201718029

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201718029 A

(43)公開日： 中華民國 106 (2017) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：106101987 (22)申請日： 中華民國 101 (2012) 年 02 月 07 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/48 (2006.01)* *A61K38/20 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *C07K14/55 (2006.01)*
C07K16/24 (2006.01) *C12N15/26 (2006.01)*

(30)優先權：2011/02/10 歐洲專利局 11153964.9
2011/04/29 歐洲專利局 11164237.7

(71)申請人：羅齊克雷雅公司 (瑞士) ROCHE GLYCART AG (CH)
瑞士

(72)發明人：亞斯特 奧立維 AST, OLIVER (DE)；布恩克 彼德 BRUENKER, PETER (DE)；費摩瑟 葛舒博 安 FREIMOSER-GRUNDSCHOBER, ANNE (CH)；海特 斯洛維亞 HERTER, SYLVIA (DE)；哈福 湯瑪士 HOFER, THOMAS U. (CH)；荷斯羅夫 HOSSE, RALF (DE)；克萊 克里斯汀 KLEIN, CHRISTIAN (DE)；摩斯那依哈德 MOESSNER, EKKEHARD (DE)；尼可里尼 薇樂莉 G NICOLINI, VALERIA G. (ES)；優瑪那 帕伯羅 UMANA, PABLO (CR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：21 項 圖式數：50 共 418 頁

(54)名稱

突變介白素-2多肽

MUTANT INTERLEUKIN-2 POLYPEPTIDES

(57)摘要

本發明概言之係關於對於 IL-2 受體之 α-亞單位展現減小親和力之突變介白素-2 多肽，其用作免疫治療劑。此外，本發明係關於包括該等突變 IL-2 多肽之免疫偶聯物，編碼該等突變 IL-2 多肽或免疫偶聯物之多核苷酸分子，及包括該等多核苷酸分子之載體及宿主細胞。本發明進一步關於產生該等突變 IL-2 多肽或免疫偶聯物之方法，包括其之醫藥組合物，及其用途。

The present invention generally relates to mutant interleukin-2 polypeptides that exhibit reduced affinity to the α-subunit of the IL-2 receptor, for use as immunotherapeutic agents. In addition, the invention relates to immunoconjugates comprising said mutant IL-2 polypeptides, polynucleotide molecules encoding the mutant IL-2 polypeptides or immunoconjugates, and vectors and host cells comprising such polynucleotide molecules. The invention further relates to methods for producing the mutant IL-2 polypeptides or immunoconjugates, pharmaceutical compositions comprising the same, and uses thereof.

指定代表圖：

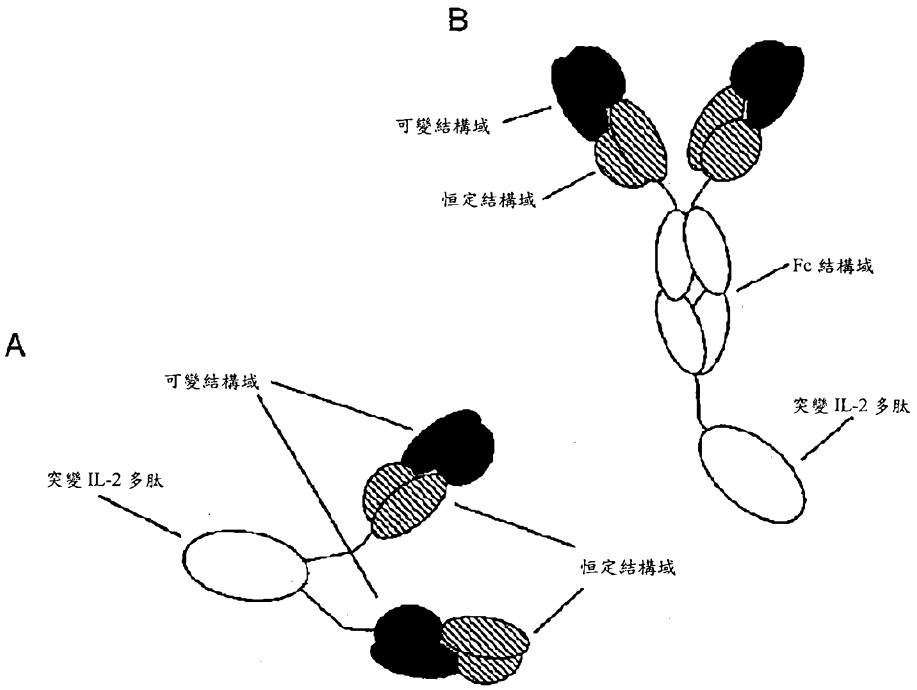


圖 1

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】

突變介白素-2多肽

MUTANT INTERLEUKIN-2 POLYPEPTIDES

【技術領域】

本發明概言之係關於突變介白素-2多肽。更特定而言，本發明涉及用作免疫治療劑之展現改良性質之突變IL-2多肽。此外，本發明係關於包括該等突變IL-2多肽之免疫偶聯物、編碼該等突變IL-2多肽或免疫偶聯物之多核苷酸分子及包括該等多核苷酸分子之載體及宿主細胞。本發明進一步係關於產生該等突變IL-2多肽或免疫偶聯物之方法、包括其之醫藥組合物及其用途。

【先前技術】

介白素-2 (IL-2)亦稱為T細胞生長因子(TCGF)，其係在淋巴細胞生成、存活及體內穩態中發揮重要作用之15.5 kDa球形糖蛋白。其具有133個胺基酸之長度且由4個形成對於其功能不可缺少之四級結構的反平行、兩性α-螺旋狀物組成(Smith, Science 240, 1169-76 (1988); Bazan, Science 257, 410-413 (1992))。發現來自不同物種之IL-2序列具有以下NCBI RefSeq編號：NP000577(人類)、NP032392(小鼠)、NP446288(大鼠)或NP517425(黑猩猩)。

IL-2藉由與IL-2受體(IL-2R)結合來調介其作用，該等IL-2受體係由至多三個個別亞單位組成，該三個個別亞單位之不同締合可產生對於IL-2具有不同親和力之受體形式。α (CD25)、β (CD122)及γ (γ_c, CD132)亞單位之締合產生關於IL-2之三聚、高親和力受體。由β亞單位及γ亞單位組成之二聚IL-2受體稱為中間親和力IL-2R。α亞單位形成單體低親和力IL-2受體。儘管二聚中間親和力IL-2受體結合IL-2之

親和力係三聚高親和力受體之約1/100，但二聚及三聚IL-2受體變體皆能夠藉由IL-2結合來傳輸信號(Minami等人，Annu Rev Immunol 11, 245-268 (1993))。因此，α-亞單位CD25對於IL-2信號傳導而言並不重要。其賦予結合其受體之高親和力，而β亞單位CD122及γ-亞單位對於信號轉導而言至關重要(Krieg等人，Proc Natl Acad Sci 107, 11906-11 (2010))。包含CD25之三聚IL-2受體由(靜止)$CD4^+$叉頭框蛋白P3 $(FoxP3)^+$調節T (T_{reg})細胞表現。其亦短暫地在習用活化T細胞上誘導，而在靜止狀態中，該等細胞僅表現二聚IL-2受體。T_{reg}細胞在活體內持續表現最高程度之CD25(Fontenot等人，Nature Immunol 6, 1142-51 (2005))。

IL-2主要由活化T細胞、尤其$CD4^+$輔助T細胞合成。其刺激T細胞之增殖及分化，誘導細胞毒性T淋巴細胞(CTL)之生成及周邊血淋巴細胞至細胞毒性細胞及淋巴因子活化之殺手(LAK)細胞之分化，促進細胞因子及溶細胞分子由T細胞表現，促進B細胞之增殖及分化並促進藉由B細胞合成免疫球蛋白，並刺激天然殺手(NK)細胞之生成、增殖及活化(例如，參見Waldmann, Nat Rev Immunol 6, 595-601 (2009)；Olejniczak及Kasprzak，Med Sci Monit 14, RA179-89 (2008)；Malek, Annu Rev Immunol 26, 453-79 (2008))。

其能夠在活體內擴展淋巴細胞群體並增加該等細胞之效應子功能，此賦予IL-2抗腫瘤效應，從而使得IL-2免疫療法成為用於某些轉移性癌症之有吸引力的治療選擇。因此，已證實高劑量IL-2治療可用於患有轉移性腎細胞上皮癌及惡性黑素瘤之患者。

然而，IL-2在免疫反應中具有雙重功能，其不僅調介效應子細胞之擴增及活性，且亦在維持周邊免疫耐受性方面至關重要。

周邊自身耐受性之主要機制係T細胞中之IL-2誘導之活化誘導之細胞死亡(AICD)。AICD係全活化T細胞經由結合細胞表面表現之死亡

受體(例如CD95(亦稱為Fas)或TNF受體)發生程式化細胞死亡的過程。在經由T細胞受體(TCR)/CD3複合物使用抗原再刺激在增殖期間表現高親和力IL-2受體(在先前暴露於IL-2之後)之抗原活化之T細胞時，誘導Fas配體(FasL)及/或腫瘤壞死因子(TNF)之表現，從而使得細胞易於發生Fas調介之細胞凋亡。此過程具有IL-2依賴性(Lenardo, Nature 353, 858-61 (1991))並經由STAT5調介。藉由T淋巴細胞中之AICD過程，不僅可確立自身抗原之耐受性，且亦可確立明顯並非宿主之構成部分之持久性抗原(例如腫瘤抗原)之耐受性。

另外，IL-2亦涉及維持亦稱為阻抑性T細胞之周邊$CD4^+$ $CD25^+$調節T (T_{reg})細胞(Fontenot等人，Nature Immunol 6, 1142-51 (2005)；D'Cruz及Klein, Nature Immunol 6, 1152-59 (2005)；Maloy及Powrie, Nature Immunol 6, 1171-72 (2005))。其經由細胞-細胞接觸且藉由抑制T細胞幫助及活化、或經由釋放免疫阻抑性細胞因子(例如IL-10或TGF-β)來阻抑效應子T細胞破壞其(自身)靶。T_{reg}細胞之消耗展示可增強IL-2誘導之抗腫瘤免疫性(Imai等人，Cancer Sci 98, 416-23 (2007))。

因此，IL-2並不適用於抑制腫瘤生長，此乃因在IL-2存在下所生成之CTL可自我識別腫瘤並發生AICD或免疫反應可由IL-2依賴性T_{reg}細胞抑制。

關於IL-2免疫療法之另一關注問題係由重組人類IL-2治療產生之副作用。接受高劑量IL-2治療之患者通常經歷嚴重心血管、肺、腎、肝、胃腸道、神經、皮膚、血液及全身性不良事件，此需要強化監測及住院管控。大部分該等副作用可藉由以下現象予以闡釋：發生所謂的血管(或毛細血管)滲漏症候群(VLS)、血管滲透性發生病理學增加而導致多個器官中液體外滲(例如，引起肺及皮膚水腫及肝細胞損傷)及血管內體液枯竭(引起血壓降低及心率代償性升高)。除戒斷IL-2外

並無關於VLS之治療方法。已在患者中測試低劑量IL-2方案來避免VLS，然而，此係在次佳治療結果之代價下。據信，VLS係由自IL-2活化之NK細胞釋放諸如腫瘤壞死因子(TNF)-α等促發炎細胞因子引起，然而，最近證實，IL-2-誘導之肺水腫係自IL-2與肺內皮細胞之直接結合引起，該等肺內皮細胞表現低至中間程度之功能αβγ IL-2受體(Krieg等人，Proc Nat Acad Sci USA 107, 11906-11 (2010))。

已採用若干方式來克服該等與IL-2免疫療法有關之問題。舉例而言，已發現，IL-2與某些抗IL-2單株抗體之組合在活體內增強IL-2之治療效應(Kamimura等人，J Immunol 177, 306-14 (2006)；Boyman等人，Science 311, 1924-27 (2006))。在一替代方式中，IL-2以各種方式發生突變以減小其毒性及/或增加其效能。Hu等人(Blood 101, 4853-4861 (2003)，美國專利公開案第2003/0124678號)藉由色胺酸取代IL-2之38位中之精胺酸殘基以消除IL-2之血管滲透性活性。Shanafelt等人(Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000))使天門冬醯胺酸88突變成精胺酸以較NK細胞增強T細胞之選擇性。Heaton等人(Cancer Res 53, 2597-602 (1993)；美國專利第5,229,109號)引入兩個突變Arg38Ala及Phe42Lys以減小促發炎細胞因子自NK細胞之分泌。Gillies(美國公開案第2007/0036752號)取代了IL-2中有助於中間親和力IL-2受體之親和力之三個殘基(Asp20Thr、Asn88Arg及Gln126Asp)以減小VLS。Gillies等人(WO 2008/0034473)亦藉由胺基酸取代Arg38Trp及Phe42Lys使IL-2與CD25之界面發生突變以減小與CD25之相互作用及T_{reg}細胞之活化，從而增強效能。出於相同目的，Wittrup等人(WO 2009/061853)產生IL-2突變，該等IL-2突變具有對於CD25之增強親和力，但並不活化受體，由此用作拮抗劑。所引入之突變旨在破壞與受體之β-及/或γ亞單位之相互作用。

然而，尚無已知IL-2突變展示能克服所有上述與IL-2免疫療法有

關之問題，亦即由VLS誘導引起之毒性、由AICD誘導引起之腫瘤耐受性及由T_{reg}細胞活化引起之免疫阻抑。因此，業內仍需要進一步增強IL-2蛋白之治療用途。

【發明內容】

本發明部分地基於以下認識：IL-2與三聚、高親和力IL-2受體之α-亞單位之相互作用會引起與IL-2免疫療法有關之問題。

因此，在第一態樣中，本發明提供包括第一胺基酸突變之突變介白素-2 (IL-2)多肽，該第一胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽與高親和力IL-2受體之親和力並保留突變IL-2多肽與中間親和力IL-2受體之親和力(各自皆與野生型IL-2多肽相比)。在一實施例中，該第一胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基72之位置處。在一實施例中，該第一胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。在一更具體實施例中，該第一胺基酸突變係胺基酸取代L72G。在某些實施例中，突變IL-2多肽包括第二胺基酸突變，該第二胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽與高親和力IL-2受體之親和力並保留突變IL-2多肽與中間親和力IL-2受體之親和力(各自皆與野生型IL-2多肽相比)。在一實施例中，該第二胺基酸突變位於位於選自對應於人類IL-2之殘基35、38、42、43及45之位置的位置處。在一具體實施例中，該第二胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42之位置處。在一更具體實施例中，該第二胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R及F42K。在一甚至更具體實施例中，該第二胺基酸突變係胺基酸取代F42A。在某些實施例中，突變介白素-2多肽包括第三胺基酸突變，該第三胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽與高親和力IL-2受體之親和力並保留突變IL-2多肽與中間親和力IL-2受體之親和力(各自皆與野生型IL-2多

肽相比)。在一特定實施例中，突變介白素-2多肽包括三個胺基酸突變，該三個胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽與高親和力IL-2受體之親和力並保留突變IL-2多肽與中間親和力IL-2受體之親和力(各自皆與野生型IL-2多肽相比)，其中該三個胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42、45及72之位置處。在一實施例中，該三個胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R、Y45K、L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。在一具體實施例中，該三個胺基酸突變係胺基酸取代F42A、Y45A及L72G。在某些實施例中，突變介白素-2多肽進一步包括胺基酸突變，該胺基酸突變消除對應於人類IL-2之殘基3之位置處IL-2之O-糖基化位點。在一實施例中，該消除對應於人類IL-2之殘基3之位置處IL-2之O-糖基化位點的胺基酸突變係如下胺基酸取代：其選自T3A、T3G、T3Q、T3E、T3N、T3D、T3R、T3K及T3P之群。在一具體實施例中，消除對應於人類IL-2之殘基3之位置處IL-2之O-糖基化位點的胺基酸突變係T3A。在某些實施例中，突變IL-2多肽基本上係全長IL-2分子，尤其係人類全長IL-2分子。

本發明進一步提供與非IL-2部分連接之突變介白素-2多肽。在某些實施例中，該非IL-2部分係靶向部分。在某些實施例中，該非IL-2部分係抗原結合部分。在一實施例中，該抗原結合部分係抗體。在另一實施例中，該抗原結合部分係抗體片段。在一更具體實施例中，該抗原結合部分選自Fab分子及scFv分子。在一特定實施例中，該抗原結合部分係Fab分子。在另一實施例中，該抗原結合部分係scFv分子。在特定實施例中，突變IL-2多肽與第一及第二非IL-2部分連接。在一該實施例中，突變介白素-2多肽與該第一非IL-2部分共用羧基末

端肽鍵且與該第二非IL-2部分共用胺基末端肽鍵。在一實施例中，該抗原結合部分係免疫球蛋白分子。在一更具體實施例中，該抗原結合部分係IgG種類、尤其IgG_1亞類免疫球蛋白分子。在某些實施例中，該抗原結合部分針對呈現於腫瘤細胞或腫瘤細胞環境中之抗原，尤其係選自以下之群之抗原：成纖維細胞活化蛋白(FAP)、腱糖蛋白-C之A1結構域(TNC A1)、腱糖蛋白-C之A2結構域(TNC A2)、纖維連接蛋白之額外結構域B (EDB)、癌胚抗原(CEA)及黑素瘤相關之硫酸軟骨素蛋白多糖(MCSP)。

本發明亦提供免疫偶聯物，其包括本文所述之突變IL-2多肽及抗原結合部分。在本發明之免疫偶聯物之一實施例中，突變IL-2多肽與該抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵。在特定實施例中，免疫偶聯物包括第一及第二抗原結合部分。在一該實施例中，本發明之免疫偶聯物中所包括之突變IL-2多肽與第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵，且第二抗原結合部分與i) 突變IL-2多肽或ii) 該第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵。在一實施例中，本發明之免疫偶聯物中所包括之抗原結合部分係抗體，在另一實施例中，該抗原結合部分係抗體片段。在一具體實施例中，該抗原結合部分選自Fab分子及scFv分子。在一特定實施例中，該抗原結合部分係Fab分子。在另一特定實施例中，該抗原結合部分係免疫球蛋白分子。在一更具體實施例中，該抗原結合部分係IgG種類、尤其IgG_1亞類免疫球蛋白分子。在某些實施例中，該抗原結合部分針對呈現於腫瘤細胞或腫瘤細胞環境中之抗原，尤其係選自以下之群之抗原：成纖維細胞活化蛋白(FAP)、腱糖蛋白-C之A1結構域(TNC A1)、腱糖蛋白-C之A2結構域(TNC A2)、纖維連接蛋白之額外結構域B (EDB)、癌胚抗原(CEA)及黑素瘤相關之硫酸軟骨素蛋白多糖(MCSP)。

本發明進一步提供編碼本文所述突變IL-2多肽或免疫偶聯物之經

分離多核苷酸、包括該等多核苷酸之表現載體及包括該等多核苷酸或表現載體之宿主細胞。

亦提供產生本文所述突變IL-2多肽或免疫偶聯物、包括本文所述突變IL-2多肽或免疫偶聯物及醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物的方法，及使用本文所述突變IL-2多肽或免疫偶聯物之方法。

特定而言，本發明涵蓋用於治療有需要之個體之疾病之本文所述的突變IL-2多肽或免疫偶聯物。在一特定實施例中，該疾病係癌症。在一特定實施例中，該個體係人類。

本發明亦涵蓋本文所述突變IL-2多肽或免疫偶聯物在製造用於治療有需要之個體之疾病之藥劑中的用途。

進一步提供治療個體之疾病之方法，其包括向該個體投與治療有效量之包括本文所述突變IL-2多肽或免疫偶聯物之組合物。該疾病較佳係癌症。

亦提供刺激個體之免疫系統之方法，其包括向該個體投與有效量之包括本文所述呈醫藥上可接受形式之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之組合物。

【圖式簡單說明】

圖1包括突變IL-2多肽之Fab-IL-2-Fab (A)及IgG-IL-2 (B)免疫偶聯物格式之示意性代表圖。

圖2裸露IL-2野生型構築體之純化。(A) 野生型裸露IL-2之His標籤純化之層析圖；(B) 純化蛋白之SDS PAGE(8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen)，MES運行緩衝液)。

圖3裸露IL-2野生型構築體之純化。(A) 野生型IL-2之尺寸排除層析之層析圖；(B) 純化蛋白之SDS PAGE(8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen)，MES運行緩衝液)。

圖4在Superdex 75, 10/300 GL上測得之野生型IL-2之分析型尺寸

排除層析。池1包括74%之23 kDa物種及26%之20 kDa物種，池2包括40%之22 kDa物種及60%之20 kDa物種。

圖5裸露IL-2四重突變構築體之純化。(A) IL-2四重突變之His標籤純化之層析圖；(B) 純化蛋白之SDS PAGE(8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen)，MES運行緩衝液)。

圖6裸露IL-2四重突變構築體之純化。(A) IL-2四重突變之尺寸排除層析之層析圖；(B) 純化蛋白之SDS PAGE(8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen)，MES運行緩衝液)。

圖7在Superdex 75, 10/300 GL上測得之IL-2四重突變之分析型尺寸排除層析(池2，20 kDa)。

圖8包括野生型或四重突變IL-2之靶向FAP、基於29B11之Fab-IL-2-Fab對於IL-2R及人類FAP之同時結合。(A) SPR分析之設置；(B) SPR感測圖譜。

圖9包括野生型或突變IL-2之靶向FAP、基於4G8之Fab-IL-2-Fab與普留淨注射劑相比在溶液中對於NK92細胞之IFN-γ釋放的誘導。

圖10包括野生型或突變IL-2之靶向FAP且基於4G8之Fab-IL-2-Fab與普留淨注射劑相比在溶液中對於分離NK細胞(底部)之增殖的誘導。

圖11包括野生型或突變IL-2之靶向FAP、基於4G8之Fab-IL-2-Fab與普留淨注射劑相比在溶液中對於活化$CD3^+$ T細胞之增殖的誘導。

圖12包括野生型或突變IL-2之靶向FAP、基於4G8之Fab-IL-2-Fab與普留淨注射劑相比在溶液中對於過度刺激T細胞中活化誘導之細胞死亡(AICD)的誘導。

圖13包括野生型或四重突變IL-2之靶向FAP、基於4G8之Fab-IL-2-Fab與普留淨注射劑相比在溶液中之磷酸-STAT5 FACS分析。(A) 調節T細胞($CD4^+CD25^+FOXP3^+$)；(B) $CD8^+$ T細胞($CD3^+CD8^+$)；(C) $CD4^+$ T細胞($CD4^+CD25^-CD127^+$)；(D) NK細胞($CD3^-CD56^+$)。

圖14靶向FAP、基於28H1之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物之純化。(A) 蛋白質G管柱之洗脫特徵曲線。(B) Superdex 200尺寸排除管柱之洗脫特徵曲線。(C) 使用非還原及還原試樣之終產物之Novex Tris-甘胺酸4-20% SDS-PAGE。

圖15基於4G8、靶向FAP之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物之純化。(A) 蛋白質A管柱之洗脫特徵曲線。(B) Superdex 200尺寸排除管柱之洗脫特徵曲線。(C) 使用非還原及還原試樣之終產物之NuPAGE Novex Bis-Tris Mini凝膠(Invitrogen)，MOPS運行緩衝液。

圖16 MHLG1 KV9靶向MCSP之Fab-IL2QM-Fab免疫偶聯物之純化。(A) 蛋白質A管柱之洗脫特徵曲線，B) Superdex 200尺寸排除管柱之洗脫特徵曲線。(C) 使用非還原及還原試樣之終產物之NuPAGE Novex Bis-Tris Mini凝膠，Invitrogen，MOPS運行緩衝液。

圖17 Fab-IL-2-Fab構築體與HEK 293-人類FAP細胞之靶結合。

圖18 Fab-IL-2-Fab構築體與HEK 293-人類FAP細胞之靶結合。

圖19在HEK 293-人類DPPIV及HEK 293模擬轉染之細胞中測得之Fab-IL-2-Fab構築體之結合特異性。特異性DPPIV (CD26)抗體之結合展示於右側。

圖20在Fab-IL-2-Fab構築體與GM05389成纖維細胞中之FAP結合時FAP內在化之分析。

圖21溶液中NK92細胞之IL-2誘導之IFN-γ釋放。

圖22溶液中NK92細胞之IL-2誘導之IFN-γ釋放。

圖23溶液中NK92細胞之IL-2誘導之增殖。

圖24在溶液中使用PBMC實施之STAT5磷酸化分析中對於Fab-IL-2-Fab純系28H1對29B11對4G8之評價。(A) NK細胞($CD3^-CD56^+$)；(B) $CD8^+$ T細胞($CD3^+CD8^+$)；(C) $CD4^+$ T細胞($CD3^+CD4^+CD25^-CD127^+$)；(D) 調節T細胞($CD4^+CD25^+FOXP3^+$)。

圖25靶向FAP之4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物在人類腎細胞腺上皮癌細胞系ACHN中之效能。

圖26靶向FAP之4G8 FAP-IL-2 qm-Fab及28H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物在小鼠劉易斯肺上皮癌細胞系LLC1中之效能。

圖27靶向FAP之28H1 Fab-IL-2 wt-Fab及28H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物在小鼠劉易斯肺上皮癌細胞系LLC1中之效能。

圖28使用媒劑對照(A)或9 μg/g wt IL-2 (B)或qm IL-2 (C)治療之小鼠之肺之低放大倍率圖(100x)。使用9 μg/g wt IL-2治療之小鼠之肺展示血管中心單核細胞浸潤轉移至肺泡腔中。亦存在水腫及出血。在使用qm IL-2治療之小鼠中在少數血管周圍發現邊緣浸潤。

圖29圖28中所展示肺之較高放大倍率圖(200x)。血管中及血管周圍單核細胞之邊緣化及浸潤在使用wt IL-2治療之小鼠(A)中較使用qm IL-2治療之小鼠(B及C)中更為嚴重。

圖30使用媒劑對照(A)或9 μg/g wt IL-2 (B)或qm IL-2 (C)治療之小鼠之肝之低放大倍率圖(100x)。在使用wt IL-2治療之小鼠中看到血管中心浸潤。

圖31在與不同IL-2野生型(wt)及四重突變(qm)製劑一起培育24(A)或48小時(B)時NK92細胞之IFN-γ分泌。

圖32在與不同IL-2野生型(wt)及四重突變(qm)製劑一起培育48小時時NK92細胞之增殖。

圖33在與不同IL-2野生型(wt)及四重突變(qm)製劑一起培育48小時時NK92細胞之增殖。

圖34在與不同靶向FAP之28H1 IL-2免疫偶聯物或普留淨注射劑一起培育4 (A)、5 (B)或6 (C)天時NK細胞之增殖。

圖35在與不同靶向FAP之28H1 IL-2免疫偶聯物或普留淨注射劑一起培育4 (A)、5 (B)或6 (C)天時CD4 T細胞之增殖。

圖36在與不同靶向FAP之28H1 IL-2免疫偶聯物或普留淨注射劑一起培育4 (A)、5 (B)或6 (C)天時CD8 T細胞之增殖。

圖37在與不同IL-2免疫偶聯物或普留淨注射劑一起培育6天時NK細胞(A)、CD4 T細胞(B)及CD8 T細胞(C)之增殖。

圖38在與普留淨注射劑、室內產生之野生型IL-2及四重突變IL-2一起培育30 min之後NK細胞(A)、CD8 T細胞(B)、CD4 T細胞(C)及調節T細胞(D)中之STAT磷酸化。

圖39在與普留淨注射劑、包括野生型IL-2之IgG-IL-2或包括四重突變IL-2之IgG-IL-2一起培育30 min之後NK細胞(A)、CD8 T細胞(B)、CD4 T細胞(C)及調節T細胞(D)中之STAT磷酸化。

圖40在投與(在7天內每天一次)不同劑量之包括野生型或四重突變IL-2之IL-2免疫偶聯物之後Black 6小鼠的存活率。

圖41在單一靜脈內投與包括野生型(wt)或四重突變(qm) IL-2之靶向FAP之(A)及非靶向(B) IgG-IL-2構築體之後，IL-2免疫偶聯物的血清濃度。

圖42在單一靜脈內投與包括野生型(wt)或四重突變(qm) IL-2之非靶向Fab-IL-2-Fab構築體之後，IL-2免疫偶聯物之血清濃度。

圖43四重突變IL-2之純化。(A) 固定金屬離子層析；(B) 尺寸排除層析；(C) 非還原條件下之SDS PAGE(NuPAGE Novex Bis-Tris凝膠(Invitrogen)，MES運行緩衝液)；(D) 分析型尺寸排除層析(Superdex 75 10/300 GL)。

