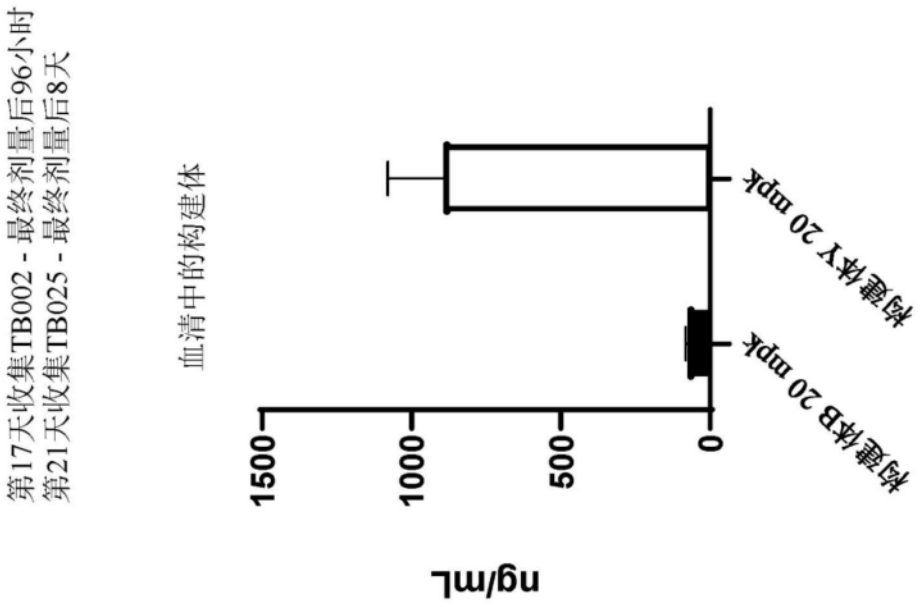

第17天收集TB002 - 最终剂量后96小时
第21天收集TB025 - 最终剂量后8天
血清中的构建体
1500
1000
500
0
ng/mL
构建体B 20 mpk
构建体Y 20 mpk