圖44在與不同IL-2免疫偶聯物一起培育6天之後預活化CD8 (A)及CD4 (B) T細胞之增殖。

圖45在與不同IL-2免疫偶聯物一起培育6天並使用抗Fas抗體過夜處理之後$CD3^+$ T細胞之活化誘導之細胞死亡。

圖46靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2四重突變(qm)免疫偶聯物之

純化。A) 蛋白質A親和層析步驟之洗脫特徵曲線。B) 尺寸排除層析步驟之洗脫特徵曲線。C) 最終產物之分析型SDS-PAGE(NuPAGE Novex Bis-Tris Mini凝膠，Invitrogen，MOPS運行緩衝液)。D) 最終產物之分析型尺寸排除層析，Superdex 200管柱(97%單體含量)。

圖47靶向FAP、基於28H1之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物之純化。A) 蛋白質A親和層析步驟之洗脫特徵曲線。B) 尺寸排除層析步驟之洗脫特徵曲線。C) 最終產物之分析型SDS-PAGE(還原：NuPAGE Novex Bis-Tris Mini凝膠，Invitrogen，MOPS運行緩衝液；非還原：NuPAGE Tris-乙酸鹽，Invitrogen，Tris-乙酸鹽運行緩衝液)。D) 最終產物之分析型尺寸排除層析，Superdex 200管柱(100%單體含量)。

圖48與相應Fab-IL-2 qm-Fab構築體相比，靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物與表現於穩定轉染HEK 293細胞上之人類FAP之結合，如藉由FACS所量測。

圖49與基於28H1之Fab-IL-2 qm-Fab構築體相比，在溶液中藉由靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物誘導之NK92細胞中之干擾素(IFN)-γ釋放。

圖50與基於28H1之Fab-IL-2-Fab及Fab-IL-2 qm-Fab構築體以及普留淨注射劑相比，在溶液中使用靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物刺激20 min之後不同細胞類型中磷酸化STAT5之FACS檢測。A) NK細胞($CD3^-CD56^+$)；B) $CD8^+$ T細胞($CD3^+CD8^+$)；C) $CD4^+$ T細胞($CD3^+CD4^+CD25^-CD127^+$)；D) 調節T細胞($CD4^+CD25^+FOXP3^+$)。

【實施方式】

定義

除非下文另有定義，否則本文所用之術語具有業內通用含義。

除非另有所述，否則本文所用之術語「介白素-2」或「IL-2」係指來自任一脊椎動物來源之任一原始IL-2，該脊椎動物來源包含哺乳

動物，例如靈長類動物(例如人類)及齧齒類動物(例如，小鼠及大鼠)。該術語涵蓋未處理IL-2以及在細胞處理中產生之任一形式的IL-2。該術語亦涵蓋天然存在之IL-2變體，例如剪接變體或等位基因變體。實例性人類IL-2之胺基酸序列展示於SEQ ID NO: 1中。未處理人類IL-2另外包括具有SEQ ID NO: 272之序列之N末端20胺基酸信號肽，該N末端20胺基酸信號肽不存在於成熟IL-2分子中。

本文所用之術語「IL-2突變」或「突變IL-2多肽」意欲涵蓋各種形式之IL-2分子(包含全長IL-2、截短形式之IL-2及IL-2(例如)藉由融合或化學偶聯連接至另一分子之形式)的任一突變形式。在用於提及IL-2時，「全長」意指成熟、天然長度之IL-2分子。舉例而言，全長人類IL-2係指具有133個胺基酸之分子(例如，參見SEQ ID NO: 1)。各種形式之IL-2突變之特徵在於具有至少一個影響IL-2與CD25之相互作用的胺基酸突變。此突變可涉及通常位於該位置處之野生型胺基酸殘基之取代、缺失、截短或修飾。較佳藉由胺基酸取代來獲得突變。除非另有所述，否則IL-2突變在本文中可稱為IL-2突變肽序列、IL-2突變多肽、IL-2突變蛋白或IL-2突變類似物。

在本文中根據SEQ ID NO: 1中所展示之序列來指定各種形式之IL-2。在本文中可使用各種名稱來表示相同突變。舉例而言，在位置42處自苯基丙胺酸至丙胺酸之突變可表示為42A、A42、A_{42}、F42A或Phe42Ala。

本文所用之術語「胺基酸突變」意欲涵蓋胺基酸取代、缺失、插入及修飾。在最終構築體中可獲得取代、缺失、插入及修飾之任一組合，前提係最終構築體擁有期望特性，例如，與CD25之結合有所減小。胺基酸序列缺失及插入包含胺基酸之胺基-及/或羧基末端缺失及插入。末端缺失之實例係全長人類IL-2之位置1中丙胺酸殘基之缺失。較佳胺基酸突變係胺基酸取代。出於改變(例如)IL-2多肽之結合

特性之目的，非保守胺基酸取代(亦即使用另一具有不同結構及/或化學性質之胺基酸代替一個胺基酸)尤佳。較佳胺基酸取代包含藉由親水性胺基酸代替疏水性胺基酸。胺基酸取代包含藉由以下胺基酸進行代替：非天然存在之胺基酸或20種標準胺基酸之天然存在之胺基酸衍生物(例如4-羥基脯胺酸、3-甲基組胺酸、鳥胺酸、高絲胺酸、5-羥基離胺酸)。可使用業內熟知之基因或化學方法生成胺基酸突變。基因方法可包含定點誘變、PCR、基因合成及諸如此類。預計亦可使用藉由除基因改造外之方法來改變胺基酸之側鏈基團的方法，例如化學修飾。

如本文所使用，「野生型」形式之IL-2係如下IL-2形式：其在其他方面與突變IL-2多肽相同，只是野生型形式在突變IL-2多肽之每一胺基酸位置處具有野生型胺基酸。舉例而言，若IL-2突變係全長IL-2(亦即IL-2並不融合或偶聯至任一其他分子)，則此突變之野生型形式係全長原始IL-2。若IL-2突變係介於IL-2及在IL-2下游編碼之另一多肽(例如抗體鏈)之間的融合體，則此IL-2突變之野生型形式係具有融合至相同下游多肽之野生型胺基酸序列的IL-2。另外，若IL-2突變係IL-2之截短形式(IL-2之非截短部分內之突變或修飾序列)，則此IL-2突變之野生型形式類似地係具有野生型序列之截短IL-2。出於比較各種形式IL-2突變與相應野生型形式IL-2之IL-2受體結合親和力或生物活性的目的，術語野生型涵蓋包括一或多個與天然存在之原始IL-2相比並不影響IL-2受體結合之胺基酸突變的IL-2形式，該胺基酸突變係(例如)在對應於人類IL-2之殘基125之位置處將半胱胺酸取代為丙胺酸。在一些實施例中，出於本發明目的，野生型IL-2包括胺基酸取代C125A(參見SEQ ID NO: 3)。在本發明之某些實施例中，與突變IL-2多肽進行比較之野生型IL-2多肽包括SEQ ID NO: 1之胺基酸序列。在其他實施例中，與突變IL-2多肽進行比較之野生型IL-2多肽包括SEQ

ID NO: 3之胺基酸序列。

除非另有所述，否則本文所用之術語「CD25」或「IL-2受體之α-亞單位」係指來自任一脊椎動物來源之任一原始CD25，該脊椎動物來源包含哺乳動物，例如靈長類動物(例如人類)及齧齒類動物(例如，小鼠及大鼠)。該術語涵蓋「全長」未處理CD25以及自處理細胞產生之任一形式的CD25。該術語亦涵蓋CD25之天然存在之變體，例如，剪接變體或等位基因變體。在某些實施例中，CD25係人類CD25。實例性人類CD25之胺基酸序列(具有信號序列Avi標籤及His標籤)展示於SEQ ID NO: 278中。

本文所用之術語「高親和力IL-2受體」係指異源三聚體形式之IL-2受體，其由受體γ-亞單位(亦稱為常見細胞因子受體γ-亞單位、γ_c或CD132)、受體β-亞單位(亦稱為CD122或p70)及受體α-亞單位(亦稱為CD25或p55)組成。與之相比，術語「中間親和力IL-2受體」係指僅包含γ-亞單位及β-亞單位而沒有α-亞單位之IL-2受體(關於綜述，例如參見Olejniczak及Kasprzak, Med Sci Monit 14, RA179-189 (2008))。

「親和力」係指分子之單一結合位點(例如，受體)與其結合配偶體(例如，配體)間之非共價相互作用的總強度。除非另有所述，否則本文所用之「結合親和力」係指反映結合對之成員(例如，受體與配體)間之1:1相互作用的固有結合親和力。分子X對於其配偶體Y之親和力通常可由解離常數(K_D)表示，解離常數係解離速率常數與締合速率常數(分別為k_{off}及k_{on})之比率。因此，等效親和力可包括不同速率常數，只要速率常數之比率保持相同即可。可藉由業內已知之已充分確立之方法(包含彼等闡述於本文中者)來量測親和力。

突變或野生型IL-2多肽對於各種形式IL-2受體之親和力可根據實例中所示之方法藉由表面電漿共振(SPR)使用標準儀錶(例如BIAcore儀器(GE Healthcare))測得，且受體亞單位(例如)可藉由重組表現獲得

(例如，參見Shanafelt等人，Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000))。另一選擇為，可使用已知表現一種受體形式或另一受體形式之細胞系評估IL-2突變對於不同形式IL-2受體的結合親和力。用於量測結合親和力之具體說明性及實例性實施例闡述於下文中。

「調節T細胞」或「T_{reg}細胞」意指可阻抑其他T細胞之反應之特殊類型$CD4^+$ T細胞。T_{reg}細胞之特徵在於IL-2受體之α-亞單位(CD25)及轉錄因子叉頭框蛋白P3 (FOXP3)之表現(Sakaguchi, Annu Rev Immunol 22, 531-62 (2004))，且在誘導及維持對於抗原(包含彼等由腫瘤表現者)之周邊自身耐受性發揮關鍵作用。T_{reg}細胞之功能及其阻抑特性之產生及誘導需要IL-2。

本文所用之術語「效應子細胞」係指調介IL-2之細胞毒性效應之淋巴細胞群體。效應子細胞包含效應子T細胞，例如$CD8^+$細胞毒性T細胞、NK細胞、淋巴因子活化之殺手(LAK)細胞及巨噬細胞/單核細胞。

本文所用之術語「抗原結合部分」係指特異性結合至抗原決定簇之多肽分子。在一實施例中，抗原結合部分能夠使其所附接之實體(例如細胞因子或第二抗原結合部分)針對靶位點(例如具有抗原決定簇之特定類型之腫瘤細胞或腫瘤間質)。抗原結合部分包含在本文中進一步定義之抗體及其片段。較佳抗原結合部分包含抗體之抗原結合結構域，包括抗體重鏈可變區域及抗體輕鏈可變區域。在某些實施例中，抗原結合部分可包含在本文中進一步定義且業內已知之抗體恆定區域。有用重鏈恆定區域包含5種同種型：α、δ、ε、γ或μ中之任一者。有用輕鏈恆定區域包含兩種同種型：κ及λ中之任一者。

「特異性結合」意指該結合對抗原具有選擇性且可區別於不需要之相互作用或非特異性相互作用。抗原結合部分與特定抗原決定簇結合之能力可經由酶聯免疫吸附分析(ELISA)或熟習此項技術者熟知

之其他技術(例如表面電漿共振技術，(在BIAcore儀器上分析)(Liljeblad等人，Glyco J 17, 323-329 (2000))及傳統結合分析(Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)))來量測。

本文所用之術語「抗原決定簇」與「抗原」及「表位」同義，且係指多肽大分子上抗原結合部分結合形成抗原結合部分-抗原複合物之位點(例如胺基酸之鄰近序列段或由非鄰近胺基酸之不同區域構成之構象組態)。有用抗原決定簇可發現於(例如)腫瘤細胞之表面上、病毒感染細胞之表面上、其他病變細胞之表面上、游離於血清中及/或細胞外基質(ECM)中。

本文所用之術語「多肽」係指由藉由醯胺鍵(亦稱為肽鍵)線性連接之單體(胺基酸)構成之分子。術語「多肽」係指兩個或更多個胺基酸之任一鏈，且並不係指產物之具體長度。因此，肽、二肽、三肽、寡肽、「蛋白質」、「胺基酸鏈」或用於係指兩個或更多個胺基酸之鏈之任一其他術語包含於「多肽」之定義內，且術語「多肽」可用於代替該等術語中之任一者或可互換使用。術語「多肽」亦意欲係指多肽之表現後修飾之產物，該等表現後修飾包含但不限於糖基化、乙醯化、磷酸化、醯胺化、衍生(藉由已知保護/封阻基團)、溶蛋白性裂解或修飾(藉由非天然存在之胺基酸)。多肽可衍生自天然生物來源或藉由重組技術產生，但未必自指定核酸序列轉譯。其可以任一方式生成，包含藉由化學合成。本發明之多肽之尺寸可為約3個或更多個、5個或更多個、10個或更多個、20個或更多個、25個或更多個、50個或更多個、75個或更多個、100個或更多個、200個或更多個、500個或更多個、1,000個或更多個或2,000或更多個胺基酸。多肽可具有界定之三維結構，但其未必具有該結構。具有界定之三維結構之多肽稱為摺疊多肽，且並不擁有界定之三維結構而是可採用大量不同構象之多肽稱為非摺疊多肽。

「分離」多肽或其變體或衍生物欲指並不處於其天然環境中之多肽。並不需要特定程度之純化。舉例而言，分離多肽可自其原始或天然環境中取出。出於本發明目的，將表現於宿主細胞中之重組產生之多肽及蛋白質視為分離形式，如同藉由任一適宜技術分離、分級分離或部分地或實質上純化之原始或重組多肽。

對於參考多肽序列而言，「胺基酸序列一致性百分比(%)」定義為在比對序列並引入空位(若需要)以達到最大序列一致性百分比後候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致之胺基酸殘基的百分比，且不將任何保守取代視為序列一致性之一部分。出於測定胺基酸序列一致性百分比目的之比對可以熟習此項技術者所熟知之各種方式來達成，例如使用可公開獲得之電腦軟體，例如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign (DNASTAR)軟體。彼等熟習此項技術者可確定用於比對序列之適當參數，包含在所比較序列之全長範圍內達成最大比對所需要之任何算法。然而，對於本文目的而言，核酸序列一致性百分比值係使用序列比較電腦程式ALIGN-2來生成。ALIGN-2序列比較電腦程式係藉由Genentech公司編輯，且原始碼與用戶文件已一起編入美國版權局，Washington D.C., 20559，其中其以美國版權註冊號TXU510087註冊。ALIGN-2程式可通過Genentech公司，South San Francisco, California公開獲得，或可自原始碼編譯。所編譯ALIGN-2程式應適於在UNIX操作系統(包含數位UNIX V4.0D)上使用。所有序列比較參數皆由ALIGN-2程式設定且並不改變。當使用ALIGN-2進行胺基酸序列比較時，給定胺基酸序列A相對於(to)、與(with)或對(against)給定胺基酸序列B之胺基酸序列一致性百分比(另一選擇為，可表達為相對於、與或對給定胺基酸序列B給定胺基酸序列A所具有或包括之一定胺基酸序列一致性百分比)如下所述來計算：

100乘以分數X/Y

其中X係在A與B之程式比對中由序列比對程式ALIGN-2評定為一致性匹配之胺基酸殘基數，且其中Y係B中胺基酸殘基之總數。應瞭解，在胺基酸序列A之長度不等於胺基酸序列B之長度時，A相對於B之胺基酸序列一致性百分比不等於B相對於A之胺基酸序列一致性百分比。除非另外明確說明，否則本文所用之所有胺基酸序列一致性百分比值皆如前面緊接段落中所述使用ALIGN-2電腦程式來獲得。

術語「多核苷酸」係指分離核酸分子或構築體，例如信使RNA (mRNA)、病毒源性RNA或質粒DNA (pDNA)。多核苷酸可包括習用磷酸二酯鍵或非習用鍵(例如醯胺鍵，例如發現於肽核酸(PNA)中者)。術語「核酸分子」係指存在於多核苷酸中之任一或多個核酸區段，例如DNA或RNA片段。

「分離」核酸分子或多核苷酸欲指已自其原始環境取出之核酸分子、DNA或RNA。舉例而言，出於本發明目的，將載體中所含編碼治療性多肽之重組多核苷酸視為分離形式。經分離多核苷酸之其他實例包含維持於異源性宿主細胞中之重組多核苷酸或存於溶液中之純化(部分地或實質上)多核苷酸。經分離多核苷酸包含通常含有多核苷酸分子之細胞中所含之多核苷酸分子，但該多核苷酸分子存在於染色體外或存在於與其天然染色體位置不同之染色體位置處。分離RNA分子包含本發明之活體內或活體外RNA轉錄物、以及正鏈及負鏈形式及雙鏈形式。本發明之經分離多核苷酸或核酸進一步包含以合成方式產生之該等分子。此外，多核苷酸或核酸可為或可包含調節要素，例如啟動子、核糖體結合位點、或轉錄終止子。

具有與本發明參考核苷酸序列至少(例如)95%「一致」之核苷酸序列的核酸或多核苷酸欲指，除去按參考核苷酸序列之每100個核苷酸計該多核苷酸序列可包含至多5處點突變外，該多核苷酸之核苷酸序列與參考序列一致。換言之，為獲得具有與參考核苷酸序列至少

95%一致之核苷酸序列的多核苷酸，參考序列中至多有5%核苷酸可缺失或使用另一核苷酸取代，或可將數量為至多佔參考序列全部核苷酸5%之核苷酸插入參考序列中。參考序列之該等變化可發生在參考核苷酸序列之5'或3'末端位置或彼等末端位置間之任何地方，其個別地散佈於參考序列中之殘基中或散佈於參考序列內之一或多個鄰近基團中。作為實際情況，可使用已知電腦程式(例如上文針對多肽所論述者(例如ALIGN-2))按慣例確定任一特定多核苷酸分子序列與本發明核苷酸序列是否為至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

術語「表現序列盒」係指以重組或合成方式生成之具有一系列允許轉錄靶細胞中之特定核酸之指定核酸要素的多核苷酸。重組表現序列盒可納入質粒、染色體、線粒體DNA、質體DNA、病毒或核酸片段中。通常，表現載體之重組表現序列盒部分較其他序列尤其包含擬轉錄核酸序列及啟動子。在某些實施例中，本發明之表現序列盒包括編碼本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物或其片段之多核苷酸序列。

術語「載體」或「表現載體」與「表現構築體」同義，且係指用於引入在靶細胞中與其可操作關聯之特定基因並引導該特定基因之表現的DNA分子。該術語包含呈自我複製核酸結構形式之載體以及納入引入其之宿主細胞之基因組中的載體。本發明之表現載體包括表現序列盒。表現載體容許轉錄大量穩定mRNA。表現載體位於靶細胞內部後，藉由細胞轉錄及/或轉譯機制來產生由基因編碼之核糖核酸分子或蛋白質。在一實施例中，本發明之表現載體包括含有編碼本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物或其片段之多核苷酸序列的表現序列盒。

術語「人工」係指合成組合物、或衍生自非宿主細胞之組合

物，例如以化學方式合成之寡核苷酸。

術語「宿主細胞」、「宿主細胞系」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指引入外源性核酸之細胞(包含該等細胞之子代)。宿主細胞包含「轉化體」及「轉化細胞」，其包含原代轉化細胞及與傳代數量無關之自其衍生之子代。子代與親代細胞之核酸含量可能並不完全相同，但可含有突變。本文包含經篩選或選擇用於原始轉化細胞中之具有相同功能或生物活性的突變子代。

術語「抗體」在本文中係以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包含但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)及抗體片段，只要其展現期望抗原結合活性即可。

術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用，其係指具有實質上與原始抗體結構類似之結構或具有含有如本文所定義Fc區域之重鏈的抗體。

「抗體片段」係指除完整抗體外之分子，其包括完整抗體中結合完整抗體所結合之抗原的一部分。抗體片段之實例包含但不限於Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、雙特異性抗體、直鏈抗體、單鏈抗體分子(例如scFv)及自抗體片段形成之多特異性抗體。關於某些抗體片段之綜述，參見Hudson等人Nat Med 9, 129-134 (2003)。關於scFv片段之綜述，例如參見Plückthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies，第113卷，Rosenburg及Moore編輯，Springer-Verlag, New York，第269-315頁(1994)；亦參見WO 93/16185及美國專利第5,571,894號及第5,587,458號。關於包括補救受體結合表位殘基且具有增加之活體內半衰期之Fab及$F(ab')_2$片段的論述，參見美國專利第5,869,046號。雙鏈抗體係具有兩個抗原結合位點之可為二價或雙特異性之抗體片段。例如，參見EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人，Nat Med 9, 129-134 (2003)；及Hollinger等人，Proc.

Natl. Acad. Sci. USA 90, 6444-6448 (1993)。三鏈抗體及四鏈抗體亦闡述於Hudson等人，Nat Med 9, 129-134 (2003)中。可藉由各種技術來製備抗體片段，包含但不限於溶蛋白性消化完整抗體以及藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌(E. coli)或噬菌體)來產生，如本文所述。

術語「免疫球蛋白分子」係指具有天然存在之抗體結構之蛋白質。舉例而言，IgG類免疫球蛋白係約150,000道爾頓(dalton)之異源四聚體糖蛋白，其由二硫鍵鍵結之兩條輕鏈及兩條重鏈構成。自N末端至C末端，每一重鏈依次具有可變區域(VH)(亦稱為可變重鏈結構域或重鏈可變結構域)及三個恆定結構域(CH1、CH2及CH3，亦稱為重鏈恆定區域)。類似地，自N末端至C末端，每一輕鏈依次具有可變區域(VL)(亦稱為可變輕鏈結構域或輕鏈可變結構域)及恆定輕鏈(CL)結構域(亦稱為輕鏈恆定區域)。可將免疫球蛋白之重鏈指定為5個種類中之一者，稱為α型(IgA)、δ型(IgD)、ε型(IgE)、γ型(IgG)或μ型(IgM)，其中之一些可進一步分為亞類，例如γ_1型(IgG_1)、γ_2型(IgG_2)、γ_3型(IgG_3)、γ_4型(IgG_4)、α_1型(IgA_1)及α_2型(IgA_2)。基於免疫球蛋白之恆定結構域之胺基酸序列，可將該免疫球蛋白之輕鏈指定為兩個類型中之一者，稱為κ型及λ型。免疫球蛋白基本上由經由免疫球蛋白鉸鏈區域連接之兩個Fab分子及Fc結構域組成。

術語「抗原結合結構域」係指如下抗體部分：其包括特異性結合至抗原之一部分或全部並與之互補的區域。抗原結合結構域可藉由(例如)一或多個抗體可變結構域(亦稱為抗體可變區域)來提供。較佳地，抗原結合結構域包括抗體輕鏈可變區域(VL)及抗體重鏈可變區域(VH)。

術語「可變區域」或「可變結構域」係指抗體重鏈或輕鏈中參與使抗體與抗原結合之結構域。原始抗體之重鏈及輕鏈之可變結構域(分別係VH及VL)通常具有類似結構，其中每一結構域皆包括4個保守

框架區域(FR)及三個超變區域(HVR)。例如，參見Kindt等人，Kuby Immunology，第6版，W.H. Freeman and Co.，第91頁(2007)。單一VH或VL結構域可足以賦予抗原結合特異性。

本文所用之術語「超變區域」或「HVR」係指抗體可變結構域區域中序列具有超變性及/或形成結構上經界定之環(「超變環」)中的每一者。通常，原始四鏈抗體包括6個HVR；三個位於VH中(H1、H2、H3)，且三個位於VL中(L1、L2、L3)。HVR通常包括來自超變環及/或來自「互補決定區域」(CDR)之胺基酸殘基，後者具有最高序列可變性及/或涉及抗原識別。除VH中之CDR1外，CDR通常包括形成超變環之胺基酸殘基。超變區域(HVR)亦稱為「互補決定區域」(CDR)，且該等術語在本文中可互換用於提及可變區域中形成抗原結合區域之部分。此特定區域已由Kabat等人，U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983)及Chothia等人，J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)闡述，其中該等定義在彼此進行比較時包含胺基酸殘基之重疊或子集。然而，涉及抗體CDR或其變體之各定義的應用意欲涵蓋於本文所定義及使用之術語的範圍內。涵蓋由每一上述引用之參考文獻定義之CDR的適當胺基酸殘基以比較方式闡述於下表1中。涵蓋特定CDR之精確殘基數會隨CDR之序列及尺寸而改變。給定抗體可變區域胺基酸序列，彼等熟習此項技術者可以常規方式確定哪些殘基包括特定CDR。

表1.CDR定義[1]

CDR	Kabat	Chothia	AbM[2]
V_H CDR1	31-35	26-32	26-35
V_H CDR2	50-65	52-58	50-58
V_H CDR3	95-102	95-102	95-102
V_L CDR1	24-34	26-32	24-34
V_L CDR2	50-56	50-52	50-56
V_L CDR3	89-97	91-96	89-97

[1]表1中所有CDR定義之編號係根據Kabat等人(參見下文)所述編號規定

進行。
[2]如表1中所使用，具有小寫字母「b」之「AbM」係指由Oxford Molecular之「AbM」抗體模型構建軟體定義之CDR。

Kabat等人亦定義適用於任何抗體之用於可變區域序列之編號系統。熟習此項技術者可明確地將此「Kabat編號」系統指定給任何可變區域序列，除序列本身外不依賴於任何實驗數據。如本文所使用，「Kabat編號」係指Kabat等人，U.S. Dept. of Health and Human Services，「Sequence of Proteins of Immunological Interest」(1983)闡述之編號系統。除非另外指定，否則提及抗體可變區域中特定胺基酸殘基位置之編號係根據Kabat編號系統獲得。

序列表之多肽序列(亦即，SEQ ID NO: 23、25、27、29、31、33等)並不根據Kabat編號系統進行編號。然而，熟習此項技術者熟知將序列表之序列編號轉化成Kabat編號。

「框架」或「FR」係指除超變區域(HVR)殘基外之可變結構域殘基。可變結構域之FR通常由4個FR結構域：FR1、FR2、FR3及FR4組成。因此，HVR及FR序列通常出現於VH(或VL)中之下列序列中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

抗體「種類」係指重鏈所擁有之恆定結構域或恆定區域之類型。存在5大類抗體：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且該等種類中之若干種可進一步分成亞類(同種型)，例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1及IgA_2。對應於不同種類之免疫球蛋白之重鏈恆定結構域分別稱為α、δ、ε、γ及μ。

術語「Fc區域」在本文中用於定義免疫球蛋白重鏈中含有恆定區域之至少一部分的C-末端區域。該術語包含原始序列Fc區域及變體Fc區域。儘管IgG重鏈之Fc區域的邊界會稍有變化，但通常將人類IgG重鏈Fc區域定義為自Cys226、或自Pro230延伸至該重鏈之羧基末端。

然而，Fc區域之C-末端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。

「促進異源二聚化之修飾」係多肽(例如免疫球蛋白重鏈)之肽主鏈或轉譯後修飾中可減小或防止多肽與相同多肽締合形成同源二聚體之操作。本文所用之促進異源二聚化之修飾尤其包含對於期望形成二聚體之兩個多肽中之每一者作出的單獨修飾，其中該等修飾彼此互補以促進兩個多肽之締合。舉例而言，促進異源二聚化之修飾可改變期望形成二聚體之多肽中之一者或兩者的結構或電荷，從而使其分別以空間或靜電有利之方式進行締合。異源二聚化發生於兩個不同多肽之間，例如融合至重鏈中每一者之其他免疫偶聯物組份(例如IL-2多肽)並不相同之兩個免疫球蛋白重鏈。在本發明之免疫偶聯物中，促進異源二聚化之修飾存在於免疫球蛋白分子之重鏈、具體而言Fc結構域中。在一些實施例中，促進異源二聚化之修飾包括胺基酸突變，具體而言係胺基酸取代。在一特定實施例中，促進異源二聚化之修飾包括兩個免疫球蛋白重鏈中每一者中之單獨胺基酸突變，具體而言係胺基酸取代。

術語「效應子功能」在用於提及抗體時係指彼等歸因於抗體之Fc區域之生物活性，其隨抗體同種型而有所變化。抗體效應子功能之實例包含：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)、Fc受體結合、抗體依賴性細胞調介之細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)、細胞因子分泌、細胞表面受體(例如B細胞受體)之下調及B細胞活化。

「活化Fc受體」係在由抗體之Fc區域結合後引發刺激具有受體之細胞實施效應子功能之信號傳導事件的Fc受體。活化Fc受體包含FcγRIIIa (CD16a)、FcγRI (CD64)、FcγRIIa (CD32)及FcαRI (CD89)。

本文所用之術語「改造(engineer、engineered、engineering)」視為包含天然存在之多肽或重組多肽或其片段之肽主鏈或轉譯後修飾的

任一操作。改造包含胺基酸序列之修飾、糖基化型式之修飾或個別胺基酸之側鏈基團之修飾以及該等方式之組合。

本文所用之術語「免疫偶聯物」係指包含至少一個IL-2部分及至少一個抗原結合部分之多肽分子。在某些實施例中，免疫偶聯物包括至少一個IL-2部分及至少兩個抗原結合部分。本發明之特定免疫偶聯物基本上由藉由一或多個鏈接序列連結之一個IL-2部分與兩個抗原結合部分組成。抗原結合部分可藉由本文所述之各種相互作用及各種組態連結至IL-2部分。

本文所用之術語「對照抗原結合部分」係指游離於其他抗原結合部分及效應子部分存在之抗原結合部分。舉例而言，在比較本發明之Fab-IL2-Fab免疫偶聯物與對照抗原結合部分時，該對照抗原結合部分係游離Fab，其中該Fab-IL2-Fab免疫偶聯物及該游離Fab分子皆可特異性結合至相同抗原決定簇。

如本文所使用，關於抗原結合部分等之術語「第一」及「第二」用於便於區分一個以上之每一類部分。除非明確闡述，否則該等術語之應用並不意欲賦予免疫偶聯物之特定順序或取向。

藥劑之「有效量」係指在投與該藥劑之細胞或組織中產生生理學變化所需之量。

藥劑(例如，醫藥組合物)之「治療有效量」係指在所需時間內以所需劑量有效達成期望治療或預防結果之量。舉例而言，治療有效量之藥劑會消除、降低、延遲、最小化或防止疾病之不良效應。

「個體」(individual或subject)係哺乳動物。哺乳動物包含但不限於家養動物(例如，牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如，人類及非人類靈長類動物，例如猴子)、兔及齧齒類動物(例如，小鼠及大鼠)。較佳地，個體係人類。

術語「醫藥組合物」係指如下製劑：其呈現形式允許其中所含

活性成份之生物活性有效，且不含對投與該組合物之個體具有不可接受毒性的其他組份。

「醫藥上可接受之載劑」係指醫藥組合物中除活性成份外對個體無毒之成份。醫藥上可接受之載劑包含但不限於緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

如本文所使用，「治療」(及其語法變體，例如「treat」或「treating」)係指欲改變所治療個體之疾病之自然過程的臨床幹預，且可出於預防性目的或在臨床病理學過程期間實施。治療之期望效應包含但不限於防止疾病發生或復發、減輕症狀、減弱疾病之任何直接或間接病理結果、防止轉移、降低疾病進展速率、改善或緩和疾病狀態及緩解或改良預後。在一些實施例中，使用本發明抗體來延遲疾病發生或減緩疾病進展。

實施例之詳細闡述

本發明旨在提供具有用於免疫療法之改良性質的突變IL-2多肽。特定而言，本發明旨在消除IL-2之導致毒性但對於IL-2之效能而言並非必需之藥理學性質。如上所述，IL-2受體之不同形式係由不同亞單位組成且展現對於IL-2之不同親和力。由β受體亞單位及γ受體亞單位組成之中間親和力IL-2受體表現於靜止效應子細胞上且足以用於IL-2信號傳導。高親和力IL-2受體另外包括受體之α-亞單位，其主要表現於調節T (T_{reg})細胞以及活化效應子細胞上，其中其與IL-2結合可分別促進T_{reg}細胞調介之免疫阻抑或活化誘導之細胞死亡(AICD)。因此，不期望受限於理論，減小或消除IL-2對於IL-2受體之α-亞單位之親和力應會減少以下情形：藉由調節T細胞引起IL-2誘導之效應子細胞功能下調及藉由AICD過程產生腫瘤耐受性。另一方面，維持對於中間親和力IL-2受體之親和力應會保留藉由IL-2來誘導諸如NK細胞及T細胞等效應子細胞之增殖及活化。

業內已存在若干IL-2突變，然而，發明者已發現尤其適於賦予IL-2用於免疫療法之期望特性之IL-2多肽的新穎胺基酸突變及其組合。

在第一態樣中，本發明提供包括胺基酸突變之突變介白素-2 (IL-2)多肽，該胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力且保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力(各自皆與野生型IL-2多肽相比)。

對於CD25之親和力有所降低之人類IL-2 (hIL-2)突變可(例如)藉由胺基酸位置35、38、42、43、45或72或其組合處之胺基酸取代生成。實例性胺基酸取代包含K35E、K35A、R38A、R38E、R38N、R38F、R38S、R38L、R38G、R38Y、R38W、F42L、F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、K43E、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R、Y45K、L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。本發明之特定IL-2突變包括對應於人類IL-2之殘基42、45或72之胺基酸位置處之突變或其組合。該等突變對於中間親和力IL-2受體展現實質上類似之結合親和力，且對於IL-2受體之α-亞單位及高親和力IL-2受體具有實質上減小之親和力(與IL-2突變之野生型形式相比)。

有用突變之其他特性可包含能夠誘導具有IL-2受體之T及/或NK細胞之增殖，能夠誘導具有IL-2受體之T及/或NK細胞中之IL-2信號傳導，能夠藉由NK細胞生成作為二級細胞因子之干擾素(IFN)-γ，減小誘導藉由周邊血單核細胞(PBMC)產生二級細胞因子-尤其IL-10及TNF-α之能力，減小活化調節T細胞之能力，減小誘導T細胞中之細胞凋亡之能力，及減小活體內之毒性特徵。

在本發明之一實施例中，胺基酸突變(其消除或減小突變IL-2多

肽對於高親和力IL-2受體之親和力並保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力)位於對應於人類IL-2之殘基72之位置處。在一實施例中，該胺基酸突變係胺基酸取代。在一實施例中，該胺基酸取代係選自以下之群：L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。在一更具體實施例中，該胺基酸突變係胺基酸取代L72G。

在一特定態樣中，本發明提供包括第一及第二胺基酸突變之突變IL-2多肽，該第一及第二胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力並保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力。在一實施例中，該第一胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基72之位置處。在一實施例中，該第一胺基酸突變係胺基酸取代。在一具體實施例中，該第一胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。在一甚至更具體實施例中，該胺基酸取代係L72G。該第二胺基酸突變位於與該第一胺基酸突變不同之位置處。在一實施例中，該第二胺基酸突變位於選自對應於人類IL-2之殘基35、38、42、43及45之位置的位置處。在一實施例中，該第二胺基酸突變係胺基酸取代。在一具體實施例中，該胺基酸取代係選自以下之群：K35E、K35A、R38A、R38E、R38N、R38F、R38S、R38L、R38G、R38Y、R38W、F42L、F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、K43E、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R及Y45K。在一特定實施例中，該第二胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42或45之位置處。在一具體實施例中，該第二胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R及

Y45K。在一更具體實施例中，該第二胺基酸突變係胺基酸取代F42A或Y45A。在一更特定實施例中，該第二胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42之位置處。在一具體實施例中，該第二胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R及F42K。在一更具體實施例中，該胺基酸取代係F42A。在另一實施例中，該第二胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基45之位置處。在一具體實施例中，該第二胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R及Y45K。在一更具體實施例中，該胺基酸取代係Y45A。在某些實施例中，突變IL-2多肽包括第三胺基酸突變，該第三胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力並保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力(各自皆與野生型IL-2多肽相比)。該第三胺基酸突變位於與該第一及第二胺基酸突變不同之位置處。在一實施例中，該第三胺基酸突變位於選自對應於人類IL-2之殘基35、38、42、43及45之位置之位置處。在一較佳實施例中，該第三胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42或45之位置處。在一實施例中，該第三胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42之位置處。在另一實施例中，該第三胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基45之位置處。在一實施例中，該第三胺基酸突變係胺基酸取代。在一具體實施例中，該胺基酸取代係選自以下之群：K35E、K35A、R38A、R38E、R38N、R38F、R38S、R38L、R38G、R38Y、R38W、F42L、F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、K43E、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R及Y45K。在一更具體實施例中，該胺基酸取代係選自以下之群：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、Y45A、Y45G、Y45S、

Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R及Y45K。在一甚至更具體實施例中，該胺基酸取代係F42A或Y45A。在一實施例中，該胺基酸取代係F42A。在另一實施例中，該胺基酸取代係Y45A。在某些實施例中，突變IL-2多肽並不包括位於對應於人類IL-2之殘基38之位置處的胺基酸突變。

在本發明之一甚至更特定態樣中，提供包括三個胺基酸突變之突變IL-2多肽，該三個胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力但保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力。在一實施例中，該三個胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42、45及72之位置處。在一實施例中，該三個胺基酸突變係胺基酸取代。在一實施例中，該三個胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R、Y45K、L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。在一具體實施例中，該三個胺基酸突變係胺基酸取代F42A、Y45A及L72G。

在某些實施例中，該胺基酸突變可將突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力減小至先前之至少1/5，具體而言減小至先前之至少1/10，更具體而言減小至先前之至少1/25。在存在一個以上之胺基酸突變(其減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力)之實施例中，該等胺基酸突變之組合可將突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力減小至先前之至少1/30、至少1/50或甚至至少1/100。在一實施例中，該胺基酸突變或胺基酸突變之組合消除突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力，從而藉由下文所述之表面電漿共振檢測不到結合。

在IL-2突變展現其對於中間親和力IL-2受體之親和力比IL-2突變

之野生型形式高約70%時，達成對於中間親和力受體之實質上類似之結合，亦即保留突變IL-2多肽對於該受體之親和力。本發明之IL-2突變可展現大於約80%及甚至大於約90%之該親和力。

發明者發現，減小IL-2對於IL-2受體之α-亞單位之親和力以及消除IL-2之O-糖基化會產生具有改良性質的IL-2蛋白。舉例而言，在突變IL-2多肽表現於諸如CHO或HEK細胞等哺乳動物細胞中時，消除O-糖基化位點會產生更均質產物。

因此，在某些實施例中，本發明之突變IL-2多肽包括其他胺基酸突變，該其他胺基酸突變消除IL-2在對應於人類IL-2之殘基3之位置處之O-糖基化位點。在一實施例中，該其他胺基酸突變(其消除IL-2在對應於人類IL-2之殘基3之位置處之O-糖基化位點)係胺基酸取代。實例性胺基酸取代包含T3A、T3G、T3Q、T3E、T3N、T3D、T3R、T3K及T3P。在一具體實施例中，該其他胺基酸突變係胺基酸取代T3A。

在某些實施例中，突變IL-2多肽基本上係全長IL-2分子。在某些實施例中，突變IL-2多肽係人類IL-2分子。在一實施例中，突變IL-2多肽包括具有至少一個胺基酸突變之SEQ ID NO: 1之序列，與包括沒有該突變之SEQ ID NO: 1之IL-2多肽相比，該胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力但保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力。在另一實施例中，突變IL-2多肽包括具有至少一個胺基酸突變之SEQ ID NO: 3之序列，與包括沒有該突變之SEQ ID NO: 3之IL-2多肽相比，該胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力但保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力。

在一具體實施例中，突變IL-2多肽可引發選自由以下組成之群之細胞反應中之一或多者：活化T淋巴細胞中之增殖、活化T淋巴細胞

中之分化、細胞毒性T細胞(CTL)活性、活化B細胞中之增殖、活化B細胞中之分化、天然殺手(NK)細胞中之增殖、NK細胞中之分化、藉由活化T細胞或NK細胞進行之細胞因子分泌及NK/淋巴細胞活化之殺手細胞(LAK)抗腫瘤細胞毒性。

在一實施例中，與野生型IL-2多肽相比，突變IL-2多肽減小誘導調節T細胞中之IL-2信號傳導之能力。在一實施例中，與野生型IL-2多肽相比，突變IL-2多肽在T細胞中誘導較少活化誘導之細胞死亡(AICD)。在一實施例中，與野生型IL-2多肽相比，突變IL-2多肽具有減小之活體內毒性特徵。在一實施例中，與野生型IL-2多肽相比，突變IL-2多肽具有延長之血清半衰期。

本發明之特定突變IL-2多肽在對應於人類IL-2之殘基3、42、45及72之位置處包括4個胺基酸取代。特異性胺基酸取代係T3A、F42A、Y45A及L72G。如隨附實例中所示，該四重突變IL-2多肽展現以下特性：對於CD25並無可檢測結合，在T細胞中誘導細胞凋亡之能力有所減小，在T_{reg}細胞中誘導IL-2信號傳導之能力有所減小，且活體內毒性特徵有所減小。然而，其依然能夠活化效應子細胞中之IL-2信號傳導，誘導效應子細胞之增殖，及藉由NK細胞生成作為二級細胞因子之IFN-γ。

另外，如實例中所述，該突變IL-2多肽具有其他有利性質，例如減小之表面疏水性、良好穩定性及良好表現產量。出人意料地，與野生型IL-2相比，該突變IL-2多肽亦提供延長之血清半衰期。

本發明之IL-2突變除在IL-2中與CD25或糖基化位點形成IL-2界面之區域具有突變外，其亦可在該等區域外部之胺基酸序列中具有一或多個突變。人類IL-2中之該等其他突變可提供諸如增加之表現或穩定性等其他優點。舉例而言，位置125處之半胱胺酸可經中性胺基酸(例如絲胺酸、丙胺酸、蘇胺酸或纈胺酸)代替，從而分別得到C125S IL-

2、C125A IL-2、C125T IL-2或C125V IL-2，如美國專利第4,518,584號中所述。如其中所述，亦可缺失IL-2之N末端丙胺酸殘基以得到諸如des-A1 C125S或des-A1 C125A等突變。另一選擇為或連同一起，IL-2突變可包含如下突變：通常存在於野生型人類IL-2之位置104處之甲硫胺酸由諸如丙胺酸等中性胺基酸代替(參見美國專利第5,206,344號)。所得突變(例如，des-A1 M104A IL-2、des-A1 M104A C125S IL-2、M104A IL-2、M104A C125A IL-2、des-A1 M104A C125A IL-2或M104A C125S IL-2，該等突變及其他突變可參見美國專利第5,116,943號及Weiger等人，Eur J Biochem 180, 295-300 (1989))可連同本發明之特定IL-2突變一起使用。

因此，在某些實施例中，本發明之突變IL-2多肽在對應於人類IL-2之殘基125之位置處包括其他胺基酸突變。在一實施例中，該其他胺基酸突變係胺基酸取代C125A。

熟習此項技術者能夠確定可提供用於本發明目的之其他優點之其他突變。舉例而言，應瞭解，IL-2序列中減小或消除IL-2對於中間親和力IL-2受體之親和力之胺基酸突變(例如D20T、N88R或Q126D，例如參見US 2007/0036752)可能並不適於包含於本發明之突變IL-2多肽中。

在一實施例中，本發明之突變IL-2多肽包括選自以下之群之序列：SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 15及SEQ ID NO: 19。在一具體實施例中，本發明之突變IL-2多肽包括SEQ ID NO: 15或SEQ ID NO: 19之序列。在一甚至更具體實施例中，突變IL-2多肽包括SEQ ID NO: 19之序列。

本發明之突變IL-2多肽尤其用於諸如具有IL-2之免疫偶聯物等IL-2融合蛋白的情形中。該等融合蛋白包括融合至非IL-2部分之本發明之突變IL-2多肽。非IL-2部分可為合成或天然蛋白或其一部分或變

體。實例性非IL-2部分包含白蛋白或抗體結構域(例如免疫球蛋白之Fc結構域或抗原結合結構域)。

具有IL-2之免疫偶聯物係包括抗原結合部分及IL-2部分之融合蛋白。其藉由使IL-2(例如)直接靶向腫瘤微環境中來顯著增加IL-2療法之效能。根據本發明，抗原結合部分可為具有諸如抗原特異性結合親和力等生物功能之全抗體或免疫球蛋白或其一部分或變體。

免疫偶聯物療法之益處顯而易見。舉例而言，免疫偶聯物之抗原結合部分識別腫瘤特異性表位並使免疫偶聯物分子靶向腫瘤位點。因此，可將高濃度之IL-2遞送至腫瘤微環境中，由此使用較非偶聯IL-2所需低得多劑量之免疫偶聯物引起本文所述各種免疫效應子細胞之活化及增殖。另外，因施加呈免疫偶聯物形式之IL-2容許細胞因子本身之劑量較低，故限制了發生IL-2之不期望副作用之可能，且藉助免疫偶聯物使IL-2靶向機體中之特異性位點亦可減小全身性暴露並由此使得副作用小於使用非偶聯IL-2所獲得者。此外，與非偶聯IL-2相比免疫偶聯物之增加之循環半衰期有助於免疫偶聯物之效能。然而，IL-2免疫偶聯物之此特性可另外加重IL-2分子之潛在副作用：因相對於非偶聯IL-2，IL-2免疫偶聯物在血流中之循環半衰期顯著更長，故融合蛋白分子之IL-2或其他部分活化通常存在於脈管系統中之組份之可能性有所增加。相同關注問題亦適用於其他融合蛋白，該等其他融合蛋白含有融合至諸如Fc或白蛋白等另一部分之IL-2從而使得IL-2在循環中之半衰期有所延長。因此，包括本發明之突變IL-2多肽且與IL-2之野生型形式相比具有減小毒性之免疫偶聯物尤其有利。

因此，本發明進一步提供如上所述連接至至少一個非IL-2部分之突變IL-2多肽。在一實施例中，突變IL-2多肽及非IL-2部分形成融合蛋白，亦即突變IL-2多肽與非IL-2部分共用肽鍵。在一實施例中，突變IL-2多肽連接至第一及第二非IL-2部分。在一實施例中，突變IL-2

多肽與第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵，且第二抗原結合部分與i)突變IL-2多肽或ii)第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵。在一具體實施例中，突變IL-2多肽與該第一非IL-2部分共用羧基末端肽鍵且與該第二非IL-2部分共用胺基末端肽鍵。在一實施例中，該非IL-2部分係靶向部分。在一特定實施例中，該非IL-2部分係抗原結合部分(由此與突變IL-2多肽形成免疫偶聯物，如下文中更詳細闡述)。在某些實施例中，抗原結合部分係抗體或抗體片段。在一實施例中，抗原結合部分係全長抗體。在一實施例中，抗原結合部分係免疫球蛋白分子、尤其IgG種類免疫球蛋白分子、更特定而言IgG_1亞類免疫球蛋白分子。在一該實施例中，突變IL-2多肽與免疫球蛋白重鏈中之一者共用胺基末端肽鍵。在另一實施例中，抗原結合部分係抗體片段。在一些實施例中，該抗原結合部分包括抗體中包括抗體重鏈可變區域及抗體輕鏈可變區域之抗原結合結構域。在一更具體實施例中，抗原結合部分係Fab分子或scFv分子。在一特定實施例中，抗原結合部分係Fab分子。在另一實施例中，抗原結合部分係scFv分子。在一實施例中，該抗原結合部分針對呈現於腫瘤細胞或腫瘤細胞環境中之抗原。在一較佳實施例中，該抗原係選自以下之群：成纖維細胞活化蛋白(FAP)、腱糖蛋白-C之A1結構域(TNC A1)、腱糖蛋白-C之A2結構域(TNC A2)、纖維連接蛋白之額外結構域B (EDB)、癌胚抗原(CEA)及黑素瘤相關之硫酸軟骨素蛋白多糖(MCSP)。在突變IL-2多肽連接至一個以上之抗原結合部分(例如第一及第二抗原結合部分)之情形下，每一抗原結合部分皆可獨立地選自各種形式之抗體及抗體片段。舉例而言，第一抗原結合部分可為Fab分子且第二抗原結合部分可為scFv分子。在一具體實施例中，該第一及該第二抗原結合部分中之每一者皆係scFv分子或該第一及該第二抗原結合部分中之每一者皆係Fab分子。在一特定實施例中，該第一及該第二抗原結合部分中之

每一者皆係Fab分子。同樣，在突變IL-2多肽連接至一個以上之抗原結合部分(例如第一及第二抗原結合部分)之情形下，可獨立地選擇該等抗原結合部分中之每一者所針對之抗原。在一實施例中，該第一及該第二抗原結合部分針對不同抗原。在另一實施例中，該第一及該第二抗原結合部分針對相同抗原。如上所述，抗原尤其係呈現於腫瘤細胞或腫瘤細胞環境中之抗原，更特定而言係選自以下之群之抗原：成纖維細胞活化蛋白(FAP)、腱糖蛋白-C之A1結構域(TNC A1)、腱糖蛋白-C之A2結構域(TNC A2)、纖維連接蛋白之額外結構域B (EDB)、癌胚抗原(CEA)及黑素瘤相關之硫酸軟骨素蛋白多糖(MCSP)。抗原結合區可進一步單獨或組合納入本文所述與免疫偶聯物之抗原結合結構域有關之任一特徵。

免疫偶聯物

在一特定態樣中，本發明提供包括突變IL-2多肽(其包括一或多個胺基酸突變，該胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力並保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力)及至少一個抗原結合部分之免疫偶聯物。在本發明之一實施例中，胺基酸突變(其消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力並保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力)位於選自對應於人類IL-2之殘基42、45及72之位置的位置處。在一實施例中，該胺基酸突變係胺基酸取代。在一實施例中，該胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R、Y45K、L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K，更具體而言係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、Y45A及L72G。在一實施例中，胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基42之位置處。在一具體實施例

中，該胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R及F42。在一甚至更具體實施例中，該胺基酸取代係F42A。在另一實施例中，胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基45之位置處。在一具體實施例中，該胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R及Y45K。在一甚至更具體實施例中，該胺基酸取代係Y45A。在另一實施例中，胺基酸突變位於對應於人類IL-2之殘基72之位置處。在一具體實施例中，該胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。在一甚至更具體實施例中，該胺基酸取代係L72G。在某些實施例中，本發明之突變IL-2多肽在對應於人類IL-2之殘基38之位置處並不包括胺基酸突變。在一特定實施例中，包括於本發明之免疫偶聯物中之突變IL-2多肽至少包括第一及第二胺基酸突變，該第一及第二胺基酸突變消除或減小突變IL-2多肽對於IL-2受體之α-亞單位之親和力並保留突變IL-2多肽對於中間親和力IL-2受體之親和力。在一實施例中，該第一及第二胺基酸突變位於選自對應於人類IL-2之殘基42、45及72之位置之兩個位置處。在一實施例中，該第一及第二胺基酸突變係胺基酸取代。在一實施例中，該第一及第二胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、F42K、Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45R、Y45K、L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R及L72K。在一特定實施例中，該第一及第二胺基酸突變係選自以下之群之胺基酸取代：F42A、Y45A及L72G。突變IL-2多肽可進一步單獨或組合納入前文段落中所述與本發明之突變IL-2多肽有關之任一特徵。在一實施例中，該突變IL-2多肽與免疫偶聯物中所包

括之該抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵，亦即該免疫偶聯物係融合蛋白。在某些實施例中，該抗原結合部分係抗體或抗體片段。在一些實施例中，該抗原結合部分包括抗體中包括抗體重鏈可變區域及抗體輕鏈可變區域之抗原結合結構域。抗原結合區可單獨或組合納入上文或下文所述與抗原結合結構域有關之任一特徵。

免疫偶聯物格式

尤其適宜之免疫偶聯物格式闡述於PCT公開案第WO 2011/020783號中，其全部內容以引用方式併入本文中。該等免疫偶聯物包括至少兩個抗原結合結構域。因此，在一實施例中，本發明之免疫偶聯物包括至少本文所述之第一突變IL-2多肽及至少第一及第二抗原結合部分。在一特定實施例中，該第一及第二抗原結合部分獨立地選自由以下組成之群：Fv分子、尤其scFv分子及Fab分子。在一具體實施例中，該第一突變IL-2多肽與該第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵且該第二抗原結合部分與i) 第一突變IL-2多肽或ii) 第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵。在一特定實施例中，免疫偶聯物基本上由藉由一或多個鏈接序列連結之第一突變IL-2多肽與第一及第二抗原結合部分組成。該等格式之優點在於其以高親和力結合靶抗原(例如腫瘤抗原)，但僅係對於IL-2受體之單體結合，由此避免使免疫偶聯物靶向在除靶位點外之位置處之具有免疫細胞之IL-2受體。在一特定實施例中，第一突變IL-2多肽與第一抗原結合部分共用羧基末端肽鍵且進一步與第二抗原結合部分共用胺基末端肽鍵。在另一實施例中，第一抗原結合部分與第一突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，且進一步與第二抗原結合部分共用胺基末端肽鍵。在另一實施例中，第一抗原結合部分與第一突變IL-2多肽共用胺基末端肽鍵，且進一步與第二抗原結合部分共用羧基末端肽。在一特定實施例中，突變IL-2多肽與第一重鏈可變區域共用羧基末端肽鍵且進一步與第二重鏈可變區

域共用胺基末端肽鍵。在另一實施例中，突變IL-2多肽與第一輕鏈可變區域共用羧基末端肽鍵且進一步與第二輕鏈可變區域共用胺基末端肽鍵。在另一實施例中，第一重鏈或輕鏈可變區域藉由羧基末端肽鍵連結至第一突變IL-2多肽且進一步藉由胺基末端肽鍵連結至第二重鏈或輕鏈可變區域。在另一實施例中，第一重鏈或輕鏈可變區域藉由胺基末端肽鍵連結至第一突變IL-2多肽且進一步藉由羧基末端肽鍵連結至第二重鏈或輕鏈可變區域。在一實施例中，突變IL-2多肽與第一Fab重鏈或輕鏈共用羧基末端肽鍵且進一步與第二Fab重鏈或輕鏈共用胺基末端肽鍵。在另一實施例中，第一Fab重鏈或輕鏈與第一突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵且進一步與第二Fab重鏈或輕鏈共用胺基末端肽鍵。在其他實施例中，第一Fab重鏈或輕鏈與第一突變IL-2多肽共用胺基末端肽鍵且進一步與第二Fab重鏈或輕鏈共用羧基末端肽鍵。在一實施例中，免疫偶聯物至少包括如下第一突變IL-2多肽：其與一或多個scFv分子共用胺基末端肽鍵且進一步與一或多個scFv分子共用羧基末端肽鍵。

其他尤其適宜之免疫偶聯物格式包括免疫球蛋白分子作為抗原結合部分。在一該實施例中，免疫偶聯物包括至少一個本文所述之突變IL-2多肽及免疫球蛋白分子、尤其IgG分子、更特定而言IgG_1分子。在一實施例中，免疫偶聯物包括不超過一個突變IL-2多肽。在一實施例中，免疫球蛋白分子係人類免疫球蛋白分子。在一實施例中，突變IL-2多肽與免疫球蛋白分子共用胺基-或羧基末端肽鍵。在一實施例中，免疫偶聯物基本上由藉由一或多個鏈接序列連結之突變IL-2多肽及免疫球蛋白分子、尤其IgG分子、更特定而言IgG_1分子組成。在一具體實施例中，突變IL-2多肽在其胺基末端胺基酸處連結至免疫球蛋白重鏈中之一者之羧基末端胺基酸。在某些實施例中，免疫球蛋白分子在Fc結構域中包括兩個不同免疫球蛋白重鏈之促進異源二聚化

之修飾。人類IgG Fc結構域之兩個多肽鏈之間最廣泛蛋白質-蛋白質相互作用之位點位於Fc結構域的CH3結構域中。因此，在一實施例中，該修飾位於Fc結構域之CH3結構域中。在一具體實施例中，該修飾係凸起與孔洞(knob-into-hole)修飾，包括位於一個免疫球蛋白重鏈中之凸起修飾及位於另一免疫球蛋白重鏈中之孔洞修飾。凸起與孔洞技術闡述於(例如)US 5,731,168；US 7,695,936；Ridgway等人，Prot Eng 9, 617-621 (1996)及Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)中。通常，該方法涉及在第一多肽之界面處引入隆凸(「凸起」)且在第二多肽之界面處引入相應空腔(「孔洞」)，從而該隆凸可位於空腔中以促進異源二聚體形成並防止同源二聚體形成。藉由使用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)代替來自第一多肽界面之較小胺基酸側鏈來構築體隆凸。藉由使用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)代替較大胺基酸側鏈來在第二多肽之界面上產生尺寸與隆凸相同或類似之補償性空腔。隆凸及空腔可藉由改變編碼多肽之核酸(例如藉由位點特異性誘變或藉由肽合成)來製得。在一具體實施例中，凸起修飾在兩個免疫球蛋白重鏈中之一者中包括胺基酸取代T366W，且孔洞修飾在兩個免疫球蛋白重鏈中之另一者中包括胺基酸取代T366S、L368A及Y407V。在另一具體實施例中，包括凸起修飾之免疫球蛋白重鏈另外包括胺基酸取代S354C，且包括孔洞修飾之免疫球蛋白重鏈另外包括胺基酸取代Y349C。引入該兩個半胱胺酸殘基會在兩個重鏈之間形成二硫橋鍵，從而進一步穩定二聚體(Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001))。