图15K

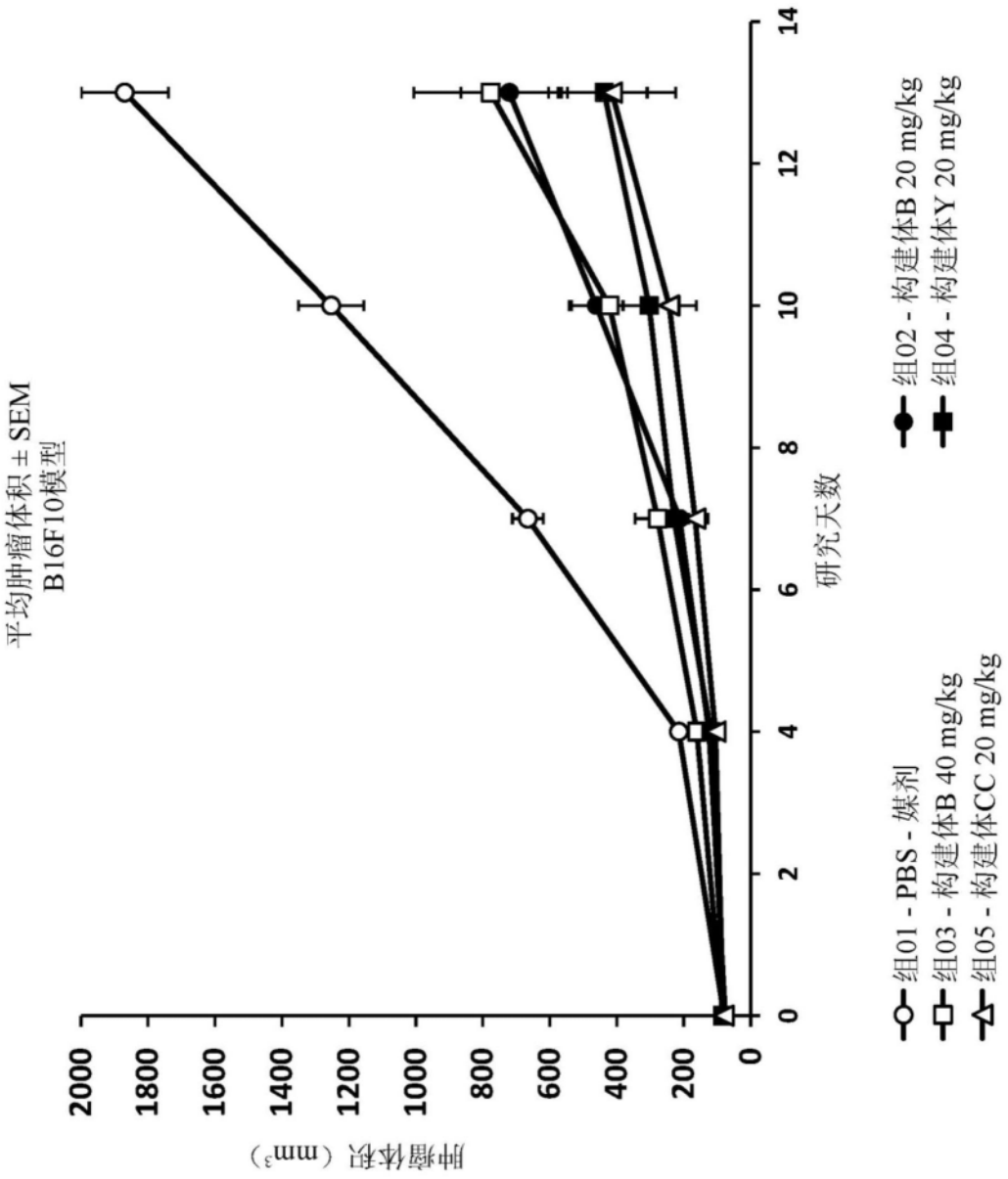

平均肿瘤体积 ± SEM
B16F10模型
肿瘤体积（mm³）
研究天数
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
0
2
4
6
8
10
12
14
组01 - PBS - 媒剂
组02 - 构建体B 20 mg/kg
组03 - 构建体B 40 mg/kg
组04 - 构建体Y 20 mg/kg
组05 - 构建体CC 20 mg/kg