在一特定實施例中，突變IL-2多肽連結至包括凸起修飾之免疫球蛋白重鏈之羧基末端胺基酸。

在一替代實施例中，兩個不同多肽鏈之促進異源二聚化之修飾包括調介靜電牽引效應之修飾，例如在PCT公開案WO 2009/089004中

所述。通常，此方法涉及藉由帶電胺基酸殘基代替兩個多肽鏈之界面處之一或多個胺基酸殘基，從而同源二聚體形成變得靜電不利而異源二聚化變得靜電有利。

Fc結構域賦予免疫偶聯物有利之藥物代謝動力學性質，包含長血清半衰期(其有助於在靶組織中充分積累)及有利之組織-血液分佈比率。然而，同時，其可引起免疫偶聯物針對表現Fc受體之細胞而非具有較佳抗原之細胞之不期望靶向。另外，共活化Fc受體信號傳導路徑可導致細胞因子釋放，此與免疫偶聯物之IL-2多肽及長半衰期一起引起細胞因子受體之過度活化並在全身性投與時引起嚴重副作用。與此情形一致，已闡述習用IgG-IL-2免疫偶聯物與輸注反應有關(例如，參見King等人，J Clin Oncol 22, 4463-4473 (2004))。

因此，在某些實施例中，本發明之免疫偶聯物中所包括之免疫球蛋白分子經改造以對於Fc受體具有減小之結合親和力。在一該實施例中，免疫球蛋白在其Fc結構域中包括一或多個減小免疫偶聯物對於Fc受體之結合親和力之胺基酸突變。通常，相同之一或多個胺基酸突變存在於兩個免疫球蛋白重鏈中之每一者中。在一實施例中，該胺基酸突變將免疫偶聯物對於Fc受體之結合親和力減小至先前之至少1/2、至少1/5或至少1/10。在存在一個以上減小免疫偶聯物對於Fc受體之結合親和力之胺基酸突變之實施例中，該等胺基酸突變之組合可將Fc結構域對於Fc受體之結合親和力減小至先前之至少1/10、至少1/20或甚至至少1/50。在一實施例中，與包括未改造免疫球蛋白分子之免疫偶聯物相比，包括改造免疫球蛋白分子之免疫偶聯物展現小於20%、尤其小於10%、更特定而言小於5%之對於Fc受體之結合親和力。在一實施例中，Fc受體係活化Fc受體。在一具體實施例中，Fc受體係Fcγ受體、更具體而言FcγRIIIa、FcγRI或FcγRIIa受體。較佳地，對於該等受體中之每一者之結合有所減小。在一些實施例中，對於補

體組份之結合親和力、對於C1q之特異性結合親和力亦有所減小。在一實施例中，對於新生Fc受體(FcRn)之結合親和力並不減小。在免疫球蛋白(或包括該免疫球蛋白之免疫偶聯物)展現非改造形式免疫球蛋白(或包括該非改造形式免疫球蛋白之免疫偶聯物)對於FcRn之結合親和力的大於約70%時，達成對於FcRn之實質上類似結合，亦即保留免疫球蛋白對於該受體之結合親和力。免疫球蛋白或包括該免疫球蛋白之免疫偶聯物可展現大於約80%及甚至大於約90%之該親和力。在一實施例中，胺基酸突變係胺基酸取代。在一實施例中，免疫球蛋白在免疫球蛋白重鏈之位置P329(Kabat編號)處包括胺基酸取代。在一更具體實施例中，胺基酸取代係P329A或P329G、尤其P329G。在一實施例中，免疫球蛋白在選自免疫球蛋白重鏈之S228、E233、L234、L235、N297及P331之位置處包括另一胺基酸取代。在一更具體實施例中，另一胺基酸取代係S228P、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D或P331S。在一特定實施例中，免疫球蛋白在免疫球蛋白重鏈之P329、L234及L235之位置處包括胺基酸取代。在一更特定實施例中，免疫球蛋白包括胺基酸突變L234A、L235A及P329G(LALA P329G)。胺基酸取代之此組合幾乎完全消除人類IgG分子之Fcγ受體結合，且由此降低包含抗體依賴性細胞調介之細胞毒性(ADCC)在內之效應子功能。

在某些實施例中，免疫偶聯物包括一或多個位於突變IL-2多肽與抗原結合部分之間之溶蛋白性裂解位點。

免疫偶聯物之組份(例如抗原結合部分及/或突變IL-2多肽)可直接連接或經由各種鏈接、尤其包括一或多個胺基酸、通常約2-20個胺基酸之肽鏈接連接，該等鏈接闡述於本文中或在業內已知。適宜之非免疫原性鏈接肽包含(例如)$(G4S)_n$、$(SG_4)_n$或$G_4(SG_4)_n$鏈接肽，其中n通常係介於1與10之間、通常介於2與4之間之數值。

抗原結合部分

本發明之免疫偶聯物之抗原結合部分通常係多肽分子，該多肽分子與特異性抗原決定簇結合且能夠使其所附接之實體(例如突變IL-2多肽或第二抗原結合部分)針對靶位點，例如針對特定類型之具有抗原決定簇之腫瘤細胞或腫瘤間質。免疫偶聯物可與發現於(例如)腫瘤細胞之表面上、病毒感染細胞之表面上、其他病變細胞之表面上、游離於血清中及/或細胞外基質(ECM)中之抗原決定簇結合。

腫瘤抗原之非限制性實例包含MAGE、MART-1/Melan-A、gp100、二肽基肽酶IV (DPPIV)、腺苷去胺酶結合蛋白(ADAbp)、親環素b、結腸直腸相關抗原(CRC)-C017-1A/GA733、癌胚抗原(CEA)及其免疫原性表位CAP-1及CAP-2、etv6、aml1、前列腺特異性抗原(PSA)及其免疫原性表位PSA-1、PSA-2及PSA-3、前列腺特異性膜抗原(PSMA)、T細胞受體/CD3-ζ鏈、腫瘤抗原之MAGE家族(例如，MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2(MAGE-B2)、MAGE-Xp3(MAGE-B3)、MAGE-Xp4(MAGE-B4)、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5)、腫瘤抗原之GAGE家族(例如，GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GAGE-9)、BAGE、RAGE、LAGE-1、NAG、GnT-V、MUM-1、CDK4、酪胺酸酶、p53、MUC家族、HER2/neu、p21ras、RCAS1、α-甲胎蛋白、E-鈣黏著素、α-連環蛋白、β-連環蛋白及γ-連環蛋白、p120ctn、gp100 Pmel117、PRAME、NY-ESO-1、cdc27、腺瘤性結腸息肉病蛋白(APC)、胞襯蛋白、連接蛋白37、獨特型Ig、p15、gp75、GM2及GD2神經節苷脂、病毒產物(例如人類乳頭瘤病毒蛋白)、腫瘤抗原之Smad家族、lmp-1、P1A、EBV編碼之核抗原(EBNA)-1、腦糖

原磷酸化酶、SSX-1、SSX-2 (HOM-MEL-40)、SSX-1、SSX-4、SSX-5、SCP-1及CT-7及c-erbB-2。

病毒抗原之非限制性實例包含流感病毒血凝素、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1(Epstein-Barr virus LMP-1)、C型肝炎病毒E2糖蛋白、HIV gp160及HIV gp120。

ECM抗原之非限制性實例包含共結合蛋白聚糖、類肝素酶、整合素、骨橋蛋白、連結物、鈣黏著素、層黏連蛋白、層黏連蛋白類型EGF、凝集素、纖維連接蛋白、諾池蛋白(notch)、腱糖蛋白及基質蛋白酶。

本發明之免疫偶聯物可與細胞表面抗原之下列特定非限制性實例結合：FAP、Her2、EGFR、IGF-1R、CD2(T細胞表面抗原)、CD3(與TCR有關之異源多聚體)、CD22(B細胞受體)、CD23(低親和力IgE受體)、CD30(細胞因子受體)、CD33(骨髓細胞表面抗原)、CD40(腫瘤壞死因子受體)、IL-6R(IL6受體)、CD20、MCSP及PDGFβR(β血小板源生長因子受體)。

在一實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個或更多個抗原結合部分，其中該等抗原結合部分中之每一者皆特異性結合至相同抗原決定簇。在另一實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個或更多個抗原結合部分，其中該等抗原結合部分中之每一者特異性結合至不同抗原決定簇。

抗原結合部分可為保留對於抗原決定簇之特異性結合之任一類抗體或其片段。抗體片段包含但不限於V_H片段、V_L片段、Fab片段、$F(ab')_2$片段、scFv片段、Fv片段、微抗體、雙抗體、三抗體及四抗體(例如，參見Hudson及Souriau，Nature Med 9, 129-134 (2003))。

尤其適宜之抗原結合部分闡述於PCT公開案第WO 2011/020783號中，其全部內容以引用方式併入本文中。

在一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個對於纖維連接蛋白之額外結構域B (EDB)具有特異性之抗原結合部分。在另一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個可與單株抗體L19競爭結合至EDB之表位之抗原結合部分。例如，參見PCT公開案WO 2007/128563 A1(其全部內容以引用方式併入本文中)。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中衍生自L19單株抗體之第一Fab重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與衍生自L19單株抗體之第二Fab重鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中衍生自L19單株抗體之第一Fab輕鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與衍生自L19單株抗體之第二Fab輕鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中衍生自L19單株抗體之第一scFv與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與衍生自L19單株抗體之第二scFv共用羧基末端肽鍵。

在一更具體實施例中，免疫偶聯物包括SEQ ID NO: 199或保留功能性之其變體之多肽序列。在另一實施例中，免疫偶聯物包括衍生自L19單株抗體之Fab輕鏈。在一更具體實施例中，免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 201或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一實施例中，免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 199及SEQ ID NO: 201或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，多肽(例如)由二硫鍵共價連接。

在一實施例中，本發明之免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個對於腱糖蛋白之A1結構域(TNC-A1)具有特異性之抗原結合部分。在另一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多

個可與單株抗體F16競爭結合至TNC-A1之表位之抗原結合部分。例如，參見PCT公開案WO 2007/128563 A1(其全部內容以引用方式併入本文中)。在一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個對於腱糖蛋白之A1及/或A4結構域(TNC-A1或TNC-A4或TNC-A1/A4)具有特異性之抗原結合部分。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於腱糖蛋白之A1結構域具有特異性之第一Fab重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於腱糖蛋白之A1結構域具有特異性之第二Fab重鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於腱糖蛋白之A1結構域具有特異性之第一Fab輕鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於腱糖蛋白之A1結構域具有特異性之第二Fab輕鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於腱糖蛋白之A1結構域具有特異性之第一scFv與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於腱糖蛋白之A1結構域具有特異性之第二scFv共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於TNC-A1具有特異性之免疫球蛋白重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵。

在一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 35或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之重鏈可變區域序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 31或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之輕鏈可變區域序列。在一更具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 35或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之重鏈可變區

域序列，且包括與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 31或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之輕鏈可變區域序列。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由與SEQ ID NO: 34或SEQ ID NO: 36至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由SEQ ID NO: 34或SEQ ID NO: 36之多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由與SEQ ID NO: 30或SEQ ID NO: 32至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由SEQ ID NO: 30或SEQ ID NO: 32之多核苷酸序列編碼。

在一具體實施例中，免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 203或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 205或SEQ ID NO: 215或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 207或SEQ ID NO: 237或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在一更具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 205及SEQ ID NO: 207或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 215及SEQ ID NO: 237或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、

95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。

在一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 204至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 204之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 206或SEQ ID NO: 216至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 206或SEQ ID NO: 216之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 208或SEQ ID NO: 238至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一實施例中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 208或SEQ ID NO: 238之多核苷酸序列編碼之多肽序列。

在一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個對於腱糖蛋白之A2結構域(TNC-A2)具有特異性之抗原結合部分。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於腱糖蛋白之A2結構域具有特異性之第一Fab重鏈與IL突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該IL突變IL-2多肽繼而與對於腱糖蛋白之A2結構域具有特異性之第二Fab重鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於腱糖蛋白之A2結構域具有特異性之第一Fab輕鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於腱糖蛋白之A2結構域具有特異性之第二Fab輕鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於TNC-A2具有特異性之免疫球蛋白重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵。

在一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與選自以

下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 159、SEQ ID NO: 163、SEQ ID NO: 167、SEQ ID NO: 171、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO: 179、SEQ ID NO: 183及SEQ ID NO: 187或保留功能性之其變體。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 157、SEQ ID NO: 161、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO: 169、SEQ ID NO: 173、SEQ ID NO: 177、SEQ ID NO: 181及SEQ ID NO: 185或保留功能性之其變體。在一更具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 159、SEQ ID NO: 163、SEQ ID NO: 167、SEQ ID NO: 171、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO: 179、SEQ ID NO: 183及SEQ ID NO: 187或保留功能性之其變體，且包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 157、SEQ ID NO: 161、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO: 169、SEQ ID NO: 173、SEQ ID NO: 177、SEQ ID NO: 181及SEQ ID NO: 185或保留功能性之其變體。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 160、SEQ ID NO: 164、SEQ ID NO: 168、SEQ ID NO: 172、SEQ ID NO: 176、SEQ ID NO: 180、SEQ ID NO: 184及SEQ ID NO: 188。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈

可變區域序列由選自以下之群的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 160、SEQ ID NO: 164、SEQ ID NO: 168、SEQ ID NO: 172、SEQ ID NO: 176、SEQ ID NO: 180、SEQ ID NO: 184及SEQ ID NO: 188。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 158、SEQ ID NO: 162、SEQ ID NO: 166、SEQ ID NO: 170、SEQ ID NO: 174、SEQ ID NO: 178、SEQ ID NO: 182及SEQ ID NO: 186。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由選自以下之群的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 158、SEQ ID NO: 162、SEQ ID NO: 166、SEQ ID NO: 170、SEQ ID NO: 174、SEQ ID NO: 178、SEQ ID NO: 182及SEQ ID NO: 186。

在一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列：SEQ ID NO: 241、SEQ ID NO: 243及SEQ ID NO: 245或保留功能性之其變體。在另一實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列：SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 249及SEQ ID NO: 251或保留功能性之其變體。在一更具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列：SEQ ID NO: 241、SEQ ID NO: 243及SEQ ID NO: 245或保留功能性之其變體，且包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列：SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 249及SEQ ID NO: 251或保留功能性之其變

體。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 241及SEQ ID NO: 249或SEQ ID NO: 251或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 243及SEQ ID NO: 247或SEQ ID NO: 249或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 245及SEQ ID NO: 247或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。

在一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 242、SEQ ID NO: 244及SEQ ID NO: 246。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由選自以下之群之多核苷酸序列編碼之多肽序列：SEQ ID NO: 242、SEQ ID NO: 244及SEQ ID NO: 246。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 250及SEQ ID NO: 252。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由選自以下之群之多核苷酸序列編碼之多肽序列：SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 250及SEQ ID NO: 252。

在一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個對於成纖維細胞活化蛋白(FAP)具有特異性之抗原結合部分。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於FAP具有特異性之第一Fab重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於FAP具有特異性之第二Fab重鏈共用羧基末端肽鍵。在另一

實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於FAP具有特異性之第一Fab輕鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於FAP具有特異性之第二Fab輕鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中FAP對於具有特異性之免疫球蛋白重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵。

在一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與選自由以下組成之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 111、SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 119、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 127、SEQ ID NO: 131、SEQ ID NO: 135、SEQ ID NO: 139、SEQ ID NO: 143、SEQ ID NO: 147、SEQ ID NO: 151及SEQ ID NO: 155或保留功能性之其變體。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與選自由以下組成之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 113、SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 121、SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 129、SEQ ID NO: 133、SEQ ID NO: 137、SEQ ID NO: 141、SEQ ID NO: 145、SEQ ID NO: 149及SEQ ID NO:

153或保留功能性之其變體。在一更具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與選自由以下組成之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 111、SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 119、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 127、SEQ ID NO: 131、SEQ ID NO: 135、SEQ ID NO: 139、SEQ ID NO: 143、SEQ ID NO: 147、SEQ ID NO: 151及SEQ ID NO: 155或保留功能性之其變體，且包括與選自由以下組成之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列：SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 113、SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 121、SEQ ID NO: 125、SEQ ID NO: 129、SEQ ID NO: 133、SEQ ID NO: 137、SEQ ID NO: 141、SEQ ID NO: 145、SEQ ID NO: 149及SEQ ID NO: 153或保留功能性之其變體。在一實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括SEQ ID NO: 41之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO: 39之輕鏈可變區域序列。在一實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括SEQ ID NO: 51之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO: 49之輕鏈可變區域序列。在一實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括SEQ ID NO: 111之重鏈可變區域

序列及SEQ ID NO: 109之輕鏈可變區域序列。在一實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括SEQ ID NO: 143之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO: 141之輕鏈可變區域序列。在一實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括SEQ ID NO: 151之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO: 149之輕鏈可變區域序列。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由與選自由以下組成之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 112、SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 120、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 128、SEQ ID NO: 132、SEQ ID NO: 136、SEQ ID NO: 140、SEQ ID NO: 144、SEQ ID NO: 148、SEQ ID NO: 152及SEQ ID NO: 156。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由選自由以下組成之群的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 112、SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 120、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 128、SEQ ID NO: 132、SEQ ID NO: 136、SEQ ID NO: 140、SEQ ID NO: 144、SEQ ID NO: 148、SEQ ID NO: 152及SEQ ID NO: 156。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序

列由與選自由以下組成之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 114、SEQ ID NO: 118、SEQ ID NO: 122、SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 130、SEQ ID NO: 134、SEQ ID NO: 138、SEQ ID NO: 142、SEQ ID NO: 146、SEQ ID NO: 150及SEQ ID NO: 154。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由選自由以下組成之群的多核苷酸序列編碼：SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 114、SEQ ID NO: 118、SEQ ID NO: 122、SEQ ID NO: 126、SEQ ID NO: 130、SEQ ID NO: 134、SEQ ID NO: 138、SEQ ID NO: 142、SEQ ID NO: 146、SEQ ID NO: 150及SEQ ID NO: 154。

在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列：SEQ ID NO: 209、SEQ ID NO: 211、SEQ ID NO: 213、SEQ ID NO: 217、SEQ ID NO: 219、SEQ ID NO: 221、SEQ ID NO: 223、SEQ ID NO: 225、SEQ ID NO: 227及SEQ ID NO: 229或保留功能性之其變體。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、

97%、98%、99%或100%一致的多肽序列：SEQ ID NO: 231、SEQ ID NO: 233、SEQ ID NO: 235及SEQ ID NO: 239或保留功能性之其變體。在一更具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 211或SEQ ID NO: 219或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列且包括與SEQ ID NO: 233或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列：SEQ ID NO: 209、 SEQ ID NO: 221、SEQ ID NO: 223、SEQ ID NO: 225、SEQ ID NO: 227及SEQ ID NO: 229或保留功能性之其變體，且包括與SEQ ID NO: 231或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 213及SEQ ID NO: 235或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 217及SEQ ID NO: 239或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 219及SEQ ID NO: 233或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 221及SEQ ID NO: 231或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 223及SEQ ID NO: 231或保

留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 225及SEQ ID NO: 231或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 227及SEQ ID NO: 231或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 229及SEQ ID NO: 231或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括兩個與SEQ ID NO: 211及SEQ ID NO: 233或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。

在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列：SEQ ID NO: 297、SEQ ID NO: 301及SEQ ID NO: 315或保留功能性之其變體。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列：SEQ ID NO: 299、SEQ ID NO: 303及SEQ ID NO: 317或保留功能性之其變體。在一更具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 297或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；與SEQ ID NO: 299或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；及與SEQ ID NO: 233或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致

之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 301或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；與SEQ ID NO: 303或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；及與SEQ ID NO: 231或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 315或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；與SEQ ID NO: 317或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；及與SEQ ID NO: 233或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 210、SEQ ID NO: 212、SEQ ID NO: 214、SEQ ID NO: 218、SEQ ID NO: 220、SEQ ID NO: 222、SEQ ID NO: 224、SEQ ID NO: 226、SEQ ID NO: 228及SEQ ID NO: 230。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由選自以下之群之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 210、SEQ ID NO: 212、SEQ ID NO: 214、SEQ ID NO: 218、SEQ ID NO: 220、SEQ ID NO: 222、SEQ ID NO: 224、SEQ ID NO: 226、SEQ ID NO: 228及SEQ ID NO: 230。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 232、SEQ ID NO: 234、SEQ ID NO: 236及SEQ ID NO: 240。在另一具體實施例中，免

疫偶聯物包括由選自以下之群之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 232、SEQ ID NO: 234、SEQ ID NO: 236及SEQ ID NO: 240。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 298、SEQ ID NO: 302及SEQ ID NO: 316。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由選自以下之群之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 298、SEQ ID NO: 302及SEQ ID NO: 316。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與選自以下之群之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 300、SEQ ID NO: 304及SEQ ID NO: 318。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由選自以下之群之多核苷酸序列編碼的多肽序列：SEQ ID NO: 300、SEQ ID NO: 304及SEQ ID NO: 318。

在一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個對於黑素瘤硫酸軟骨素蛋白多糖(MCSP)具有特異性之抗原結合部分。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於MCSP具有特異性之第一Fab重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於MCSP具有特異性之第二Fab重鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於MCSP具有特異性之第一Fab輕鏈與IL-2分子共用羧基末端肽鍵，該IL-2分子繼而與對於MCSP具有特異性之第二Fab輕鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於MCSP具有特異性之免疫球蛋白重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵。

在一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 189或SEQ ID NO: 193或保留功能性之其變體之序列至少約

80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 191或SEQ ID NO: 197或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列。在一更具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 189或SEQ ID NO: 193或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列，且包括與SEQ ID NO: 191或SEQ ID NO: 197或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列。在一更具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 189之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列，且包括與SEQ ID NO: 191之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 193之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列，且包括與SEQ ID NO: 191之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由與SEQ ID NO: 190或SEQ ID NO: 194之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由SEQ ID NO: 190或SEQ ID NO: 194之多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由與SEQ ID NO: 192或SEQ ID NO: 198之序列至少約80%、85%、

90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由SEQ ID NO: 192或SEQ ID NO: 198之多核苷酸序列編碼。

在一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 253或SEQ ID NO: 257或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與保留功能性之SEQ ID NO: 255或SEQ ID NO: 261或其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在一更具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 253或SEQ ID NO: 257或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列，且包括與SEQ ID NO: 255或SEQ ID NO: 261或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 253或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列，且包括與SEQ ID NO: 255或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 257或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列，且包括與SEQ ID NO: 255或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 254或SEQ ID NO: 258之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例

中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 254或SEQ ID NO: 258之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 256或SEQ ID NO: 262之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 256或SEQ ID NO: 262之多核苷酸序列編碼之多肽序列。

在一實施例中，免疫偶聯物包括至少一個、通常兩個或更多個對於癌胚抗原(CEA)具有特異性之抗原結合部分。

在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於CEA具有特異性之第一Fab重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於CEA具有特異性之第二Fab重鏈共用羧基末端肽鍵。在另一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於CEA具有特異性之第一Fab重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵，該突變IL-2多肽繼而與對於CEA具有特異性之第二Fab重鏈共用羧基末端肽鍵。在一實施例中，免疫偶聯物包括如下多肽序列：其中對於CEA具有特異性之免疫球蛋白重鏈與突變IL-2多肽共用羧基末端肽鍵。在一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 313或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 311或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列。在一更具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 313或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的重鏈可變區域序列，且包括與SEQ ID NO: 311或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、

95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的輕鏈可變區域序列。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由與SEQ ID NO: 314之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之重鏈可變區域序列由SEQ ID NO: 314的多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由與SEQ ID NO: 312之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多核苷酸序列編碼。在另一具體實施例中，免疫偶聯物之抗原結合部分之輕鏈可變區域序列由SEQ ID NO: 312的多核苷酸序列編碼。

在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 319或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 321或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列。在另一具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 323或保留功能性之其變體之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的多肽序列。在一更具體實施例中，本發明之免疫偶聯物包括與SEQ ID NO: 319或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；與SEQ ID NO: 321或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；及與SEQ ID NO: 323或保留功能性之其變體至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。

在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 320之序

列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 320之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 322之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 322之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由與SEQ ID NO: 324之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多核苷酸序列編碼之多肽序列。在另一具體實施例中，免疫偶聯物包括由SEQ ID NO: 324之多核苷酸序列編碼之多肽序列。

本發明之抗原結合部分包含彼等具有與SEQ ID NO 23-261(奇數)、297-303(奇數)、311及313(包含其功能片段或變體)中所示之肽序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之序列者。本發明亦涵蓋包括SEQ ID NO 23-261(奇數)、297-303(奇數)、311及313之序列且具有保守胺基酸取代之抗原結合部分。

多核苷酸

本發明進一步提供編碼本文所述之突變IL-2多肽或包括突變IL-2多肽之免疫偶聯物之經分離多核苷酸。

本發明之多核苷酸包含彼等與SEQ ID NO 2、4、5、6、8、9、10、12、13、14、16、17、18、20、21、22、24-262(奇數)、293-296及298-324(奇數)(包含其功能片段或變體)中所示之序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致者。

編碼未連接至非IL-2部分之突變IL-2多肽之多核苷酸通常表示為編碼整個多肽之單一多核苷酸。

在一實施例中，本發明係關於編碼突變IL-2多肽之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼SEQ ID NO: 7、11、15或19之突變IL-2序列之序列。本發明亦涵蓋編碼突變IL-2多肽之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼SEQ ID NO: 7、11、15或19之突變IL-2多肽且具有保守胺基酸取代之序列。

在另一實施例中，本發明係關於編碼突變IL-2多肽之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括與選自以下之群之核苷酸序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之序列：SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 293、SEQ ID NO: 294、SEQ ID NO: 295及SEQ ID NO: 296。在另一實施例中，本發明係關於編碼突變IL-2多肽之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括選自以下之群之核苷酸序列：SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 293、SEQ ID NO: 294、SEQ ID NO: 295及SEQ ID NO: 296。在另一實施例中，本發明係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括與選自以下之群之核苷酸序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之核酸序列：SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 293、SEQ ID NO: 294、SEQ ID NO: 295及SEQ ID NO: 296。在另一實施例中，本發明係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核

苷酸，其中該多核苷酸包括選自以下之群之核酸序列：SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 293、SEQ ID NO: 294、SEQ ID NO: 295及SEQ ID NO: 296。

本發明之編碼免疫偶聯物之多核苷酸可表示為編碼整個免疫偶聯物之單一多核苷酸或表示為多個(例如，兩個或更多個)共表現之多核苷酸。藉由共表現之多核苷酸編碼之多肽可經由(例如)二硫鍵或其他方式進行締合以形成功能免疫偶聯物。舉例而言，抗原結合部分之重鏈部分可由來自包括抗原結合部分之輕鏈部分及突變IL-2多肽之免疫偶聯物部分的單獨多核苷酸編碼。在共表現時，重鏈多肽與輕鏈多肽締合形成抗原結合部分。另一選擇為，在另一實例中，抗原結合部分之輕鏈部分可由與來自包括抗原結合部分之重鏈部分及突變IL-2多肽之免疫偶聯物部分的單獨多核苷酸編碼。在一實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼包括突變IL-2多肽及抗原結合部分之免疫偶聯物之片段。在一實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼抗原結合部分之重鏈及突變IL-2多肽。在另一實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼抗原結合部分之輕鏈及突變IL-2多肽。

在一具體實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼包括至少一個突變IL-2多肽及至少一個、較佳地兩個或更多個抗原結合部分之免疫偶聯物片段，其中第一突變IL-2多肽與第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵且第二抗原結合部分與第一突變IL-2多肽或第一抗原結合部分共用胺基-或羧基末端肽鍵。在一實施例中，抗原結合部分獨立地選自由以下組成之群：Fv分子、尤其scFv分子及Fab分子。在另一具體實施例中，多核苷酸編碼抗原結合部分中之兩者之重鏈及一個突變IL-2多肽。在另一具體實施例中，多核苷酸編碼抗原結合部

分中之兩者之輕鏈及一個突變IL-2多肽。在另一具體實施例中，多核苷酸編碼抗原結合部分中之一者之一個輕鏈、第二抗原結合部分之一個重鏈及一個突變IL-2多肽。

在另一具體實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼免疫偶聯物之片段，其中該多核苷酸編碼兩個Fab分子之重鏈及突變IL-2多肽。在另一具體實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼免疫偶聯物之片段，其中該多核苷酸編碼兩個Fab分子之輕鏈及突變IL-2多肽。在另一具體實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼免疫偶聯物之片段，其中該多核苷酸編碼一個Fab分子之重鏈、第二Fab分子之輕鏈及突變IL-2多肽。

在一實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼如下免疫偶聯物：其包括至少一個在其胺基-及羧基末端胺基酸處連結至一或多個scFv分子之突變IL-2多肽。

在一實施例中，本發明之經分離多核苷酸編碼免疫偶聯物之片段，其中該多核苷酸編碼免疫球蛋白分子、尤其IgG分子、更特定而言IgG_1分子之重鏈及突變IL-2多肽。在一更具體實施例中，經分離多核苷酸編碼免疫球蛋白分子之重鏈及突變IL-2多肽，其中該突變IL-2多肽與免疫球蛋白重鏈共用胺基末端肽鍵。

在另一實施例中，本發明係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼以下中所示之可變區域序列之序列：SEQ ID NO:23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、231、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161、163、165、167、169、171、

173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、311或313。在另一實施例中，本發明係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼以下中所示之多肽序列之序列：SEQ ID NO:199、201、203、205、207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、297、299、301、303、315、317、319、321或323。在另一實施例中，本發明進一步係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括與以下中所示之核苷酸序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之序列：SEQ ID NO:24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、202、204、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、250、252、254、256、258、260、262、298、300、302、304、312、314、316、318、320、322或324。在另一實施例中，本發明係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括以下中所示之核酸序列：SEQ ID NO:24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、

124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、202、204、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、250、252、254、256、258、260、262、298、300、302、304、312、314、316、318、320、322或324。在另一實施例中，本發明係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼與以下之胺基酸序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之可變區域序列之序列：SEQ ID NO:23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、231、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161、163、165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、311或313。在另一實施例中，本發明係關於編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼與以下之胺基酸序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之多肽序列之序列：SEQ ID NO:199、201、203、205、207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、297、299、301、303、315、317、319、321或323。本發明涵蓋編碼免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼以下之可變區域序列且具有保守胺基酸取代之序列：SEQ ID NO:23、25、27、29、31、

33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、231、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161、163、165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、311或313。本發明亦涵蓋編碼本發明之免疫偶聯物或其片段之經分離多核苷酸，其中該多核苷酸包括編碼以下之多肽序列且具有保守胺基酸取代之序列：SEQ ID NO: 199、201、203、205、207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、297、299、301、303、315、317、319、321或323。

在某些實施例中，多核苷酸或核酸係DNA。在其他實施例中，本發明之多核苷酸係(例如)呈信使RNA (mRNA)形式之RNA。本發明之RNA可為單鏈或雙鏈。

重組方法

本發明之突變IL-2多肽可藉由缺失、取代、插入或改良使用業內熟知之基因或化學方法製得。基因方法可包含編碼DNA序列之位點特異性誘變、PCR、基因合成及諸如此類。可(例如)藉由測序來證實正確之核苷酸變化。就此而言，原始IL-2之核苷酸序列已由Taniguchi等人進行闡述(Nature 302, 305-10 (1983))，且編碼人類IL-2之核酸可自公共存儲機構(例如美國典型培養物保藏中心(American Type Culture Collection)(Rockville MD))獲得。原始人類IL-2之序列展示於SEQ ID NO: 1中。取代或插入可涉及天然以及非天然胺基酸殘基。胺基酸改良包含化學改良之熟知方法，例如增加糖基化位點或碳水化合物附接

及諸如此類。

本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物可(例如)藉由固態肽合成或重組產生獲得。對於重組產生而言，將一或多個如上所述編碼該突變IL-2多肽或免疫偶聯物(片段)之多核苷酸分離並插入至一或多個載體中以在宿主細胞中進一步選殖及/或表現。可易於使用習用程序分離並測序該多核苷酸。在一實施例中，提供包括本發明之多核苷酸中之一或多者之載體、較佳地表現載體。可使用彼等熟習此項技術者熟知之方法構築體表現載體，該等表現載體含有突變IL-2多肽或免疫偶聯物(片段)之編碼序列以及適當轉錄/轉譯控制信號。該等方法包含活體外重組DNA技術、合成技術及活體內重組/基因重組。例如，參見闡述於以下文獻中之技術：Maniatis等人，MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989)；及Ausubel等人，CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y (1989)。表現載體可為質粒、病毒之一部分，或可為核酸片段。表現載體包含表現序列盒，在該表現序列盒中，編碼IL-2突變或免疫偶聯物(片段)之多核苷酸(亦即編碼區域)經選殖與啟動子及/或其他轉錄或轉譯控制要素可操作締合。如本文中所使用，「編碼區域」係由轉譯成胺基酸之密碼子組成之核酸部分。儘管「終止密碼子」(TAG、TGA或TAA)並不轉譯成胺基酸，但其可視為編碼區域之一部分(若存在)，但任一毗鄰序列(例如啟動子、核糖體結合位點、轉錄終止子、內含子、5'及3'非轉譯區域及諸如此類)並不編碼區域之一部分。兩個或更多個編碼區域可存在於單一多核苷酸構築體中(例如位於單一載體上)或單獨多核苷酸構築體中(例如位於單獨(不同)載體上)。另外，任一載體皆可含有單一編碼區域，或可包括兩個或更多個編碼區域，舉例而言，本發明之載體可編碼一或多個多蛋白，該一或多個多蛋白

以後轉譯或共轉譯方式經由溶蛋白性裂解分離成最終蛋白質。此外，本發明之載體、多核苷酸或核酸可編碼異源性編碼區域，該等異源性編碼區域融合或並不融合至編碼本發明之多肽或其變體或衍生物之第一或第二多核苷酸。異源性編碼區域包含但不限於特定要素或基序，例如分泌信號肽或異源性功能結構域。可操作締合係如下情形：以與基因產物之表現處於調節序列之影響或控制下之方式使用於基因產物之編碼區域(例如多肽)與一或多個調節序列進行締合。兩個DNA片段(例如多肽編碼區域及與其有關之啟動子)在以下情形下為「可操作締合」：誘導啟動子功能會引起編碼期望基因產物之mRNA之轉錄，且兩個DNA片段間之鏈接性質並不干擾表現調節序列引導基因產物表現之能力或干擾DNA模板轉錄之能力。因此，若啟動子能夠實現編碼多肽之核酸之轉錄，則啟動子區域與該核酸可操作地締合。啟動子可為僅在預定細胞中引導DNA之實質性轉錄之細胞特異性啟動子。除啟動子外，其他轉錄控制要素(例如增強子、操作子、抑制子及轉錄終止子信號)可與多核苷酸可操作地締合以引導細胞特異性轉錄。適宜啟動子及其他轉錄控制區域揭示於本文中。各種轉錄控制區域已為彼等熟習此項技術者所習知。該等轉錄控制區域包含但不限於在脊椎動物細胞中發揮作用之轉錄控制區域，例如但不限於來自巨細胞病毒(例如立即早期啟動子，與內含子-A連結)、猿猴病毒40(例如早期啟動子)及反轉錄病毒(例如Rous肉瘤病毒)之啟動子及增強子區段。其他轉錄控制區域包含彼等衍生自脊椎動物基因者(例如肌動蛋白、熱激蛋白、牛生長激素及兔β-珠蛋白)、以及能夠控制真核細胞中之基因表現之其他序列。其他適宜轉錄控制區域包含組織特異性啟動子及增強子以及誘導型啟動子(例如誘導型啟動子四環素)。類似地，各種轉譯控制要素已為彼等熟習此項技術者所習知。該等轉譯控制要素包含但不限於核糖體結合位點、轉譯起始及終止密碼子及衍生自病毒系統之

要素(尤其內核糖體進入位點或IRES，亦稱為CITE序列)。表現序列盒亦可包含其他特徵，例如複製起點及/或染色體整合要素(例如反轉錄病毒長末端重複(LTR)或腺相關病毒(AAV)反轉末端重複(ITR))。

本發明之多核苷酸及核酸編碼區域可與編碼分泌或信號肽(其引導由本發明之多核苷酸編碼之多肽之分泌)之其他編碼區域進行締合。舉例而言，若期望突變IL-2多肽之分泌，則可將編碼信號序列之DNA置於編碼突變IL-2之成熟胺基酸之核酸的上游。此同樣適用於本發明之免疫偶聯物或其片段。根據信號假說，由哺乳動物細胞分泌之蛋白質具有信號肽或分泌前導序列，一旦在粗糙內質網中輸出生長蛋白鏈，則該信號肽或分泌前導序列自成熟蛋白質發生裂解。彼等熟習此項技術者應瞭解，由脊椎動物細胞分泌之多肽通常具有融合至多肽之N-末端之信號肽，該信號肽自轉譯之多肽發生裂解而產生分泌或「成熟」形式之多肽。舉例而言，使用多肽之N-末端處之具有20個胺基酸之信號序列轉譯人類IL-2，該信號序列隨後裂解產生具有133個胺基酸之成熟人類IL-2。在某些實施例中，使用原始信號肽(例如IL-2信號肽或免疫球蛋白重鏈或輕鏈信號肽)，或使用依然能夠引導可操作地與該序列締合之多肽之分泌之該序列的功能衍生物。另一選擇為，可使用異源性哺乳動物信號肽或其功能衍生物。舉例而言，野生型前導序列可經人類組織纖維蛋白溶酶原激活劑(TPA)或小鼠β-葡萄糖苷酸酶之前導序列取代。分泌信號肽之實例性胺基酸及多核苷酸序列顯示於SEQ ID NO 236-273中。

在編碼多核苷酸之IL-2突變或免疫偶聯物(片段)之內部或末端處可包含編碼短蛋白質序列之DNA，該短蛋白質序列可用於促進後續純化(例如組胺酸標籤)或有助於標記IL-2突變或免疫偶聯物。

在另一實施例中，提供包括一或多個本發明之多核苷酸之宿主細胞。在某些實施例中，提供包括一或多個本發明之載體之宿主細

胞。多核苷酸及載體可單獨或組合納入本文所述分別與多核苷酸及載體有關之特徵中之任一者。在一該實施例中，宿主細胞包括(例如，已轉化或轉染)含有多核苷酸之載體，該多核苷酸編碼包括本發明中之突變IL-2多肽之胺基酸序列。本文所用之術語「宿主細胞」係指可經改造而生成本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物或其片段之任一類細胞系統。適於複製突變IL-2多肽或免疫偶聯物並支持其表現之宿主細胞已為業內所熟知。該等細胞可視需要經特定表現載體轉染或轉導，且可生長大量含有載體之細胞用於接種大規模發酵罐以獲得足量用於臨床應用之IL-2突變或免疫偶聯物。適宜宿主細胞包含原核微生物(例如大腸桿菌)或各種真核細胞(例如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)、昆蟲細胞或諸如此類)。舉例而言，多肽可在細菌中產生，尤其在不需要糖基化時。表現之後，可以可溶性部分形式自細菌細胞漿液分離多肽且可進一步純化。除原核生物外，真核微生物(例如絲狀真菌或酵母)係用於編碼多肽之載體之適宜選殖或表現宿主，包含糖基化路徑已進行「人類化」以產生具有部分地或完全人類糖基化型式之多肽之真菌及酵母菌株。參見Gerngross, Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004)及Li等人，Nat Biotech 24, 210-215 (2006)。用於表現(糖基化)多肽之適宜宿主細胞亦衍生自多細胞有機體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包含植物及昆蟲細胞。已鑑別出可連同昆蟲細胞一起使用、尤其用於轉染草地貪夜蛾(Spodoptera frugiperda)細胞之諸多杆狀病毒菌株。植物細胞培養物亦可用作宿主。例如，參見美國專利第5,959,177號、第6,040,498號、第6,420,548號、第7,125,978號及第6,417,429號(闡述用於在轉基因植物中產生抗體之PLANTIBODIES™技術)。脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，可使用適於在懸浮液中生長之哺乳動物細胞系。有用哺乳動物宿主細胞系之其他實例係經SV40 (COS-7)轉化之猴腎CV1細胞系、人類胚腎細胞系(293或293T

細胞，如(例如)Graham等人，J Gen Virol 36, 59 (1977)中所述)、幼倉鼠腎細胞(BHK)、小鼠支持細胞(TM4細胞，如(例如)Mather, Biol Reprod 23, 243-251 (1980)中所述)、猴腎細胞(CV1)、非洲綠猴腎細胞(VERO-76)、人類子宮頸上皮癌細胞(HELA)、犬腎細胞(MDCK)、布法羅大鼠(buffalo rat)肝細胞(BRL 3A)、人類肺細胞(W138)、人類肝細胞(Hep G2)、小鼠乳房腫瘤細胞(MMT 060562)、TRI細胞(如(例如)Mather等人，Annals N.Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982)中所述)、MRC 5細胞及FS4細胞。其他有用哺乳動物宿主細胞系包含中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包含dhfr$^-$ CHO細胞(Urlaub等人，Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980))；及骨髓瘤細胞系，例如YO、NS0、P3X63及Sp2/0。關於適於蛋白質產生之某些哺乳動物宿主細胞系之綜述，例如參見Yazaki及Wu，Methods in Molecular Biology，第248卷(B.K.C. Lo編輯，Humana Press, Totowa, NJ)，第255-268頁(2003)。宿主細胞包含培養細胞(僅舉幾個為例，例如哺乳動物培養細胞、酵母細胞、昆蟲細胞、細菌細胞及植物細胞)，但亦包含包括於轉基因動物、轉基因植物或培養植物或動物組織內之細胞。在一實施例中，宿主細胞係真核細胞、較佳地哺乳動物細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、人類胚胎腎(HEK)細胞或淋巴細胞(例如，Y0、NS0、Sp20細胞)。

業內已知在該等系統中表現外源基因之標準技術。表現融合至抗原結合結構域(例如抗體)之重鏈或輕鏈之突變-IL-2多肽之細胞可經改造以亦表現其他抗體鏈，從而表現之突變IL-2融合產物係具有重鏈及輕鏈之抗體。

在一實施例中，提供產生本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之方法，其中該方法包括在適於表現突變IL-2多肽或免疫偶聯物之條件下培養包括編碼本文所提供突變IL-2多肽或免疫偶聯物之多核苷酸之宿主細胞，及視需要自該宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收該突變IL-

2多肽或免疫偶聯物。

在本發明之某些實施例中，突變IL-2多肽連接至至少一個非IL-2部分。在突變IL-2多肽區段連接至一或多個諸如多肽、蛋白質、碳水化合物、脂質、核酸、多核苷酸等分子或該等分子之組合分子(例如糖蛋白、糖脂等)之情形下，可製得IL-2突變。突變IL-2多肽亦可連接至有機部分、無機部分或醫藥藥物。如本文所使用，醫藥藥物係含有約5,000道爾頓或更小分子量化合物之有機物。突變IL-2多肽亦可連接至包含治療化合物之任一生物藥劑，例如抗腫瘤劑、抗微生物劑、激素、免疫調節劑、抗發炎劑及諸如此類。亦包含放射性同位素，例如彼等用於成像以及用於療法者。

突變IL-2多肽亦可連接至多個相同類型分子或一種以上類型之分子。在某些實施例中，連接至IL-2之分子可賦予使IL-2靶向動物中之特定組織或細胞之能力，且在本文中稱為「靶向部分」。在該等實施例中，靶向部分可對於靶組織或細胞中之配體或受體具有親和力，由此將IL-2引導至靶組織或細胞。在一特定實施例中，靶向部分將IL-2引導至腫瘤。靶向部分包含(舉例而言)對於細胞表面或細胞內蛋白、生物受體之配體及諸如此類具有特異性之抗原結合部分(例如抗體及其片段)。該等抗原結合部分可對於腫瘤相關之抗原(例如本文所述者)具有特異性。

突變IL-2多肽可以基因方式融合至另一多肽(例如單鏈抗體或抗體重鏈或輕鏈(之一部分))，或可以化學方式偶聯至另一分子。突變IL-2多肽與抗體重鏈之一部分之融合闡述於實例中。可設計作為突變IL-2多肽與另一多肽間之融合體之IL-2突變，從而IL-2序列直接融合至多肽或經由鏈接序列間接融合至多肽。鏈接之組成長度可根據業內熟知之方法確定且可測試其效能。IL-2與抗體重鏈間之鏈接序列之實例可參見(例如)SEQ ID NO 209、211、213等中所示之序列。亦可包

含其他序列以納入裂解位點來分離融合體之個體組份(若需要)，例如內肽酶識別序列。此外，IL-2突變或其融合蛋白亦可以化學方式使用業內熟知之多肽合成方法來合成(例如Merrifield固相合成)。可使用熟知之化學偶聯方法以化學方式將突變IL-2多肽偶聯至其他分子(例如另一多肽)。業內熟知之雙功能交聯試劑(例如同源功能及異源功能交聯試劑)可用於此目的。所用交聯試劑之類型取決於擬偶合至IL-2之分子之性質且可易於由彼等熟習此項技術者鑑別。另一選擇為或此外，突變IL-2及/或其意欲偶聯之分子可以化學方式進行衍生從而二者可在業內亦熟知之單獨反應中進行偶聯。

在某些實施例中，突變IL-2多肽連接至一或多個至少包括能夠結合抗原決定簇之抗體可變區域之抗原結合部分(亦即免疫偶聯物之一部分)。可變區域可形成天然或非天然存在之抗體及其片段之一部分並衍生自該等天然或非天然存在之抗體及其片段。產生多株抗體及單株抗體之方法已為業內所熟知(例如，參見Harlow及Lane，「Antibodies, a laboratory manual」, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988)。非天然存在之抗體可使用固相肽合成來構築體，可以重組方式產生(例如，如美國專利第4,186,567號中所述)或可(例如)藉由篩選包括可變重鏈及可變輕鏈之組合文庫獲得(例如，參見頒予McCafferty之美國專利第5,969,108號)。免疫偶聯物、抗原結合部分及其產生方法亦詳細闡述於PCT公開案第WO 2011/020783號中，其全部內容以引用方式併入本文中。

抗體、抗體片段、抗原結合結構域或可變區域之任一動物物種皆可連接至突變IL-2多肽。用於本發明中之非限制性抗體、抗體片段、抗原結合結構域或可變區域可來自鼠類動物、靈長類動物或人類來源。若突變IL-2/抗體偶聯物或融合體意欲用於人類應用，則可使用嵌合形式之抗體，其中抗體之恆定區域來自人類。人類化或完全人類

形式之抗體亦可根據業內熟知之方法來製備(例如，參見頒予Winter之美國專利第5,565,332號)。可藉由各種方法來達成人類化，包含但不限於(a) 將非人類(例如，供體抗體)CDR接枝於保留或不保留關鍵性框架殘基之人類(例如接受者抗體)框架及恆定區域(例如彼等對於保留良好抗原結合親和力或抗體功能較為重要者)，(b) 僅將非人類特異性決定區域(SDR或a-CDR；對於抗體-抗原相互作用較為關鍵之殘基)接枝於人類框架及恆定區域上，或(c) 移植整個非人類可變結構域，但使用人類樣部分藉由代替表面殘基將其「覆蓋」。人類化抗體及其製備方法參見(例如)Almagro及Fransson，Front Biosci 13, 1619-1633 (2008)中，且進一步闡述於(例如)以下文獻中：Riechmann等人，Nature 332, 323-329 (1988)；Queen等人，Proc Natl Acad Sci USA 86, 10029-10033 (1989)；美國專利第5,821,337號、第7,527,791號、第6,982,321號及第7,087,409號；Jones等人，Nature 321, 522-525 (1986)；Morrison等人，Proc Natl Acad Sci 81, 6851-6855 (1984)；Morrison及Oi, Adv Immunol 44, 65-92 (1988)；Verhoeyen等人，Science 239, 1534-1536 (1988)；Padlan, Molec Immun 31(3), 169-217 (1994)；Kashmiri等人，Methods 36, 25-34 (2005)(闡述SDR (a-CDR)接枝)；Padlan, Mol Immunol 28, 489-498 (1991)(闡述「表面重修」)；Dall'Acqua等人，Methods 36, 43-60 (2005)(闡述「FR重排」)；及Osbourn等人，Methods 36, 61-68 (2005)及Klimka等人，Br J Cancer 83, 252-260 (2000)(闡述FR重排之「引導選擇」方式)。可使用業內已知之各種技術產生人類抗體及人類可變區域。人類抗體概述於van Dijk及van de Winkel，Curr Opin Pharmacol 5, 368-74 (2001)及Lonberg, Curr Opin Immunol 20, 450-459 (2008)中。人類可變區域可形成藉由雜交瘤方法製得之人類單株抗體之一部分並衍生自該人類單株抗體(例如，參見Monoclonal Antibody Production Techniques and

Applications，第51-63頁(Marcel Dekker公司，New York, 1987))。亦可藉由以下方式來製備人類抗體及人類可變區域：將免疫原投與已進行修飾而因應抗原激發產生具有人類可變區域之完整人類抗體或完整抗體之轉基因動物(例如，參見Lonberg, Nat Biotech 23, 1117-1125 (2005))。亦可藉由分離選自人類源噬菌體顯示文庫之Fv純系可變區域序列來生成人類抗體及人類可變區域(例如，參見Hoogenboom等人，Methods in Molecular Biology 178, 1-37 (O'Brien等人編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2001)；及McCafferty等人，Nature 348, 552-554；Clackson等人，Nature 352, 624-628 (1991))。噬菌體通常顯示呈單鏈Fv (scFv)片段或Fab片段形式之抗體片段。藉由噬菌體顯示製備用於免疫偶聯物之抗原結合部分之詳細闡述可參見PCT公開案第WO 2011/020783號所隨附的實例中。

在某些實施例中，根據(例如)PCT公開案第WO 2011/020783號(參見與親和力成熟相關之實例)或美國專利申請公開案第2004/0132066號(其全部內容以引用方式併入本文中)中所揭示之方法，改造用於本發明中之抗原結合部分以具有增強之結合親和力。可經由酶聯免疫吸附分析(ELISA)或熟習此項技術者熟知之其他技術(例如表面電漿共振技術(在BIACORE T100系統上分析)(Liljeblad等人，Glyco J 17, 323-329 (2000))及傳統結合分析(Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)))來量測本發明之免疫偶聯物結合特異性抗原決定簇之能力。可使用競爭分析鑑別與參考抗體競爭結合特定抗原之抗體、抗體片段、抗原結合結構域或可變結構域，例如與L19抗體競爭結合纖維連接蛋白之額外結構域B (EDB)之抗體。在某些實施例中，此一競爭抗體結合藉由參考抗體結合之相同表位(例如線性或構象表位)。定位抗體所結合之表位之詳細實例性方法提供於Morris (1996)「Epitope Mapping Protocols」，Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press,

Totowa, NJ)中。在實例性競爭分析中，將固定抗原(例如EDB)在如下溶液中培育：其包括結合抗原之第一標記抗體(例如L19抗體)及第二未標記抗體(測試其與第一抗體競爭結合抗原之能力)。第二抗體可存在於雜交瘤上清液中。作為對照，將固定抗原在包括第一標記抗體但並不包括第二未標記抗體之溶液中培育。在允許第一抗體與抗原結合之條件下培育之後，去除過量之未結合抗體，且量測與固定抗原締合之標記之量。若與固定抗原締合之標記之量相對於對照試樣在測試試樣中實質上有所減小，則此表明第二抗體與第一抗體競爭結合抗原。參見Harlow及Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor實驗室，Cold Spring Harbor, NY)。

可期望本發明之IL-2突變或免疫偶聯物之另一化學改良。舉例而言，可藉由偶聯至實質上直鏈聚合物(例如聚乙二醇(PEG)或聚丙二醇(PPG))來改良免疫原性及短半衰期之問題(例如，參見WO 87/00056)。

可藉由業內已知之技術來純化如本文所述製得之IL-2突變及免疫偶聯物，例如高效液相層析、離子交換層析、凝膠電泳、親和層析、尺寸排除層析及諸如此類。用於純化特定蛋白質之實際條件部分地取決於諸如靜電荷、疏水性、親水性等因素，且為彼等熟習此項技術者所易知。對於親和層析純化而言，可使用結合突變IL-2多肽或免疫偶聯物之抗體、配體、受體或抗原。舉例而言，可使用特異性結合突變IL-2多肽之抗體。對於本發明之免疫偶聯物之親和層析純化而言，可使用具有蛋白質A或蛋白質G之基質。舉例而言，可基本上如實例中所述連續使用蛋白質A或G親和層析及尺寸排除層析來分離免疫偶聯物。可藉由各種熟知分析方法中之任一者來測定突變IL-2多肽及其融合蛋白之純度，包含凝膠電泳、高壓液相層析及諸如此類。舉例而言，如實例中所述表現之重鏈融合蛋白展示為完整蛋白質並進行適當

組合，如藉由還原SDS-PAGE所示(例如，參見圖14)。兩個條帶係在大約Mr 25,000及Mr 60,000(對應於免疫球蛋白輕鏈及重鏈/IL-2融合蛋白之預計分子量)下拆分。

分析

可藉由業內已知之各種分析針對物理/化學性質及/或生物活性對本文所提供之突變IL-2多肽及免疫偶聯物進行鑑別、篩選或描述。

親和力分析

可根據實例中所示之方法藉由表面電漿共振(SPR)使用標準設備(例如BIAcore儀器(GE Healthcare))來測定突變或野生型IL-2多肽對於各種形式IL-2受體之親和力，且受體亞單位(例如)可藉由重組表現獲得(例如，參見Shanafelt等人，Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000))。可藉由將亞單位中之每一者融合至藉由凸起與孔洞技術修飾之抗體Fc結構域單體來生成重組IL-2受體β/γ-亞單位異源二聚體(例如，參見美國專利第5,731,168號)以促進適當受體亞單位/Fc融合蛋白之異源二聚化(參見SEQ ID NO 102及103)。另一選擇為，可使用已知表現一種受體形式或另一受體形式之細胞系評估IL-2突變對於不同形式IL-2受體之結合親和力。用於量測結合親和力之具體說明性及實例性實施例闡述於下文及下列實例中。根據一實施例，藉由表面電漿共振使用BIACORE® T100機器(GE Healthcare)在25℃下使用固定於CM5晶片上之IL-2受體來量測K_D。簡言之，根據供應商說明書，使用N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)來活化羧甲基化之右旋糖酐生物感測器晶片(CM5, GE Healthcare)。使用10 mM乙酸鈉(pH 5.5)將重組IL-2受體稀釋至0.5-30 μg/ml，然後以10 μl/分鐘之流速注射以達成大約200- 1000(對於IL-2Rα-亞單位而言)或500-3000(對於IL-2R βγ凸起與孔洞異源二聚體而言)反應單位(RU)之偶合蛋白。注射IL-2受體之後，注射1 M乙醇胺以封

阻未反應基團。對於動力學量測而言，在25℃下以大約30 μl/min之流速在HBS-EP+(GE Healthcare，10 mM HEPES，150 mM NaCl，3 mM EDTA，0.05%表面活性劑P20，pH 7.4)中注射突變IL-2多肽或免疫偶聯物之三倍連續稀釋液(介於約0.3 nM至300 nM之間)。使用簡單一對一Langmuir結合模型(BIACORE ® T100，評估軟體，版本1.1.1)藉由同時擬合締合及解離感測圖譜來計算締合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})。平衡解離常數(K_D)按比率k_{off}/k_{on}進行計算。例如，參見Chen等人，J. Mol Biol 293, 865-881 (1999)。

可容易地(例如)藉由ELISA或藉由表面電漿共振(SPR)使用標準設備(例如BIAcore儀器(GE Healthcare))來測定本發明之免疫偶聯物與Fc受體之結合，且Fc受體(例如)可藉由重組表現獲得。另一選擇為，可使用已知表現特定Fc受體之細胞系(例如表現FcγIIIa受體之NK細胞)來評估Fc結構域或包括Fc結構域之免疫偶聯物對於Fc受體之結合親和力。根據一實施例，藉由表面電漿共振使用BIACORE® T100機器(GE Healthcare)在25℃下使用固定於CM5晶片上之Fc受體來量測K_D。簡言之，根據供應商說明書，使用N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)來活化羧甲基化之右旋糖酐生物感測器晶片(CM5, GE Healthcare)。使用10 mM乙酸鈉(pH 5.5)將重組Fc受體稀釋至0.5-30 μg/ml，然後以10 μl/分鐘之流速注射以達成大約100-5000個反應單位(RU)之偶聯蛋白。注射Fc受體之後，注射1 M乙醇胺以封阻未反應基團。對於動力學量測而言，在25℃下以大約30-50 μl/min之流速在HBS-EP+(GE Healthcare，10 mM HEPES，150 mM NaCl，3 mM EDTA，0.05%表面活性劑P20，pH 7.4)中注射免疫偶聯物之三倍至五倍連續稀釋液(介於約0.01 nM至300 nM之間)。使用簡單一對一Langmuir結合模型(BIACORE ® T100，評估軟體，版本1.1.1)藉由同時擬合締合及解離感測圖譜來計算締合速

率(k_{on})及解離速率(k_{off})。平衡解離常數(K_D)按比率k_{off}/k_{on}進行計算。例如，參見Chen等人，J. Mol Biol 293, 865-881 (1999)。