图16A

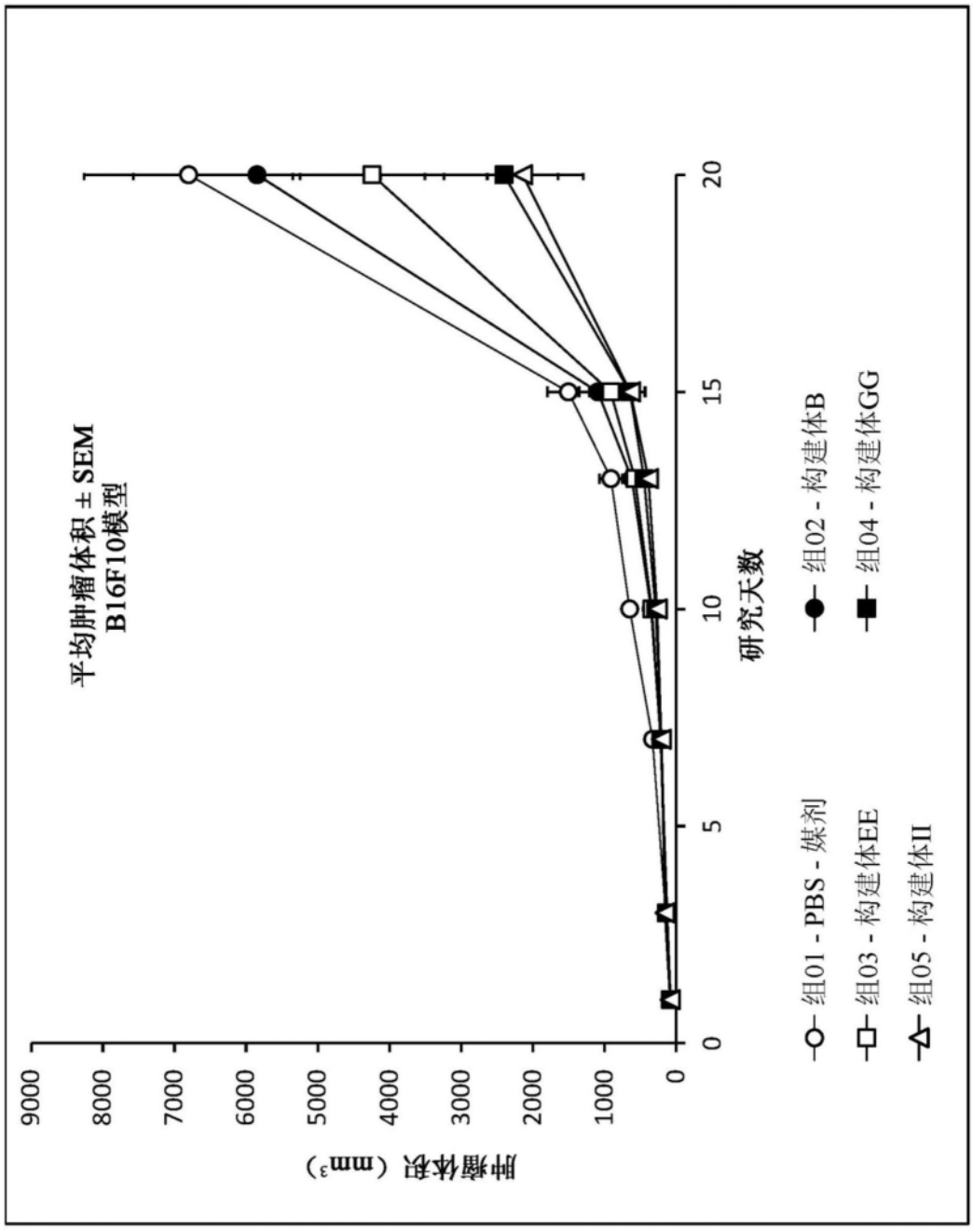

平均肿瘤体积 ± SEM
B16F10模型
肿瘤体积 (mm³)
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
研究天数
组01 - PBS - 媒剂
组02 - 构建体B
组03 - 构建体EE
组04 - 构建体GG
组05 - 构建体II

图16B

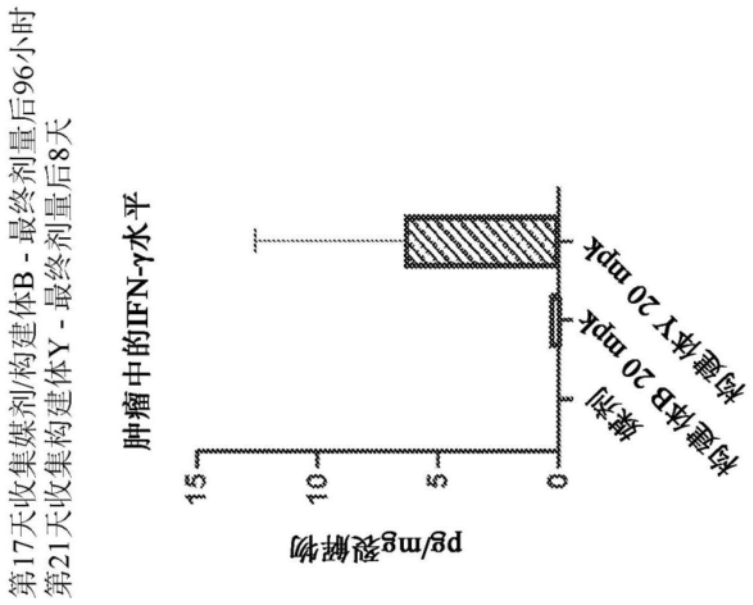

第17天收集媒剂/构建体B - 最终剂量后96小时
第21天收集构建体Y - 最终剂量后8天
肿瘤中的IFN-γ水平
pg/mg裂解物
15
10
5
0
媒剂
构建体B 20 mpk
构建体Y 20 mpk