活性分析

可藉由分析發生於受體結合下游之免疫活化之效應來間接量測IL-2突變結合IL-2受體之能力。

在一態樣中，提供鑑別具有生物活性之突變IL-2多肽之分析。生物活性可包含(例如)：能夠誘導具有IL-2受體之T及/或NK細胞之增殖，能夠誘導具有IL-2受體之T及/或NK細胞中之IL-2信號傳導，能夠藉由NK細胞生成作為二級細胞因子之干擾素(IFN)-γ，減小誘導藉由周邊血單核細胞(PBMC)產生二級細胞因子-尤其IL-10及TNF-α之能力，減小誘導T細胞中之細胞凋亡之能力，能夠誘導腫瘤消退及/或改良存活率，及減小活體內之毒性特徵、尤其減小血管滲透性。亦提供在活體內及/或在活體外具有該生物活性之突變IL-2多肽。

在某些實施例中，測試本發明之突變IL-2多肽之該生物活性。業內熟知測定IL-2之生物活性之各種方法，且許多該等方法之細節亦揭示於該等方法之隨附實例中。實例提供用於測試本發明之IL-2突變藉由NK細胞生成IFN-γ之能力之適宜分析。將培養之NK細胞與本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物一起培育，且隨後藉由ELISA量測培養基中之IFN-γ濃度。

IL-2誘導之信號傳導會誘導若干信號傳導路徑，且涉及JAK(Janus激酶)及STAT(信號轉導子及轉錄活化劑)信號傳導分子。IL-2與受體β-及γ-亞單位之相互作用引起受體及JAK1與JAK3之磷酸化，JAK1與JAK3分別與β-及γ亞單位有關。STAT5然後與磷酸化受體締合且本身在關鍵酪胺酸殘基上磷酸化。此導致STAT5與受體解離，STAT5發生二聚化且STAT5二聚體移位至細胞核，在此STAT5二聚體促進靶基因之轉錄。因此，可(例如)藉由量測STAT5之磷酸化來評價

突變IL-2多肽經由IL-2受體誘導信號傳導之能力。此方法之細節揭示於實例中。使用本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物處理PBMC且藉由流式細胞術測定磷酸化STAT5之含量。

可藉由以下方式來量測T細胞或NK細胞因應IL-2之增殖：將自血液分離之T細胞或NK細胞與本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物一起培育，隨後測定經處理細胞之裂解物中之ATP含量。在處理之前，可使用植物血球凝集素(PHA-M)預刺激T細胞。實例中所述之此分析容許靈敏地量化活細胞之數量，然而，業內已知多種適宜之替代分析(例如[^{3}H]-胸苷納入分析、Cell Titer Glo ATP分析、Alamar Blue分析、WST-1分析、MTT分析)。

用於測定T細胞之細胞凋亡及AICD之分析亦提供於實例中，其中在將T細胞與本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物一起培育之後使用誘導細胞凋亡之抗體處理T細胞，且藉由磷脂醯基絲胺酸/膜聯蛋白暴露之流式細胞術檢測來量化細胞凋亡性細胞。業內已知其他分析。

可在業內已知之各種動物腫瘤模型中評價突變IL-2對於腫瘤生長及存活率之效應。舉例而言，可將人類癌細胞系之異種移植物植入免疫缺陷型小鼠中，並使用本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物處理，如實例中所述。

可基於死亡率、生活觀察(不良效應之可見症狀，例如行為、體重、體溫)及臨床與解剖病理學(例如血液化學值量測及/或組織病理學分析)來測定本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物在活體內之毒性。

可在預處理血管滲透性動物模型中檢驗藉由使用IL-2進行處理誘導之血管滲透性。一般而言，將本發明之IL-2突變或免疫偶聯物投與適宜動物(例如小鼠)，且隨後向動物注射血管滲漏報導子分子，血管滲漏報導子分子自脈管系統之散佈反映了血管滲透性之程度。血管滲漏報導子分子較佳地足夠大以展現使用用於預處理之野生型形式IL-2

之滲透性。血管滲漏報導子分子之實例可為血清蛋白，例如白蛋白或免疫球蛋白。舉例而言，較佳地使用放射性同位素以可檢測方式標記血管滲漏報導子分子以促進分子組織分佈之定量測定。可針對各種內部身體器官(例如肝、肺及諸如此類)、以及腫瘤(包含異種移植之腫瘤)中之任一者中存在之血管來量測血管滲透性。肺係用於量測全長IL-2突變之血管滲透性之較佳器官。

組合物、調配物及投與途徑

在另一態樣中，本發明提供(例如)用於下文治療方法中之任一者之醫藥組合物，其包括本文所提供突變IL-2多肽或免疫偶聯物中之任一者。在一實施例中，醫藥組合物包括本文所提供突變IL-2多肽或免疫偶聯物中之任一者及醫藥上可接受之載劑。在另一實施例中，醫藥組合物包括本文所提供突變IL-2多肽或免疫偶聯物中之任一者及至少一種其他治療劑(例如，如下所述)。

進一步提供產生呈適於在活體內投與之形式之本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之方法，該方法包括(a) 獲得本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物，及(b) 將該突變IL-2多肽或免疫偶聯物與至少一種醫藥上可接受之載劑一起調配，藉此調配突變IL-2多肽或免疫偶聯物之製劑以用於在活體內投與。

本發明之醫藥組合物包括治療有效量之一或多種溶解或分散於醫藥上可接受之載劑中之突變IL-2多肽或免疫偶聯物。片語「醫藥或藥理學可接受」係指如下分子實體及組合物：在視需要投與諸如人類等動物時在所用劑量及濃度下通常對接受者無毒，亦即並不產生不良、過敏或其他不適反應。彼等熟習此項技術者根據本揭示內容已知含有至少一種突變IL-2多肽或免疫偶聯物及視需要其他活性成份之醫藥組合物之製備，如藉由Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，Mack Printing公司，1990(以引用方式併入本文中)所例示。另

外，對於動物(例如，人類)投與而言，應理解，製劑應符合FDA Office of Biological Standards或其他國家中之相應當局所需之無菌性、致熱原性、一般安全性及純度標準。較佳組合物係凍乾之調配物或水溶液。實例性IL-2組合物闡述於美國專利第4,604,377號及第4,766,106號中。本文所用之術語「醫藥上可接受之載劑」包含如熟習此項技術者已知之任一及所有溶劑、緩衝劑、分散介質、包衣、表面活性劑、抗氧化劑、防腐劑(例如，抗細菌劑、抗真菌劑)、等滲劑、吸收延遲劑、鹽、防腐劑、蛋白質、藥物、藥物穩定劑、聚合物、凝膠、黏合劑、賦形劑、崩解劑、潤滑劑、甜味劑、矯味劑、染料、該等類似材料及其組合(例如，參見Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，Mack Printing公司，1990，第1289-1329頁，其以引用方式併入本文中)。除任何與活性成份不相容之習用載劑外，本發明涵蓋其於治療或醫藥組合物中之用途。

端視組合物欲以固體、液體抑或氣溶膠形式投與、及組合物是否需要無菌來以注射形式用於該等投與途徑，組合物可包括不同類型之載劑。本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物(及任一其他治療劑)可以熟習此項技術者已知之以下方法投與：靜脈內、皮內、動脈內、腹膜腔內、病灶內、顱內、關節內、前列腺內、脾內、腎內、胸膜內、氣管內、鼻內、玻璃體內、陰道內、直腸內、瘤內、肌內、腹膜腔內、皮下、結膜下、胞膜內、經黏膜、心包內、臍內、眼內、經口、局部(topically、locally)、藉由吸入(例如氣溶膠吸入)、注射、輸注、連續輸注、直接局部灌注浸浴靶細胞、經由導管、經由灌洗、乳霜、脂質組合物(例如脂質體)或藉由其他方法或上述方法之任一組合(例如，參見Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，Mack Printing公司，1990，其以引用方式併入本文中)。非經腸投與、特定而言靜脈內注射最常用於投與諸如本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯

物等多肽分子。

非經腸組合物包含經設計用於藉由注射投與者，例如經皮下、皮內、病灶內、靜脈內、動脈內、肌內、鞘內或腹膜腔內注射。對於注射而言，本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物可調配在水溶液中，較佳調配在諸如漢克氏溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理鹽水緩衝劑等生理相容緩衝劑中。該溶液可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。或者，突變IL-2多肽及免疫偶聯物可呈粉末形式，在使用前使用適宜媒劑(例如滅菌無熱原水)構成。藉由將所需量之本發明之IL-2多肽或免疫偶聯物與(視需要)下文列示之各種其他成份一起納入適當溶劑中來製備滅菌可注射溶液。例如經由滅菌過濾膜過濾可輕易達成滅菌性。通常，分散液係由各種經滅菌活性成份納入含有基本分散介質及/或其他成份之滅菌媒劑中製備。在用於製備滅菌可注射溶液、懸浮液或乳液之滅菌粉末之情形，較佳製備方法為真空乾燥或冷凍乾燥技術，其由先前經滅菌過濾之液體介質產生活性成份及任何其他所欲成份之粉末。若需要，液體介質應經適當緩衝，且在注射之前先使用足夠鹽水或葡萄糖使液體稀釋劑成為等滲。組合物在製造及儲存條件下必須穩定，且必須防止諸如細菌及真菌等微生物之污染作用。應瞭解，內毒素污染應保持最小在安全量，例如小於0.5 ng/mg蛋白質。適宜醫藥上可接受之載劑包含(但不限於)：緩衝劑，例如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包含抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(例如氯化十八烷基二甲基苄基銨；氯化六甲雙銨(hexamethonium chloride)；氯化苄烷銨(benzalkonium chloride)；氯化苯銨松寧(benzethonium chloride)；苯酚；丁醇或苄醇；對羥基苯甲酸烷基酯，例如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，例如血清白蛋白、明

膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，例如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，例如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單糖、雙糖及其他碳水化合物，包含葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，例如EDTA；糖，例如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨醇；鹽形成抗衡離子，例如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子型表面活性劑，例如聚乙二醇(PEG)。水性注射懸浮液可含有增加懸浮液黏度之化合物，例如羧甲基纖維素鈉、山梨醇、右旋糖酐或諸如此類。視需要，懸浮液亦可含有適宜穩定劑或增加該等化合物溶解性之劑以能夠製備高濃度溶液。另外，該等活性化合物之懸浮液可製備成適宜之油性注射懸浮液。適宜之親脂性溶劑或媒劑包含脂肪油(例如芝麻油)或合成脂肪酸酯(例如油酸乙酯或甘油三酯)或脂質體。

活性成份可裝入分別(例如)藉由凝聚技術或藉由界面聚合製得之微膠囊中，例如，羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，此等系統呈膠體藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)或粗滴乳液形式。該等技術揭示於Remington's Pharmaceutical Sciences(第18版，Mack Printing公司，1990)中。可製備緩釋製劑。緩釋製劑之適宜實例包含含有多肽之固體疏水性聚合物之半滲透性基質，該等基質係呈成形物件形式，例如膜或微膠囊。在特定實施例中，可藉由在組合物中使用延遲吸收之藥劑(例如，單硬脂酸鋁、明膠或其組合)來延長吸收可注射組合物。

除上述組合物外，免疫偶聯物亦可調配成儲積製劑。該等長效調配物可藉由植入(例如，經皮下或肌內)或藉由肌內注射投與。因此，舉例而言，突變IL-2多肽及免疫偶聯物可使用適宜聚合或疏水性材料(例如作為存於可接受油中之乳液)或離子交換樹脂調配，或作為微溶衍生物(例如，微溶鹽)。

可藉助習用混合、溶解、乳化、囊封、包埋或凍乾過程來製造

包括本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物之醫藥組合物。醫藥組合物可以習用方式使用一或多種生理上可接受且有利於將蛋白質處理成可用於醫藥之製劑的載劑、稀釋劑、賦形劑或輔助劑加以調配。適當調配物端視所選投與途徑而定。

可將突變IL-2多肽及免疫偶聯物調配成游離酸或鹼、中性或鹽形式之組合物。醫藥上可接受之鹽係實質上維持游離酸或鹼之生物活性之鹽。該等鹽包含酸加成鹽，例如，彼等使用蛋白組合物之游離胺基形成者，或使用無機酸(例如，鹽酸或磷酸)或有機酸(例如，乙酸、草酸、酒石酸或苦杏仁酸)形成者。使用游離羧基形成之鹽亦可衍生自諸如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣或氫氧化鐵等無機鹼或諸如異丙胺、三甲胺、組胺酸或普魯卡因(procaine)等有機鹼。醫藥鹽往往較相應游離鹼形式更易溶於水性及其他質子溶劑中。

治療方法及組合物

本文所提供突變IL-2多肽及免疫偶聯物中之任一者皆可用於治療方法中。本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物可作為免疫治療劑(例如)用於治療癌症。

為用於治療方法中，以與良好醫學實踐一致之方式來調配、投用及投與本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物。在此方面，需考慮之因素包含所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個體患者之臨床病狀、病症起因、藥劑之遞送位點、投與方法、投與時間安排及從業醫師已知之其他因素。

本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物可用於治療刺激宿主之免疫系統有益之疾病狀態，尤其係期望增強細胞免疫反應之病狀。該等病狀可包含宿主免疫反應不足或缺失之疾病狀態。可投與本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之疾病狀態包括(例如)細胞免疫反應係用於特異性免疫性之關鍵機制的腫瘤或感染。可使用本發明之IL-2突變之具

體疾病狀態包含癌症(例如腎細胞上皮癌或黑素瘤)、具體而言HIV-陽性患者、免疫阻抑患者中之免疫缺陷、慢性感染及諸如此類。本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物可自身或以任一適宜醫藥組合物形式投與。

在一態樣中，提供本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物用作藥劑。在其他態樣中，提供本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物用於治療疾病。在某些實施例中，提供本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物用於治療方法中。在一個實施例中，本發明提供本文所述的突變IL-2多肽或免疫偶聯物用於治療有需要個體之疾病。在某些實施例中，本發明提供突變IL-2多肽或免疫偶聯物用於一種治療患有疾病之個體之方法，該方法包括向該個體投與治療有效量之突變IL-2多肽或免疫偶聯物。在某些實施例中，擬治療之疾病係增殖性病症。在一個較佳實施例中，該疾病係癌症。在某些實施例中，該方法進一步包括向該個體投與治療有效量之至少一種其他治療劑，例如抗癌劑，若擬治療之疾病係癌症。在其他實施例中，本發明提供突變IL-2多肽或免疫偶聯物用於刺激免疫系統。在某些實施例中，本發明提供突變IL-2多肽或免疫偶聯物用於一種刺激個體之免疫系統之方法，其包括向該個體投與有效量之突變IL-2多肽或免疫偶聯物以刺激免疫系統。根據上述實施例中之任一者，「個體」係哺乳動物，較佳係人類。根據上述實施例中之任一者，「刺激免疫系統」可包含以下之任一者或多者：普遍增加免疫功能、增加T細胞功能、增加B細胞功能、恢復淋巴細胞功能、增加IL-2受體之表現、增加T細胞反應性、增加天然殺手細胞活性或淋巴因子活化之殺手(LAK)細胞活性，及諸如此類。

在另一態樣中，本發明提供本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之用途，用於製造或製備治療有需要個體之疾病之藥劑。在一個實施例中，該藥劑用於一種治療疾病之方法，該方法包括向患有疾病之個

體投與治療有效量之該藥劑。在某些實施例中，擬治療之疾病係增殖性病症。在一個較佳實施例中，該疾病係癌症。在一個該實施例中，該方法進一步包括向該個體投與治療有效量之至少一種其他治療劑，例如抗癌劑，若擬治療之疾病係癌症。在另一實施例中，該藥劑用於刺激免疫系統。在另一實施例中，該藥劑用於一種刺激個體之免疫系統之方法中，該方法包括向該個體投與有效量之該藥劑以刺激免疫系統。根據上述實施例中之任一者，「個體」可為哺乳動物，較佳係人類。根據上述實施例中之任一者，「刺激免疫系統」可包含以下之任一者或多者：普遍增加免疫功能、增加T細胞功能、增加B細胞功能、恢復淋巴細胞功能、增加IL-2受體之表現、增加T細胞反應性、增加天然殺手細胞活性或淋巴因子活化之殺手(LAK)細胞活性，及諸如此類。

在另一態樣中，本發明提供治療個體之疾病之方法，該方法包括向該個體投與治療有效量之本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物。在一實施例中，向該個體投與組合物，該組合物包括呈醫藥上可接受之形式之本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物。在某些實施例中，擬治療疾病係增殖性病症。在一較佳實施例中，該疾病係癌症。在某些實施例中，該方法進一步包括向該個體投與治療有效量之至少一種其他治療劑(例如，若該擬治療疾病係癌症，則該其他治療劑為抗癌藥)。在另一態樣中，本發明提供刺激個體之免疫系統之方法，該方法包括向該個體投與有效量之突變IL-2多肽或免疫偶聯物以刺激免疫系統。根據上述實施例中之任一者，「個體」可為哺乳動物，較佳係人類。根據上述實施例中之任一者，「刺激免疫系統」可包含以下中之任一者或多者：普遍增加免疫功能、增加T細胞功能、增加B細胞功能、恢復淋巴細胞功能、增加IL-2受體之表現、增加T細胞反應性、增加天然殺手細胞活性或淋巴因子活化之殺手(LAK)細胞活性及

諸如此類。

應理解，可使用本發明之免疫偶聯物代替突變IL-2多肽或與該突變IL-2多肽一起來實施上述治療方法中之任一者。

在某些實施例中，擬治療疾病係增殖性病症，較佳係癌症。癌症之非限制性實例包含膀胱癌、腦癌、頭頸癌、胰腺癌、肺癌、乳癌、卵巢癌、子宮癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、食道癌、結腸癌、結腸直腸癌、直腸癌、胃癌、前列腺癌、血癌、皮膚癌、鱗狀細胞上皮癌、骨癌及腎癌。可使用本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物治療之其他細胞增殖病症包含但不限於位於以下中之贅瘤：腹部、骨、乳腺、消化系統、肝、胰腺、腹膜、內分泌腺(腎上腺、甲狀旁腺、垂體、睾丸、卵巢、胸腺、甲狀腺)、眼睛、頭頸部、神經系統(中樞及周圍)、淋巴系統、骨盆、皮膚、軟組織、脾、胸腔區及泌尿生殖系統。亦包含癌前期病狀或病變及癌症轉移。在某些實施例中，癌症選自由以下組成之群：腎細胞癌、皮膚癌、肺癌、結腸直腸癌、乳癌、腦癌、頭頸癌。類似地，亦可藉由本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物來治療其他細胞增殖病症。該等細胞增殖病症之實例包含但不限於高丙種球蛋白血症、淋巴組織增殖性病症、副蛋白血症、紫癜、結節病、賽雜瑞氏症候群(Sezary Syndrome)、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstron's Macroglobulinemia)、高歇氏病(Gaucher's Disease)、組織細胞增多病及位於上述列示之器官系統中之除贅瘤外之任何其他細胞增殖疾病。在另一實施例中，該疾病係關於自體免疫、移植排斥、創傷後免疫反應及感染性疾病(例如HIV)。更具體而言，突變IL-2多肽及免疫偶聯物可用於消除涉及免疫細胞介導之病症(包含淋巴瘤、自體免疫、移植排斥、移植物抗宿主疾病、缺血及中風)之細胞。熟習此項技術者易於認識到，在許多情形下，突變IL-2多肽或免疫偶聯物不能治癒疾病，而僅可提供部分益處。在一些實施例中，具

有一些益處之生理學變化亦視為治療有益。因此，在一些實施例中，突變IL-2多肽或免疫偶聯物之提供生理學變化之量視為「有效量」或「治療有效量」。需要治療之個體(subject、individual)或患者通常係哺乳動物，更具體而言係人類。

本發明之免疫偶聯物亦用作診斷試劑。可易於藉由使用對於IL-2多肽具有特異性之二級抗體來檢測免疫偶聯物與抗原決定簇之結合。在一實施例中，二級抗體及免疫偶聯物促進了免疫偶聯物與位於細胞或組織表面上之抗原決定簇之結合之檢測。

在一些實施例中，將有效量之本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物投與細胞。在其他實施例中，將治療有效量之本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物投與個體以用於治療疾病。

為預防或治療疾病，本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之適當劑量(在單獨使用或與一或多種其他治療劑組合使用時)取決於以下因素：擬治療疾病之類型、投與途徑、患者之體重、多肽類型(例如非偶聯IL-2或免疫偶聯物)、疾病之嚴重程度及病程、投與抗體係用於預防目的抑或治療目的、先前或同時之治療幹預、患者之臨床史及對於突變IL-2多肽或免疫偶聯物之反應及主治醫師之決定。。在任一情形下，負責投與之執業醫師將決定組合物中活性成份之濃度及用於各個體之適當劑量。本文涵蓋各種投藥方案，包含但不限於單一投與或在各個時間點多次投與、濃注投與及脈衝輸注。

非偶聯IL-2之單一投與可投與介於約50,000 IU/kg至約1,000,000 IU/kg之間或更高、更通常約600,000 IU/kg之IL-2。此可每天重複若干次(例如2-3次)並保持若干天(例如連續約3-5天)，且然後可在停藥期(例如，約7-14天)之後重複一或多次。因此，治療有效量可包括僅單一投與或在一定時間內之多個投與(例如在約10-20天時間內約20-30次個別投與，每次給予約600,000 IU/kg之IL-2)。在以免疫偶聯物之形式

投與時，治療有效之突變IL-2多肽可低於非偶聯突變IL-2多肽。

類似地，免疫偶聯物適於一次性地或經一系列治療投與患者。端視疾病之類型及嚴重程度而定，無論(例如)藉由一或多次分開投與抑或藉由連續輸注，投與患者之免疫偶聯物之初始候選劑量為約1 μg/kg至15 mg/kg(例如0.1 mg/kg-10 mg/kg)。端視上文所提及之因素而定，一種典型日劑量可介於約1 μg/kg至100 mg/kg之間或更高。經若干天或更長時間重複投與時，端視病狀而定，治療通常持續至對疾病症狀之期望阻抑出現為止。免疫偶聯物之一實例性劑量範圍為約0.005 mg/kg至約10 mg/kg。在其他非限制性實例中，每次投與之劑量亦可包括約1微克/kg/體重、約5微克/kg/體重、約10微克/kg/體重、約50微克/kg/體重、約100微克/kg/體重、約200微克/kg/體重、約350微克/kg/體重、約500微克/kg/體重、約1毫克/kg/體重、約5毫克/ kg/體重、約10毫克/kg/體重、約50毫克/kg/體重、約100毫克/kg/體重、約200毫克/kg/體重、約350毫克/kg/體重、約500毫克/kg/體重至約1000 mg/kg/體重或更高及其中衍生之任一範圍。在來自本文所列示數值之衍生範圍之非限制性實例中，基於上述數值，可投與約5 mg/kg/體重至約100 mg/kg/體重、約5微克/kg/體重至約500毫克/kg/體重等之範圍。因此，可向患者投與一或多個約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、5.0 mg/kg或10 mg/kg(或其任一組合)之劑量。可間歇性地投與該等劑量，例如每週或每三週(例如，從而患者接受約兩個至約二十個或(例如)約六個劑量之免疫偶聯物)。可先投與較高負荷劑量，隨後投與一或多個較低劑量。然而，可使用其它劑量方案。此療法之進展可藉由習用技術及分析容易地加以監測。

本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物通常以有效達成預期目的之量使用。為用於治療或預防病狀，本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物或其醫藥組合物應以治療有效量投與或應用。治療有效量之確定為

彼等熟習此項技術者所熟知，尤其可根據本文所提供之詳細揭示內容確定。

對於全身性投與而言，最初可自活體外分析(例如細胞培養物分析)來估計治療有效劑量。然後可將劑量調配用於動物模型中以達成循環濃度範圍，該循環濃度範圍包含在細胞培養物中測定之IC_{50}。該資訊可用於更準確地確定用於人類之劑量。

亦可自活體內數據(例如，動物模型)使用業內熟知之技術來估計初始劑量。熟習此項技術者可易於基於動物數據來優化在人類中之投與。

可個別地調節劑量量及間隔以提供足以維持治療效應之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之血漿濃度。用於藉由注射投與之常用患者劑量介於約0.1 mg/kg/日至50 mg/kg/日、通常約0.5 mg/kg/日至1 mg/kg/日之間。可藉由每天投與多個劑量來達成治療有效之血漿濃度。可(例如)藉由HPLC來量測血漿濃度。

在局部投與或選擇性攝取之情形下，免疫偶聯物之有效局部濃度可與血漿濃度無關。熟習此項技術者能夠無需過多實驗即優化治療有效之局部劑量。

本文所述突變IL-2多肽或免疫偶聯物之治療有效之劑量通常提供治療益處且不會引起實質性毒性。可藉由標準醫藥程序在細胞培養物或實驗動物中測定IL-2突變或免疫偶聯物之毒性及治療效能(例如，參見實例8及9)。可使用細胞培養分析及動物研究來測定LD_{50}(對50%群體致死之劑量)及ED_{50}(對50%群體治療有效之劑量)。毒性及治療效應之間之劑量比率即為治療指數，其可表示為比率LD_{50}/ED_{50}。展現較大治療指數之IL-2突變及免疫偶聯物較佳。在一實施例中，本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物展現較高治療指數。自細胞培養分析及動物研究獲得之數據可用於調配用於人類之劑量範圍。該劑量較佳地

在具有極低毒性或無毒性之循環濃度(包含ED_{50})的範圍內。該劑量端視例如以下各種要素可在此範圍內有所變化：所用劑型、所用投與途徑、個體之身體狀況及諸如此類。各醫師可根據患者病狀來選擇確切調配物、投與途徑及劑量。(例如，參見Fingl等人，1975，The Pharmacological Basis of Therapeutics，第1章第1頁，其全部內容以引用方式併入本文中)。

使用本發明之IL-2突變或免疫偶聯物治療患者之主治醫師知曉因毒性、器官功能障礙及諸如此類而終止、間斷或調節投與之方式及時間。反之，若臨床反應不夠(排除毒性)，則主治醫師亦應知曉調節治療至更高程度。在所關注病症之管控中所投與劑量之數量級應隨擬治療病狀之嚴重程度、投與途徑及諸如此類而有所變化。舉例而言，病狀之嚴重程度可部分地藉由標準預測評估方法來評估。另外，該劑量且(可能)劑量頻率亦應根據個體患者之年齡、體重及反應而有所變化。

突變IL-2多肽或包括該多肽之免疫偶聯物之最大治療劑可分別自彼等用於野生型IL-2或包括野生型IL-2之免疫偶聯物者有所增加。

其他藥劑及治療

本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物可與療法中之一或多種其他藥劑組合投與。舉例而言，本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物可與至少一種其他治療劑共投與。術語「治療劑」涵蓋投與用以治療需要治療之個體之症狀或疾病之任一藥劑。該其他治療劑可包括適用於所治療特定指徵之任一活性成份，較佳係彼等具有並不不利地彼此影響之互補活性者。在某些實施例中，其他治療劑係免疫調節藥劑、細胞生長抑制劑、細胞黏著之抑制劑、細胞毒性劑、細胞凋亡之活化劑或增加細胞對於細胞凋亡誘導劑之敏感性之藥劑。在一特定實施例中，其他治療劑係抗癌藥，例如微管破壞劑、抗代謝物、拓撲異構酶抑制

劑、DNA嵌入劑、烷基化劑、激素療法、激酶抑制劑、受體拮抗劑、腫瘤細胞凋亡之活化劑或抗血管生成劑。

該等其他藥劑適於以對欲達成目的有效之量以組合形式存在。該等其他藥劑之有效量取決於突變IL-2多肽或免疫偶聯物之量、病症或治療之類型及上文論述之其他因素。通常以與本文所述相同之劑量及投與途徑或以本文所述劑量之約1%至99%或以根據經驗/在臨床上確定為合適之任一劑量及任一途徑來使用突變IL-2多肽及免疫偶聯物。

上文提及之該等組合療法涵蓋組合投與(其中兩種或更多種治療劑包含於相同或分開之組合物中)及分開投與(在此情形下，本發明之突變IL-2多肽或免疫偶聯物之投與可在投與其他治療劑及/或佐劑之前、同時及/或之後進行)。本發明之突變IL-2多肽及免疫偶聯物亦可與放射療法組合使用。

製品

在本發明之另一態樣中，提供含有用於治療、預防及/或診斷上述病症之材料之製品。該製品包括容器及位於該容器上或與該容器相連之標記或包裝插頁。適宜容器包含(例如)瓶、小瓶、注射器、IV溶液袋等。該等容器可自各種材料(例如玻璃或塑膠)形成。該容器容納自身或與另一組合物組合時可有效治療、預防及/或診斷病狀之組合物，且可具有無菌存取通道(例如，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑係本發明之突變IL-2多肽。標記或包裝插頁指明該組合物係用於治療所選病狀。另外，該製品可包括(a) 含有組合物之第一容器，其中該組合物包括本發明之突變IL-2多肽；及(b) 含有組合物之第二容器，其中該組合物包括另一細胞毒性劑或其他治療劑。本發明之此實施例中之製品可進一步包括包裝插頁，該包裝插頁指明該組合物可用於治療