图17A

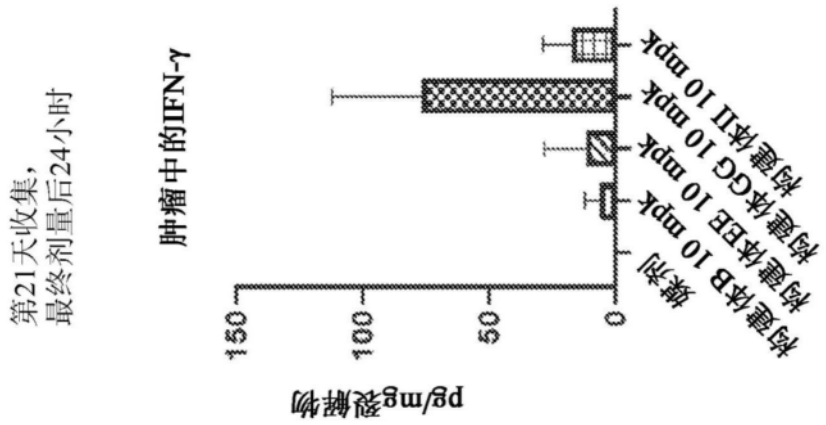

第21天收集，
最终剂量后24小时
肿瘤中的IFN-γ
pg/mg裂解物
150
100
50
0
媒剂
构建体B 10 mpk
构建体EB 10 mpk
构建体GG 10 mpk
构建体II 10 mpk

图17B

激活后细胞因子的短pK

	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	
	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	
	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	
	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK

图18A

RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂		PK EXT	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK	PK EXT	RET LNK

图18A(续)

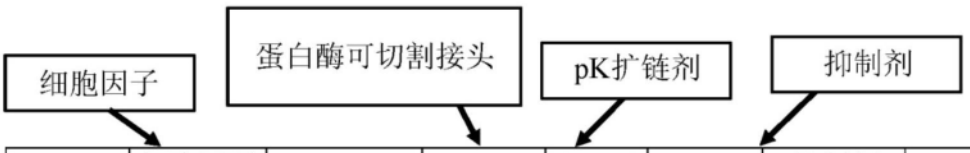
激活后细胞因子的长pK

pK扩链剂			细胞因子	蛋白酶可切割接头			抑制剂	
	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	
	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	
	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	
	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	

图18B

	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT		细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	PK EXT	RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK

图18B(续)



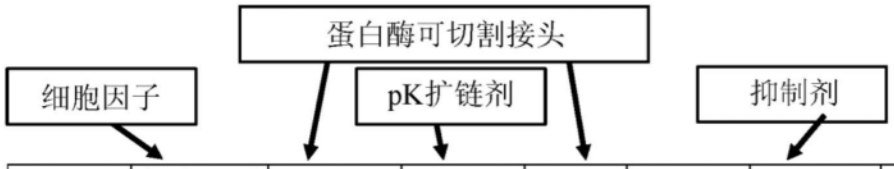
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	RET LNK	抑制剂	RET LNK

图18C



	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK

图18D



	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK

图18E

	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子		PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK		抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	LNK	抑制剂	RET LNK
RET LNK	细胞因子	RET LNK	PRO-LNK	PK EXT	PRO-LNK	RET LNK	抑制剂	RET LNK

图18E(续)