特定病狀。另一選擇為或另外，該製品可進一步包括第二(或第三)容器，該容器包括醫藥上可接受之緩衝液，例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液。其可進一步包含自商業及使用者角度考慮所期望之其他材料，包含其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

應理解，上述製品中之任一者可包含本發明之免疫偶聯物來代替或與突變IL-2多肽相組合。

實例

下文為本發明之方法及組合物之實例。應理解，考慮上文提供之一般說明，可實踐各種其他實施例。

實例1

一般方法

重組DNA技術

使用標準方法來處理DNA，如Sambrook等人，Molecular cloning: A laboratory manual；Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989中所述。根據製造商說明書來使用分子生物學試劑。關於人類免疫球蛋白輕鏈及重鏈之核苷酸序列之一般資訊在以下文獻中給出：Kabat, E.A.等人，(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，NIH公開案第91-3242號。

DNA測序

藉由雙鏈測序來測定DNA序列。

基因合成

所需之期望基因區段係藉由PCR使用適當模板來生成，或藉由Geneart AG(Regensburg，德國)、自合成寡核苷酸及PCR產物藉由自動基因合成來合成。在沒有精確基因序列可用之情形下，基於來自最近同源物之序列來設計寡核苷酸引物，且藉由RT-PCR自源自適當組

織之RNA來分離基因。singular將側接有獨特限制性內切酶裂解位點之基因區段選殖至標準選殖/測序載體中。自轉化之細菌純化質粒DNA並藉由UV光譜測定濃度。藉由DNA測序來證實亞選殖基因片段之DNA序列。使用適宜限制性位點來設計基因區段以容許亞選殖於各別表現載體中。所有構築體經設計具有編碼前導肽之5'-端DNA序列，該前導肽用於靶向真核細胞中進行分泌之蛋白質。SEQ ID NO 263-273給出實例性前導肽及編碼其之多核苷酸序列。

IL-2R βγ亞單位-Fc融合體及IL-2R α亞單位Fc融合體之製備

為研究IL-2受體結合親和力，生成表現異源二聚體IL-2受體之工具；使IL-2受體之β-亞單位融合至Fc分子，使用「凸起與孔洞」技術(Merchant等人，Nat Biotech.16, 677-681 (1998))改造該Fc分子以發生異源二聚合(Fc(孔洞))(參見SEQ ID NO 274及275)。然後使IL-2受體之γ-亞單位融合至Fc(凸起)變體(參見SEQ ID NO 276及277)，使該Fc(凸起)變體與Fc(孔洞)進行異源二聚合。然後使用此異源二聚體Fc-融合蛋白作為受質來分析IL-2/IL-2受體相互作用。將IL-2R α-亞單位表示為具有AcTev裂解位點及Avi His標籤之單體鏈(SEQ ID NO 278及279)。使各別IL-2R亞單位在具有血清(對於IL-2R βγ亞單位構築體而言)及無血清(對於α-亞單位構築體而言)之HEK EBNA 293中瞬時表現。在蛋白質A (GE Healthcare)中、隨後使用尺寸排除層析(GE Healthcare, Superdex 200)來純化IL-2R βγ亞單位構築體。經由His標籤在NiNTA管柱(Qiagen)上、隨後使用尺寸排除層析(GE Healthcare, Superdex 75)來純化IL-2R α-亞單位。

免疫偶聯物之製備

關於Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物之製備及純化(包含抗原結合部分之生成及親和力成熟)之細節可參見PCT公開案第WO 2011/020783號(其全部內容以引用方式併入本文中)之隨附實例。如其中所述，藉由噬

菌體顯示生成針對FAP之各種抗原結合結構域，包含下列實例中所用之表示為4G8、3F2、28H1、29B11、14B3及4B9者。純系28H1係基於親代純系4G8之親和力成熟抗體，而純系29B11、14B3及4B9係基於親代純系3F2之親和力成熟抗體。本文所用之表示為MHLG1 KV9之抗原結合結構域針對MCSP。

下列實例中所使用之包括野生型IL-2之免疫偶聯物之序列亦可參見PCT公開案第WO 2011/020783號。下列實例中所使用之對應於包括四重突變IL-2之免疫偶聯物之序列係：4G8：SEQ ID NO 211及233；3F2：SEQ ID NO 209及231；28H1：SEQ ID NO 219及233；29B11：SEQ ID NO 221及231；14B3：SEQ ID NO 229及231；4B9：SEQ ID NO 227及231；MHLG1-KV9：SEQ ID NO 253及255。藉由基因合成及/或典型分子生物學技術來生成DNA序列並選殖至哺乳動物表現載體(一個表現載體用於輕鏈/IL-2融合蛋白且一個表現載體用於重鏈/IL-2融合蛋白)中，使該等DNA序列處於MPSV啟動子之控制下並位於合成polyA位點上游，每一載體皆攜帶EBV OriP序列。藉由使用磷酸鈣轉染共轉染指數生長之HEK293-EBNA細胞與哺乳動物表現載體來產生應用於下文實例中之免疫偶聯物。另一選擇為，藉由聚乙烯亞胺(PEI)使用各別表現載體來轉染在懸浮液中生長之HEK293細胞。另一選擇為，將穩定轉染之CHO細胞池或CHO細胞純系用於無血清培養基中之產生。儘管可藉由親和層析使用蛋白質A基質來純化包括野生型或(四重)突變IL-2之基於4G8、靶向FAP之Fab-IL-2-Fab構築體，但藉由親和層析在蛋白質G基質上以小規模來純化親和力成熟之基於28H1、靶向FAP之Fab-IL-2-Fab構築體。

簡言之，藉由一個親和步驟(蛋白質G)、隨後使用尺寸排除層析(Superdex 200, GE Healthcare)自細胞上清液純化靶向FAP之28H1 Fab-IL-2-Fab(包括野生型或(四重)突變IL-2)。在20 mM磷酸鈉、20 mM檸

檸酸鈉(pH 7.5)中平衡蛋白質G管柱，裝載上清液，且使用20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)洗滌管柱。使用8.8 mM甲酸(pH 3)洗脫Fab-IL-2-Fab。彙集洗脫部分並藉由尺寸排除層析在以下最終調配物緩衝液中精製：25 mM磷酸鉀、125 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 6.7)。在下文中給出純化及分析之實例性結果。

藉由由使用蛋白質A之一個親和步驟、隨後使用尺寸排除層析(Superdex 200, GE Healthcare)組成之類似方法來純化靶向FAP之3F2 Fab-IL-2-Fab或4G8 Fab-IL-2-Fab(包括野生型或(四重)突變IL-2)。在20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)中平衡蛋白質A管柱，裝載上清液，且使用20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉、500 mM氯化鈉(pH 7.5)洗滌管柱，隨後使用13.3 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉、500 mM氯化鈉(pH 5.45)洗滌。視需要使用10 mM MES、50 mM氯化鈉(pH 5)實施第三洗滌。使用20 mM檸檬酸鈉、100 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 3)洗脫Fab-IL-2-Fab。彙集洗脫部分並藉由尺寸排除層析在以下最終調配物緩衝液中精製：25 mM磷酸鉀、125 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 6.7)。下文給出所選構築體之實例性詳細純化程序及結果。

基於FAP-抗體4G8、4B9及28H1來生成靶向FAP之IgG-IL-2 qm融合蛋白，其中一個單一IL-2四重突變(qm)融合至一個異源二聚體重鏈之C-末端，如圖1B中所展示。經由二價抗體Fab區域來靶向選擇性表現FAP之腫瘤間質(抗體親抗原性效應)。藉由應用凸起與孔洞技術來達成異源二聚化以使得存在單一IL-2四重突變。為將同源二聚體IgG-細胞因子融合體之生成降至最低，經由G_4-$(SG_4)_2$-或$(G_4S)_3$鏈接來將細胞因子融合至含有凸起之IgG重鏈之C-末端(其中缺失C-末端Lys殘基)。抗體-細胞因子融合體具有IgG樣性質。為減小FcγR結合/效應子功能並防止FcR共活化，將P329G L234A L235A (LALA)突變引入Fc結

構域中。該等免疫偶聯物之序列在以下中給出：SEQ ID NO 297、299及233 (28H1)；SEQ ID NO 301、303及231 (4B9)；及SEQ ID NO 315、317及233 (4G8)。此外，生成靶向CEA之IgG-IL-2 qm融合蛋白及對照DP47GS非靶向IgG-IL-2 qm融合蛋白(其中IgG並不與指定靶結合)。該等免疫偶聯物之序列在SEQ ID NO 305、307及309 (DP47GS)及SEQ ID NO 319、321及323 (CH1A1A)中給出。

藉由HEK293 EBNA細胞中之瞬時表現來生成IgG-IL-2構築體且基本上如上文針對Fab-IL-2-Fab構築體所述進行純化。簡言之，藉由在20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)中平衡之使用蛋白質A (HiTrap ProtA, GE Healthcare)之一個親和步驟來純化IgG-IL-2融合蛋白。裝載上清液之後，首先使用20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)洗滌管柱，且隨後使用13.3 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉、500 mM氯化鈉(pH 5.45)洗滌。使用20 mM檸檬酸鈉、100 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 3)洗脫IgG-細胞因子融合蛋白。中和該等部分並彙集，且藉由尺寸排除層析(HiLoad 16/60 Superdex 200, GE Healthcare)在最終調配物緩衝液：25 mM磷酸鉀、125 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 6.7)中純化。下文給出所選構築體之實例性詳細純化程序及結果。藉由使用根據胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下之光學密度(OD)來測定純化蛋白質試樣中之蛋白質濃度。藉由SDS-PAGE在存在及不存在還原劑(5 mM 1,4-二硫蘇糖醇)來分析免疫偶聯物之純度及分子量並使用考馬斯藍(Coomassie blue)(SimpleBlue™ SafeStain, Invitrogen)染色。根據製造商說明書使用NuPAGE® Pre-Cast凝膠系統(Invitrogen)(4-20% Tris-甘胺酸凝膠或3-12% Bis-Tris)。使用Superdex 200 10/300GL分析型尺寸排除管柱(GE Healthcare)在2 mM MOPS、150 mM NaCl、0.02% NaN_3之pH 7.3運行緩衝液中於25℃下分析免疫偶聯物試樣之聚集物含量。

FAP結合親和力

藉由表面電漿共振(SPR)在Biacore機器上來測定作為抗原結合部分用於該等實例中之裂解Fab片段之FAP結合活性。簡言之，將抗His抗體(Penta-His, Qiagen 34660)固定於CM5晶片上以捕獲10 nM人類、鼠類或短尾猴FAP-His (20 s)。溫度為25℃且使用HBS-EP作為緩衝液。Fab分析物濃度為自100 nM直至0.41 nM(一式兩份)且流速為50 µl/min(締合：300 s，解離：600 s (4B9, 14B3, 29B11, 3F2)或1200 s (28H1, 4G8)，再生：60 s，10 mM甘胺酸，pH 2)。基於1:1結合模型實施擬合，RI=0，Rmax=局部(因捕獲格式)。表2給出藉由SPR測得之單價親和力。

表2.藉由SPR測得之靶向FAP之Fab片段對於FAP之親和力(K_D)。

K_D，以nM表示	人類FAP	短尾猴FAP	鼠類FAP
4B9 Fab	0.3 0.31	0.23 0.24	5 5.2
14B3 Fab	0.47 0.47	0.61 0.59	4.7 4.7
29B11 Fab	0.19 0.19	0.21 0.2	1.3 1.2
3F2 Fab	6 6	4.7 5.3	8.9 9.5
28H1 Fab	2.6 2.6	3.7 3.7	0.13 0.18
4G8 Fab	53(48為穩態) 51(48為穩態)	33(33為穩態) 35(34為穩態)	0.07 0.07

使用靶向IL-2免疫偶聯物之生物活性分析

與市售IL-2(普留淨注射劑(Proleukin)，Novartis, Chiron)相比，在若干細胞分析中研究包括野生型或(四重)突變IL-2之靶向FAP或MCSP之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物及靶向FAP之IgG-IL-2免疫偶聯物的生物活性。

NK細胞之IFN-γ釋放(在溶液中)

將IL-2饑餓之NK92細胞(100000個細胞/孔，存於96-U孔板中)與不同濃度之IL-2免疫偶聯物(包括野生型或(四重)突變IL-2)在NK培養基(來自Invitrogen之補充有以下之MEMα(編號：22561-021)：10% FCS、10%馬血清、0.1 mM 2-巯基乙醇、0.2 mM肌醇及0.02 mM葉酸)中一起培育24 h。收穫上清液且使用來自Becton Dickinson之抗人類IFN-γ ELISA套組II(編號：550612)分析IFN-γ釋放。將普留淨注射劑(Novartis)用作細胞之IL-2調介之活化之陽性對照。

NK細胞增殖

將來自健康志願者之血液吸收於含有肝素之注射器中並分離PBMC。使用來自Miltenyi Biotec之人類NK細胞分離套組II(編號：130-091-152)自PBMC分離未受損人類NK細胞。藉由流式細胞術檢查細胞之CD25表現。對於增殖分析而言，將20000個分離之人類NK細胞在37℃、5% CO_2下於加濕培育器中在不同IL-2免疫偶聯物(包括野生型或(四重)突變IL-2)存在下培育2天。將普留淨注射劑(Novartis)用作對照。2天後，使用來自Promega之CellTiter-Glo發光細胞存活力分析(編號：G7571/2/3)量測細胞裂解物之ATP含量。計算生長之百分比，其中將最高普留淨注射劑濃度設定為100%增殖且將沒有IL-2刺激之未處理細胞設定為0%增殖。

STAT5磷酸化分析

將來自健康志願者之血液吸收於含有肝素之注射器中並分離PBMC。使用包括野生型或(四重)突變IL-2之IL-2免疫偶聯物在指定濃度下或使用普留淨注射劑(Novartis)作為對照來處理PBMC。在37℃下培育20 min後，使用預熱之Cytofix緩衝液(Becton Dickinson編號：554655)將PBMC在37℃下固定10 min，隨後使用Phosflow Perm緩衝液III(Becton Dickinson編號：558050)在4℃下透化30 min。使用含有

0.1% BSA之PBS將細胞洗滌兩次，然後使用流式細胞術抗體之混合物實施FACS染色以用於檢測不同細胞群體及STAT5之磷酸化。使用來自Becton Dickinson之具有HTS之FACSCantoII分析試樣。

將NK細胞定義為$CD3^-CD56^+$，將CD8陽性T細胞定義為$CD3^+CD8^+$，將CD4陽性T細胞定義為$CD4^+CD25^-CD127^+$且將T_{reg}細胞定義為$CD4^+CD25^+FoxP3^+$。

T細胞之增殖及AICD

將來自健康志願者之血液吸收於含有肝素之注射器中並分離PBMC。使用來自Miltenyi Biotec之Pan T細胞分離套組II(編號：130-091-156)分離未受損T細胞。使用1 μg/ml PHA-M(Sigma Aldrich編號：L8902)將T細胞預刺激16 h，然後再經5天向洗滌細胞中添加普留淨注射劑或包括野生型或(四重)突變IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物。5天後，使用來自Promega之CellTiter-Glo發光細胞存活力分析(編號：G7571/2/3)量測細胞裂解物之ATP含量。計算相對增殖，其中將最高普留淨注射劑濃度設定為100%增殖。

藉由膜聯蛋白V(Annexin-V-FLUOS染色套組，Roche Applied Science)及碘化丙錠(PI)染色細胞之流式細胞術分析(FACSCantoII, BD Biosciences)來分析T細胞之磷脂醯絲胺酸(PS)暴露及細胞死亡。為誘導活化誘導之細胞死亡(AICD)，在16 h PHA-M及5天Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物處理之後，使用誘導細胞凋亡之抗Fas抗體(Millipore clone Ch11)將T細胞處理16 h。根據製造商說明書實施膜聯蛋白V染色。簡言之，使用結合之Ann-V緩衝液(1x儲備液：0.01 M Hepes/NaOH pH 7.4, 0.14 M NaCl, 2.5 mM $CaCl_2$)洗滌細胞並在室溫下於黑暗中使用Annexin V FITC (Roche)染色15 min。在結合Ann-V之緩衝液中再次洗滌細胞，然後添加含有PI (0.3 μg/ml)之200 μl/孔結合Ann-V之緩衝液。立即藉由流式細胞術分析細胞。

與表現FAP之細胞之結合

藉由FACS量測靶向FAP之IgG-IL-2 qm及Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物與表現於穩定轉染HEK293細胞上之人類FAP之結合。簡言之，將250 000個細胞/孔與指定濃度之免疫偶聯物在4℃下於圓底96-孔板中一起培育30 min，並使用PBS/0.1% BSA洗滌一次。在4℃下培育30 min之後，利用與FITC偶聯之山羊抗人類F(ab')2特異性AffiniPure F(ab')2片段(Jackson Immuno Research實驗室，編號：109-096-097，工作溶液：1:20，稀釋於PBS/0.1% BSA中，新製)使用FACS CantoII(FACS Diva軟體)檢測結合之免疫偶聯物。

藉由FACS對於結合時FAP內在化之分析

對於業內已知之若干FAP抗體而言，將其闡述為可在結合時誘導FAP內在化(例如在以下文獻中所述：Baum等人，J Drug Target 15, 399-406 (2007)；Bauer等人，Journal of Clinical Oncology, 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings(會後版本)，第28卷(5月20日之增刊)，摘要編號：13062 (2010)；Ostermann等人，Clin Cancer Res 14, 4584-4592 (2008))。因此，分析Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物之內在化性質。簡言之，將在具有15% FCS之EMEM培養基中培養之GM05389細胞(人類肺成纖維細胞)分離，洗滌，計數，檢查存活力並以$2x10^5$個細胞/孔之密度接種於12-孔板中。第二天，在冷培養基中稀釋靶向FAP之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物並使其在冰上經30 min結合至細胞表面。使用冷PBS洗滌掉過量之未結合抗體，且將細胞進一步在37℃下於0.5 ml完全預熱培養基中培育指定時間。在達到不同時間點時，將細胞轉移至冰上，使用冷PBS洗滌一次並與二級抗體(與FITC偶聯之山羊抗人類F(ab')2特異性AffiniPure F(ab')2片段，Jackson Immuno Research實驗室編號：109-096-097，1:20稀釋液)一起在4℃下培育30 min。然後使用PBS/0.1% BSA將細胞洗滌兩次，轉移至96-孔板上，在4℃、400×g

下離心4 min且藉由渦旋再懸浮細胞沈澱物。使用100 µl 2% PFA固定細胞。對於FACS量測而言，將細胞再懸浮於200 µl/試樣之PBS/0.1% BSA中並使用FACS CantoII (FACS Diva軟體)中之板方案量測。

實例2

設計包括下列突變中之一或多者之IL-2之突變形式(與SEQ ID NO: 1中所示之野生型IL-2序列相比)：

1. T3A-預定O-糖基化位點之基因剔除
2. F42A-IL-2/IL-2R α相互作用之基因剔除
3. Y45A-IL-2/IL-2R α相互作用之基因剔除
4. L72G-IL-2/IL-2R α相互作用之基因剔除
5. C125A-避免二硫橋接之IL-2二聚體之先前所述突變

包括所有突變1-4之突變IL-2多肽在本文中表示為IL-2四重突變(qm)。其可進一步包括突變5(參見SEQ ID NO: 19)。

在IL-2 qm多肽或免疫偶聯物表現於諸如CHO或HEK293細胞等真核細胞中時，除經設計以干擾與CD25之結合之三種突變F42A、Y45A及L72G外，選擇T3A突變來消除O-糖基化位點並獲得具有較高均質性及純度之蛋白質產物。

出於純化目的，在經由VD序列連接之C-末端處引入His6標籤。為加以對比，生成IL-2之非突變類似形式，其僅含有C145A突變以避免不期望分子間二硫鍵橋(SEQ ID NO: 3)。無信號序列之各別分子量為16423 D(對於裸露IL-2而言)及16169 D(對於裸露IL-2 qm而言)。在無血清培養基(F17培養基)中之HEK EBNA細胞中轉染具有His標籤之野生型及四重突變IL-2。藉由交叉流對過濾之上清液實施緩衝液交換，然後將其裝載於NiNTA Superflow柱(5 ml, Qiagen)上。使用洗滌緩衝液：20 mM磷酸鈉、0.5 M氯化鈉(pH 7.4)洗滌管柱並使用洗脫緩衝液：20 mM磷酸鈉、0.5 M氯化鈉、0.5 M咪唑(pH 7.4)洗脫。裝載

後，使用8管柱體積(CV)洗滌緩衝液、10 CV 5%洗脫緩衝液(對應於25 mM咪唑)洗滌管柱，然後使用至0.5 M咪唑之梯度洗脫。藉由尺寸排除層析在HiLoad 16/60 Superdex75 (GE Healthcare)管柱上於2 mM MOPS、150 mM氯化鈉、0.02%疊氮化鈉(pH 7.3)中精製彙集之洗脫物。圖2展示野生型裸露IL-2之His標籤純化之層析圖。池1係自部分78-85製得，池2係自部分86-111製得。圖3展示野生型IL-2之尺寸排除層析之層析圖，對於每一池而言，皆彙集部分12至14。圖4展示野生型IL-2之分析型尺寸排除層析，如在Superdex 75, 10/300 GL (GE Healthcare)管柱上於2 mM MOPS、150 mM氯化鈉、0.02%疊氮化鈉(pH 7.3)中所測定。池1及2含有約22 kDa及20 kDa之2種蛋白質。池1具有較多之大蛋白，且池2具有較多之小蛋白，據推測此差異係由O-糖基化差異所致。池1之產量為約0.5 mg/L上清液且池2之產量為約1.6 mg/L上清液。圖5展示四重突變IL-2之His標籤純化之層析圖。池1係自部分59-91製得，池2係自部分92-111製得。圖6展示四重突變IL-2之尺寸排除層析之層析圖，此處池2僅保留部分12至14。圖7展示四重突變IL-2之分析型尺寸排除層析，如在Superdex 75, 10/300 GL (GE Healthcare)管柱上於2 mM MOPS、150 mM氯化鈉、0.02%疊氮化鈉(pH 7.3)中所測定。用於裸露四重突變IL-2之製劑僅含有一種20 kD之蛋白質。此蛋白質具有O-糖基化位點基因剔除。將野生型及四重突變裸露IL-2在-80℃下冷凍儲存。產量為約0.9 mg/L上清液。

如上所述藉由固定金屬離子親和層析(IMAC)及隨後之尺寸排除層析(SEC)來純化第二批加有His標籤之四重突變IL-2。用於IMAC之緩衝液為50 mM Tris、20 mM咪唑、0.5 M NaCl (pH 8)(用於管柱平衡及洗滌)及50 mM Tris、0.5 M咪唑、0.5 M NaCl (pH 8)(用於洗脫)。用於SEC及最終調配物緩衝液之緩衝液為20 mM組胺酸、140 mM NaCl (pH 6)。圖43展示該純化之結果。產量為2.3 ml/L上清液。

隨後，藉由表面電漿共振(SPR)測定對於IL-2R βγ異源二聚體及IL-2R α-亞單位之親和力。簡言之，將配體-人類IL-2R α-亞單位(Fc2)或人類IL2-R β凸起γ孔洞異源二聚體(Fc3)固定於CM5晶片上。隨後，在25℃下於HBS-EP緩衝液中以300 nM直至1.2 nM(1:3稀釋)範圍內之濃度將裸露野生型(池1及2)或四重突變IL-2及普留淨注射劑(Novartis/Chiron)施加至晶片上作為分析物。流速為30 μl/min且應用下列條件：締合：180 s，解離：300 s，且再生：2×30 s、3 M $MgCl_2$(對於IL2-R β凸起γ孔洞異源二聚體而言)，10 s、50 mM NaOH(對於IL-2R α-亞單位而言)。應用1:1結合以進行擬合(對於IL-2R βγ而言，1:1結合，RI≠0，Rmax=局部，表觀K_D；對於IL-2R α而言，1:1結合，RI=0，Rmax=局部)。表3展示人類野生型及四重突變IL-2以及普留淨注射劑與IL-2R βγ及IL-2R α-亞單位之結合之各別K_D值。

表3.突變IL-2多肽與中間親和力IL-2R及IL-2R α-亞單位之親和力。

K_D，以nM表示 T = 25℃	**Hu IL-2R βγ (動力學)**	**Hu IL-2R α (動力學)**	**Hu IL-2R α (穩態)**
裸露IL-2 wt，池1	5.6 5	17.4 16.6	30.3 23.9
裸露IL-2 wt，池2	2.8 1.8	10.6 10	19.7 17.6
裸露IL-2 qm	2.7 2	無結合	無結合
普留淨注射劑	2.4 2.8	7.5 12.5	19 17.8

數據展示，裸露IL-2四重突變展示期望行為且損失對於IL-2R α-亞單位之結合，而對於IL-2R βγ之結合得以保留且在各別野生型IL-2構築體及普留淨注射劑中相當。野生型IL-2之池1及2間之差異很可能歸因於O-糖基化差異。在IL-2四重突變中藉由引入T23A突變來克服此可變性及異質性。

實例3

使用抗FAP抗體4G8作為靶向結構域模型將三種突變F42A、Y45A及L72G及突變T3A引入Fab-IL-2-Fab格式中(圖1A)作為單一突變：1)4G8 IL-2 T3A，2)4G8 IL-2 F42A，3) 4G8 IL-2 Y45A，4) 4G8 IL-2 L72G，或其在Fab-IL-2 mt-Fab構築體中組合為：5)三重突變F42A/Y45A/L72G，或組合為：6)四重突變T3A/F42A/Y45A/L72G以亦鈍化O-糖基化位點。基於4G8之Fab-IL-2 wt-Fab用於對比。所有構築體皆含有C145A突變以避免二硫橋接之IL-2二聚體。在HEK 293細胞中表現不同Fab-IL 2-Fab構築體，且如上所述經由如上文所指定之蛋白質A及尺寸排除層析進行純化。隨後，藉由表面電漿共振(SPR)(Biacore)使用重組IL-2R βγ異源二聚體及單體IL-2R α-亞單位在下列條件下測定所選IL 2變體對於人類及鼠類IL 2R βγ異源二聚體及對於人類及鼠類IL-2R α-亞單位之親和力：以兩個密度固定IL-2R α-亞單位且使用具有較高固定能力之流動單元用於已失去對CD25之結合之突變。使用下列條件：化學固定：人類IL-2R βγ異源二聚體1675 RU；小鼠IL-2R βγ異源二聚體5094 RU；人類IL-2R α-亞單位1019 RU；人類IL-2R α-亞單位385 RU，鼠類IL-2R α-亞單位1182 RU；鼠類IL-2R α-亞單位378 RU，溫度：25℃，分析物：4G8 Fab-IL 2變體-Fab構築體，3.1 nM至200 nM，流速：40 μl/min，締合：180 s，解離：180 s，再生：10 mM甘胺酸，pH 1.5，60 s，40 μl/min。擬合：兩狀態反應模型(構型變化)，RI=0，Rmax=局部。表4中給出動力學分析之結果。

表4.包括突變IL-2多肽之靶向FAP之免疫偶聯物對於中間親和力IL-2R及IL-2R α-亞單位之親和力(K_D)。

構築體Fab-IL-2-Fab	Hu IL-2R βγ	Hu IL-2R α	Mu IL-2R βγ	Mu IL-2R α
4G8 IL-2 wt	3.8 nM	4.5 nM	45.6 nM	29 nM
4G8 IL-2 T3A	1.6 nM	4.9 nM	15.6 nM	15 nM
4G8 IL-2 F42A	4.7 nM	149 nM	57 nM	363 nM
4G8 IL-2 Y45A	3.9 nM	22.5 nM	41.8 nM	369 nM
4G8 IL-2 L72G	ND	45.3 nM	ND	ND
4G8 IL-2三重突變 F42A/Y45A/L72G	5.6 nM	無結合	68.8 nM	ND
4G8 IL-2四重突變 T3A/F42A/Y45A/L72G	5.2 nM	無結合	56.2 nM	無結合

藉由SPR展示對於IL 2R βγ異源二聚體及FAP之同時結合。簡言之，將人類IL 2R βγ凸起與孔洞構築體以化學方式固定於CM5晶片上且經90 s捕獲10 nM Fab-IL-2-Fab構築體。人類FAP以200 nM直至0.2 nM之濃度用作分析物。條件如下：溫度：25℃，緩衝液：HBS-EP，流速：30 μl/min，締合：90 s，解離：120 s。使用10 mM甘胺酸(pH 2)經60 s進行再生。使用1:1結合模型實施擬合，RI≠0，Rmax=整體。SPR橋接分析展示，Fab-IL-2-Fab構築體(呈野生型及四重突變形式，且基於親和力成熟FAP結合物28H1或親代3F2或4G8抗體)能夠同時以10 nM之濃度結合固定於晶片上之IL 2R βγ異源二聚體以及用作分析物之人類FAP(圖8)。所測得之親和力展示於表5中。

表5.包括突變IL-2多肽且結合中間親和力IL-2R之靶向FAP之免疫偶聯物對於FAP之親和力(K_D)。

構築體Fab-IL-2-Fab	K_D
4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	5.0 nM
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	5.6 nM
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab	0.32 nM
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	0.89 nM
3F2 Fab-IL-2 wt-Fab	1.2 nM

總而言之，SPR數據展示，i) T3A突變並不影響對於CD25之結合，ii) 三種突變F42A、Y45A及L72G並不影響對於IL 2R βγ異源二聚體之親和力，但其以如下順序減小對於CD25之親和力：wt=T3A>Y45A(約1/5)>L72G(約1/10)>F42A(約1/33)；iii) 具有或不具有O-糖基化位點突變T3A之三種突變F42A、Y45A及L72G之組合使得完全損失CD25結合，如在SPR條件下所測定，iv) 儘管人類IL-2對於鼠類IL-2R βγ異源二聚體及IL-2R α-亞單位之親和力與人類IL-2受體相比減小至先前之大約1/10，但所選突變並不影響對於鼠類IL-2R βγ異源二聚體之親和力，但相應地消除對於鼠類IL-2R α-亞單位之結合。此表明小鼠代表研究IL-2突變之藥理學及毒理學效應之有效模型，但總體而言IL-2在齧齒類動物中展現之毒性小於在人類中。

除損失O-糖基化外，4種突變T3A、F42A、Y45A、L72G之組合之一個其他優點為IL-2四重突變具有較低表面疏水性，此乃因表面暴露之疏水性殘基(例如苯基丙胺酸、酪胺酸或白胺酸)交換為丙胺酸。藉由動態光散射來分析聚集溫度展示，包括野生型或四重突變IL-2之靶向FAP之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物之聚集溫度處於相同範圍內：約57-58℃(對於3F2親代Fab-IL-2-Fab及親和力成熟29B11 3F2衍生物而言)；且該溫度範圍為62-63℃(對於4G8親代Fab-IL-2-Fab及親和力成熟28H1、4B9及14B3 4G8衍生物而言)，此表明4種突變之組合對於蛋白質穩定性並無負面影響。為支持所選IL-2四重突變之有利性質，瞬時表現產量表明，Fab-IL-2 qm-Fab格式中之四重突變所產生之表現產量甚至可高於彼等針對各別Fab-IL-2 wt-Fab構築體所觀察者。最後，藥物代謝動力學分析展示，基於4G8之Fab-IL-2 qm-Fab及Fab-IL-2 wt-Fab具有相當之PK性質(參見下文之實例9)。基於該等數據及下文實例4中所述之細胞數據，選擇四重突變T3A、F42A、Y45A、L72G作為理想突變組合來消除靶向Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物中IL-2之CD25結

合。

實例4

隨後在細胞分析中測試基於4G8、靶向FAP之Fab-IL 2-Fab免疫偶聯物(包括野生型IL-2或單一突變4G8 IL-2 T3A、4G8 IL-2 F42A、4G8 IL-2 Y45A、4G8 IL-2 L72G或各別三重(F42A/Y45A/L72G)或四重突變(T3A/F42A/Y45A/L72G) IL-2)以與上述普留淨注射劑進行對比。

在將NK細胞系NK92與該等構築體一起培育之後，量測IL-2誘導之IFN-γ釋放(圖9)。NK92細胞在其表面上表現CD25。結果展示，包括野生型IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物誘導IFN-γ釋放之功效小於普留淨注射劑，如可自Fab-IL-2 wt-Fab對於IL-2R βγ異源二聚體之親和力約為普留淨注射劑之1/10所預計。在引入干擾CD25結合之單一突變以及干擾IL-2三重突變中之CD25結合之三種突變之組合時，可產生在方法誤差內在功效及IFN-γ釋放之絕對誘導方面與野生型IL-2構築體相當之Fab-IL-2-Fab構築體。

表6.藉由包括突變IL-2多肽之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物誘導自NK細胞釋放IFN-γ。

構築體	**EC_{50} [nM]**
普留淨注射劑	4.1
4G8 Fab-IL 2 wt-Fab	23.0
4G8 Fab-IL-2 (T3A)-Fab	16.2
4G8 Fab-IL-2 (F42A)-Fab	15.4
4G8 Fab-IL-2(Y45A)-Fab	20.9
4G8 Fab-IL-2 (L72G)-Fab	16.3
4G8 Fab-IL-2(三重突變42/45/72)-Fab	24.4

隨後，在增殖分析中評價Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物對於分離人類NK細胞之增殖之誘導(Cell Titer Glo, Promega)(圖10)。與NK92細胞相

比，新分離之NK細胞並不表現CD25(或僅表現極低量)。結果展示，包括野生型IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物誘導NK細胞增殖之功效為普留淨注射劑之1/10，如可自Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物對於IL-2Rβγ異源二聚體之親和力約為普留淨注射劑之1/10所預計。在引入干擾CD25結合之單一突變以及干擾IL-2三重突變中之CD25之三種突變之組合時，可產生在功效及增殖之絕對誘導方面與野生型IL-2構築體相當之Fab-IL-2-Fab構築體；針對Fab-IL-2-Fab三種突變所觀察之功效僅具有極小變化。在第二實驗中，在與不同量之普留淨注射劑及Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物一起培育之後，評價PHA活化T細胞之增殖之誘導(圖11)。因活化T細胞表現CD25，故在與包括IL-2單一突變F42A、L72G或Y45A之免疫偶聯物一起培育時可觀察到T細胞增殖明顯減小；其中F42A展示最大程度之減小，隨後依次為L72G及Y45A，而在使用Fab-IL-2 wt-Fab或Fab-IL-2 (T3A)-Fab時，與普留淨注射劑相比活化幾乎保留。該等數據反映了對於CD25之親和力之減小，如藉由SPR所測定(上文實例)。IL-2三重突變中干擾CD25結合之三種突變之組合產生免疫偶聯物，其明顯使得溶液中T細胞增殖之誘導減少。根據該等發現，量測T細胞之細胞死亡，如在過度刺激(藉由以下來誘導：使用1 μg/ml PHA實施16 h之第一刺激，使用普留淨注射劑或各別Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物實施5天之第二刺激，隨後使用1 μg/ml PHA實施第三刺激)之後藉由Annexin V/PI染色所測定。在此設置中，觀察到使用包括干擾CD25結合之IL-2單一突變F42A、L72G及Y45A之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物時，過度刺激之T細胞中之活化誘導之細胞死亡(AICD)大大減小，其中F42A及L72G展示最大程度之減小，此與藉由包括IL-2三重突變之免疫偶聯物中之三種突變之組合達成的減小類似(圖12)。在最後一組實驗中，研究與Fab-IL-2 wt-Fab及普留淨注射劑相比Fab-IL-2 qm-Fab對於人類NK細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞及

來自人類PBMC之T_{reg}細胞中之STAT5磷酸化誘導之效應(圖13)。對於不展示或展示極低CD25表現(此意味著IL-2R信號傳導係經由IL-2R βγ異源二聚體調介)之NK細胞及$CD8^+$ T細胞而言，結果展示，包括野生型IL-2之Fab-IL-2-Fab格式誘導STAT5磷酸化之功效約為普留淨注射劑之1/10，且Fab-IL-2 qm-Fab與Fab-IL-2 wt-Fab構築體相當。對於展示在刺激時CD25快速上調之$CD4^+$ T細胞而言，Fab-IL-2 qm-Fab之功效小於Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物，但仍展示在飽和濃度下對於IL-2R信號傳導具有相當之誘導。與之相比，在T_{reg}細胞中，Fab-IL-2 qm-Fab之功效顯著小於Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物，此乃因T_{reg}細胞上之CD25表現較高且由此Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物對於T_{reg}細胞上之CD25之結合親和力較高。因消除了Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物中之CD25結合，故僅在經由IL-2R βγ異源二聚體在CD25-陰性效應子細胞上活化IL-2R信號傳導之濃度下，經由IL-2R βγ異源二聚體來活化T_{reg}細胞中之IL-2信號傳導。總而言之，此處闡述之IL-2四重突變能夠經由IL-2R βγ異源二聚體活化IL-2R信號傳導，但既不會產生AICD且亦不會較其他效應子細胞優先刺激T_{reg}細胞。

實例5

基於實例2及3中所述之數據，生成基於純系28H1或29B11之親和力成熟、靶向FAP之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物並如上文在一般方法部分中所述進行純化。更詳細而言，藉由一個親和步驟(蛋白質G)、隨後使用尺寸排除層析(Superdex 200)來純化靶向FAP之28H1靶向Fab-IL-2 qm-Fab。在PBS中實施管柱平衡且將來自穩定CHO池(CDCHO培養基)之上清液裝載於蛋白質G管柱(GE Healthcare)上，使用PBS洗滌管柱且隨後使用2.5 mM HCl洗脫試樣，且立即使用10x PBS中和該等部分。在最終調配物緩衝液：25 mM磷酸鈉、125 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 6.7)中於Superdex 200管柱上實施尺寸排除層析。圖14

展示來自純化之洗脫特徵曲線及產物之SDS-PAGE(NuPAGE Novex Bis-Tris Mini凝膠，4-20%，Invitrogen，MOPS運行緩衝液，還原及非還原)分析表徵結果。考慮到28H1 Fab片段對於蛋白質G及蛋白質A具有低結合能力，其他捕獲步驟可得到較高產量。

藉由一個親和步驟(蛋白質A)、隨後使用尺寸排除層析(Superdex 200)來純化靶向FAP之4G8、3F2及29B11 Fab-IL-2 qm-Fab及靶向MCSP之MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。在20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)中實施管柱平衡且將上清液裝載於蛋白質A管柱上。在20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)中實施第一洗滌，隨後實施第二洗滌：13.3 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉、500 mM氯化鈉(pH 5.45)。在20 mM檸檬酸鈉、100 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 3)中洗脫Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。在最終調配物緩衝液：25 mM磷酸鉀、125 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸(pH 6.7)中實施尺寸排除層析。圖15展示4G8 Fab-IL-2 qm-Fab之純化之洗脫特徵曲線及產物之SDS-PAGE(NuPAGE Novex Bis-Tris Mini凝膠，4-20%，Invitrogen，MOPS運行緩衝液，還原及非還原)分析表徵結果，且圖16展示MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物之結果。

如上文在一般方法部分中所述生成基於FAP-抗體4G8、4B9及28H1之靶向FAP之IgG-IL-2 qm融合蛋白及對照DP47GS非靶向IgG-IL-2 qm融合蛋白。圖46及47展示對於基於4G8及28H1之構築體而言純化之各別層析圖及洗脫特徵曲線(A, B)以及最終純化構築體之分析型SDS-PAGE及尺寸排除層析(C, D)。瞬時表現產量為42 mg/L(對於基於4G8之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物而言)及20 mg/L(對於基於28H1之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物而言)。

與相應未修飾IgG抗體相比，藉由表面電漿共振(SPR)在Biacore機器上測定基於4G8及28H1抗FAP抗體之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物之

FAP結合活性。簡言之，將抗His抗體(Penta-His, Qiagen 34660)固定於CM5晶片上以捕獲10 nM加有His標籤之人類FAP(20 s)。溫度為25℃且使用HBS-EP作為緩衝液。分析物濃度為50 nM直至0.05 nM且流速為50 μl/min(締合：300 s，解離：900 s，再生：60 s，使用10 mM甘胺酸(pH 2))。基於1:1結合模型實施擬合，RI=0，Rmax=局部(因捕獲格式)。表7給出估計之表觀二價親和力(pM抗體親抗原性)，如藉由SPR使用1:1結合(RI=0，Rmax=局部)擬合所測得。

表7

K_D [pM]	Hu FAP
4G8 IgG-IL-2 qm	100
4G8 IgG	50
28H1 IgG-IL-2 qm	175
28H1 IgG	200

數據展示，在方法誤差內，與相應未修飾抗體相比，對於人類FAP之親和力得以保留(對於基於28H1之免疫偶聯物而言)或僅略有降低(對於基於4G8之免疫偶聯物而言)。

實例6

藉由表面電漿共振(SPR)使用重組IL-2R βγ異源二聚體在下列條件下測定靶向FAP之親和力成熟、基於28H1及29B11之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物(各包括野生型或四重突變IL-2)及基於3F2之Fab-IL-2 wt-Fab對於人類、鼠類及短尾猴IL-2R βγ異源二聚體的親和力：配體：固定於CM5晶片上之人類、鼠類及短尾猴IL-2R β凸起γ孔洞異源二聚體，分析物：28H1或29B11 Fab-IL-2-Fab(包括野生型或四重突變IL-2)，3F2 Fab-IL-2-Fab(包括野生型IL-2)，溫度：25℃或37℃，緩衝液：HBS-EP，分析物濃度：200 nM直至2.5 nM，流速：30 μl/min，締合：300 s，解離：300 s，再生：60 s，3 M $MgCl_2$，擬合：1:1結合，

RI≠0，Rmax=整體。藉由表面電漿共振(SPR)使用重組單體IL-2R α-亞單位在下列條件下測定靶向FAP之親和力成熟、基於28H1及29B11之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物(各含有野生型或四重突變IL-2)及基於3F2之Fab-IL-2 wt-Fab人類、鼠類及短尾猴IL-2R α-亞單位之親和力：配體：固定於CM5晶片上之人類、鼠類及短尾猴IL-2R α-亞單位，分析物：28H1或29B11 Fab-IL-2-Fab(包括野生型或突變IL-2)，3F2 Fab-IL-2-Fab(包括野生型IL-2)，溫度：25℃或37℃，緩衝液：HBS-EP，分析物濃度：25 nM直至0.3 nM，流速：30 μl/min，締合：120 s，解離：600 s，再生：無，擬合：1:1結合，RI=0，Rmax=整體。

表8中給出使用IL-2R βγ異源二聚體之動力學分析之結果。

表8.包括親和力成熟Fab及突變IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物對於IL-2R βγ異源二聚體之結合。

K_D，以nM表示	Hu IL-2R βγ (25℃)	Hu IL-2R βγ (37℃)	Cyno IL-2R βγ (25℃)	Cyno IL-2R βγ (37℃)	Mu IL-2R βγ (25℃)	Mu IL-2R βγ (37℃)
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab	9.7 9	19 22	11.5 11.6	29.2 30.4	112 79	186 219
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	7.5 6.9	14.3 14.7	8.9 8.4	21.3 21.2	66 54	142 106
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab	6.5 5.7	9.5 12.4	6.9 6.7	14 19	93 74	71 74
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	7.2 7.4	13.1 13	7.8 8.4	16.7 18.1	60 63	44 42
3F2 Fab-IL-2 wt-Fab	5 4.8	ND	6.4 6.1	ND	40 40	ND

鑒於人類IL-2對於人類IL 2R βγ異源二聚體之親和力如本文所述為約1 nM，故Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物(包括野生型或四重突變IL-2)皆具有介於6 nM與10 nM之間之較小親和力，如上文針對裸露IL-2所示，對於鼠類IL-2R之親和力約為對於人類及短尾猴IL-2R之親和力之1/10。

表9中給出使用IL-2R α-亞單位之動力學分析之結果。在所選條件下，包括IL-2四重突變之免疫偶聯物對於人類、鼠類或短尾猴IL-

2R α-亞單位並無可檢測之結合。

表9.包括親和力成熟Fab及突變IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物對於IL-2R α-亞單位之結合。

K_D，以nM表示	Hu IL-2R α (25℃)	Hu IL-2R α (37℃)	Cyno IL-2R α (25℃)	Cyno IL-2R α (37℃)	Mu IL-2R α (25℃)	Mu IL-2R α (37℃)
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab	16 16.2	28.8 28.2	16 16.2	36.5 35.6	43.3 44	67.5 61.1
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	無結合	無結合	無結合	無結合	無結合	無結合
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab	5 4.6	7.6 7.7	4.8 4.3	7.3 7.4	11.4 9.6	13.3 13.8
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	無結合	無結合	無結合	無結合	無結合	無結合
3F2 Fab-IL-2 wt-Fab	5.7 6.1	ND	5 5.4	ND	12.3 12.1	ND

藉由表面電漿共振(SPR)使用重組IL-2R βγ異源二聚體在下列條件下測定包括野生型或四重突變IL-2之靶向MCSP之MHLG1-KV9 Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物對於人類IL-2R βγ異源二聚體之親和力：將人類IL-2R β凸起γ孔洞異源二聚體固定於CM5晶片上(1600 RU)。在25℃下於HBS-P緩衝液中使用MHLG1-KV9 Fab-IL-2 wt-Fab及Fab-IL-2 qm-Fab作為分析物。對於IL-2R βγ而言，分析物濃度為300 nM直至0.4 nM(1:3稀釋液)且流速為30 μl/min(締合時間：180 s，解離時間：300 s)。對於IL-2R βγ而言，使用3 M $MgCl_2$經2x30 s進行再生。對於IL-2R βγ而言，使用1:1結合來擬合數據，RI≠0，Rmax=局部。

藉由表面電漿共振(SPR)使用重組單體IL-2R α-亞單位在下列條件下測定包括野生型或四重突變IL-2之靶向MCSP之MHLG1-KV9 Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物對於人類IL-2R α-亞單位之親和力：將人類IL-2R α-亞單位固定於CM5晶片上(190 RU)。在25℃下於HBS-P緩衝液中使用MHLG1-KV9 Fab-IL-2 wt-Fab及Fab-IL-2 qm-Fab作為分析物。對於IL-2R α而言，分析物濃度為33.3 nM直至0.4 nM(1:3稀釋液)且流速為

30 μl/min (締合時間：180 s，解離時間：300 s)。對於IL-2R α而言，使用50 mM NaOH經10 s進行再生。對於IL-2R α而言，使用1:1結合來擬合數據，RI=0，Rmax=整體。

表10中給出使用IL-2R βγ異源二聚體之動力學分析之結果。

表10

K_D，以nM表示 T = 25℃	Hu IL 2R βγ (動力學)	Hu IL 2R α (動力學)	Hu IL 2R α (穩態)
MHLG1-KV9 Fab-IL-2 wt-Fab	8.6 9.8	8.8 10.1	6.8 10.9
MHLG1-KV9 Fab-IL 2 qm-Fab	7.3 10.7	無結合	無結合

數據證實，與包括野生型IL-2之免疫偶聯物相比，靶向MCSP之MHLG1-KV9 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物對於IL-2R βγ受體具有保留之親和力，而消除對於CD25之結合親和力。

隨後，藉由表面電漿共振(SPR)測定基於4G8及28H1之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物對於IL-2R βγ異源二聚體及IL-2R α-亞單位之親和力以直接與Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物格式進行對比。簡言之，將配體-人類IL-2R α-亞單位或人類IL-2R βγ異源二聚體固定於CM5晶片上。隨後，在25℃下於HBS-EP緩衝液中以介於300 nM直至1.2 nM(1:3稀釋液)間之濃度將基於4G8及28H1之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物或基於4G8及28H1之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物施加至晶片上作為分析物。流速為30 μl/min且應用下列條件：締合：180 s，解離：300 s，及再生：2×30 s，使用3 M $MgCl_2$(對於IL-2R βγ異源二聚體而言)；10 s，使用50 mM NaOH(對於IL-2R α-亞單位而言)。應用1:1結合以進行擬合(對於IL-2R βγ而言，1:1結合，RI≠0，Rmax=局部，表觀K_D；對於IL-2R α而言，1:1結合，RI=0，Rmax=局部)。

表11中給出各別K_D值。

表11

表觀K_D [nM]	Hu IL-2R βγ	Hu IL-2R α
4G8 IgG-IL-2 qm	5.9	無結合
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	10.4	無結合
28H1 IgG-IL-2 qm	6.2	無結合
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	11.4	無結合

數據展示，基於4G8及28H1之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物至少以與Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物同樣有效之親和力與IL-2R βγ異源二聚體結合，但其因引入干擾CD25結合之突變而並不結合IL-2R α-亞單位。與相應Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物相比，IgG-IL-2 qm融合蛋白之親和力在方法誤差內似乎略有增強。

實例7

在第一組實驗中，藉由FACS證實，包括野生型或突變IL-2之靶向FAP之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物能夠與表現人類FAP之HEK 293-FAP細胞結合(圖17)，且IL-2四重突變並不影響與表現FAP之細胞之結合(圖18)。

表12.Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物與表現FAP之HEK細胞之結合。

EC_{50}值	nM
28H1 Fab-IL-2-Fab	0.64
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	0.70
29B11 Fab-IL-2-Fab	0.66
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	0.85
4G8 Fab-IL-2-Fab	0.65

特定而言，該等結合實驗展示，與基於親代FAP結合物3F2 (29B11, 14B3, 4B9)及4G8 (28H1)之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物相比，基於親和力成熟FAP結合物28H1、29B11、14B3及4B9之Fab-IL-2 qm-

Fab對於HEK 293-FAP靶細胞展示優良之絕對結合(圖17)，同時保留高特異性且對於使用DPPIV(FAP之接近同源物)轉染之HEK 293細胞或HEK 293模擬轉染之細胞並無結合。為加以對比，使用小鼠抗人類CD26-PE DPPIV抗體純系M-A261(BD Biosciences，編號：555437)作為陽性對照(圖19)。內在化性質之分析展示，Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物之結合不會誘導FAP內在化(圖20)。

在另一實驗中，藉由FACS量測靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm及Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物與表現於穩定轉染HEK293細胞上之人類FAP之結合。結果展示於圖48中。數據展示，IgG-IL-2 qm免疫偶聯物以0.9 nM之EC50值與表現FAP之細胞結合，此與相應基於4G8之Fab-IL-2 qm-Fab構築體(0.7 nM)相當。

隨後在細胞分析中測試包括野生型IL-2或四重突變之親和力成熟抗FAP Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物以與上文實例中所述之普留淨注射劑進行對比。

在將NK細胞系NK92與該等免疫偶聯物一起培育24 h之後，藉由ELISA在上清液中量測IL-2誘導之IFN-γ釋放(圖21)。NK92細胞在其表面上表現CD25。結果展示，包括野生型IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物誘導IFN-γ釋放之功效小於普留淨注射劑，如可自Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物對於IL-2R βγ異源二聚體之親和力約為普留淨注射劑之1/10所預計。儘管實際上NK92細胞表現一些CD25，但Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物與各別野生型構築體對於所選純系在功效及IFN-γ釋放之絕對誘導方面完全旗鼓相當。然而，可觀察到，29B11 Fab-IL-2 qm-Fab所誘導之細胞因子釋放小於29B11 Fab-IL-2 wt-Fab以及28H1及4G8構築體，因此觀察到Fab-IL-2 qm-Fab較Fab-IL-2 wt-Fab僅具有較小功效變化。

此外，在NK92細胞中之IFN-γ釋放分析中，對靶向MCSP、基於

之MHLG1-KV9 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物與基於28H1及29B11之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物進行比較。圖22展示，靶向MCSP、基於之MHLG1-KV9 Fab-IL-2 qm-Fab與靶向FAP之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物在誘導IFN-γ釋放方面完全旗鼓相當。

隨後，在增殖分析中藉由ATP量測使用CellTiter Glo (Promega)來評價在3天時間內IL-2對於NK92細胞之增殖之誘導(圖23)。考慮到NK92細胞表現較低量之CD25，可在增殖分析中檢測包括野生型IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物及包括四重突變IL-2之免疫偶聯物間之差異，然而，在飽和條件下，二者皆達成類似之增殖之絕對誘導。

在另一實驗中，研究對於人類NK細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞及來自人類PBMC之T_{reg}細胞而言28H1親和力成熟、針對FAP之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物與28H1 Fab-IL-2 wt-Fab及普留淨注射劑相比對於STAT5磷酸化誘導之效應(圖24)。對於不展示或展示極低CD25表現(此意味著IL-2R信號傳導係經由IL-2R βγ異源二聚體調介)之NK細胞及$CD8^+$ T細胞而言，結果展示，包括野生型IL-2之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物誘導IFN-γ釋放之功效約為普留淨注射劑之1/10，且Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物之功效僅略小於Fab-IL-2 wt-Fab構築體。對於展示在刺激時CD25快速上調之$CD4^+$ T細胞而言，Fab-IL-2 qm-Fab之功效顯著小於Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物，但仍展示在飽和濃度下對於IL-2R信號傳導具有相當之誘導。與之相比，在T_{reg}細胞中，Fab-IL-2 qm-Fab之功效顯著小於Fab-IL-2 wt-Fab構築體，此乃因T_{reg}細胞上之CD25表現較高且由此Fab-IL-2 wt-Fab構築體對於T_{reg}細胞上之CD25之結合親和力較高。因消除了Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物中之CD25結合，故僅在經由IL-2R βγ異源二聚體在CD25陰性效應子細胞上活化IL-2R信號傳導之濃度下，經由IL-2R βγ異源二聚體來活化T_{reg}細胞中之IL-2信號傳導。表13中給出各別pM EC50值。

表13.藉由包括突變IL-2多肽之28H1 FAP靶向Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物誘導自NK細胞釋放IFN-γ。

EC_{50} [pM]	NK細胞	$CD8^+$ T細胞	$CD4^+$ T細胞	T_{reg}細胞
普留淨注射劑	222	1071	92	1
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab	3319	14458	3626	15
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	3474	20583	70712	19719

在另一組實驗中，在若干細胞分析中研究靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm及Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物之生物活性。

研究靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm及基於28H1之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物對於之NK92細胞之IFN-γ釋放之誘導，如藉由IL-2R βγ信號傳導之活化所誘導。圖49展示，靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物與親和力成熟、基於28H1之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物在誘導IFN-γ釋放方面同等有效。

亦研究對於人類NK細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞及來自人類PBMC之T_{reg}細胞而言靶向FAP、基於4G8之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物與基於28H1之Fab-IL-2 wt-Fab及Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物以及普留淨注射劑相比對於STAT5磷酸化誘導的效應。該等實驗之結果展示於圖50中。對於NK細胞及$CD8^+$ T細胞而言，基於4G8之gG-IL-2 qm免疫偶聯物誘導STAT5磷酸化之功效為普留淨注射劑之1/10以下，但功效略小於基於28H1之Fab-IL-2 wt-Fab及Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。對於$CD4^+$ T細胞而言，基於4G8之IgG-IL-2 qm免疫偶聯物之功效小於28H1 Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物，但功效略小於28H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物，且仍展示在飽和濃度下之IL-2R信號傳導誘導與普留淨注射劑及28H1 Fab-IL-2 wt-Fab相當。與之相比，在T_{reg}細胞中，基於4G8之IgG-IL-2 qm及28H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物之功效顯著小於Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物。

總而言之，此處闡述之IL-2四重突變能夠經由與野生型IL-2類似之IL-2R βγ異源二聚體活化IL-2R信號傳導，但不會較其他效應子細胞優先刺激T_{reg}細胞。

實例8

在活體內評估靶向FAP之Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物之抗腫瘤效應以與ACHN異種移植物及LLC1同系模型中之靶向FAP之Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物進行對比。所有靶向FAP之Fab-IL-2-Fab免疫偶聯物(包括野生型或四重突變IL-2)皆識別鼠類FAP以及鼠類IL-2R。儘管SCID-人類FcγRIII轉基因小鼠中之ACHN異種移植物模型對於IHC中之FAP具有較強陽性，但其係免疫妥協模型且僅可反映藉由NK細胞及/或巨噬細胞/單核細胞調介之免疫效應子機制，但缺乏T細胞調介之免疫性且由此不能反映AICD或經由T_{reg}細胞調介之效應。與之相比，完全免疫活性小鼠中之同系LLC1模型亦可反映適應性T細胞調介之免疫效應子機制，但在鼠類間質中展示相當低之FAP表現。該等模型中之每一者由此部分地反映人類腫瘤中所遇到之情形。

ACHN腎細胞上皮癌異種移植物模型

使用經腎內注射至SCID-人類FcγRIII轉基因小鼠中之人類腎細胞腺上皮癌細胞系ACHN來測試靶向FAP之4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。ACHN細胞最初係自ATCC(美國典型培養物保藏中心(American Type Culture Collection))獲得且擴增之後寄存於Glycart內部細胞庫中。在37℃、5% CO_2、水飽和氣氛下於含有10% FCS之DMEM中培養ACHN細胞。活體外第18代細胞係以98.4%之存活力用於腎內注射。在麻醉SCID小鼠之右脅腹及腹膜壁獲得小切口(2 cm)。將50 μl細胞懸浮液($1x10^6$個ACHN細胞，存於AimV培養基中)在囊下2 mm處注射至腎中。使用夾子將皮膚傷口及腹膜壁封閉。根據既定導則(GV-Solas; Felasa; TierschG)，將雌性SCID-FcγRIII小鼠

(GLYCART-RCC)(在實驗開始時為8-9週齡(在RCC飼餵，瑞士))維持於無特定病原體條件下且實施12 h光/12 h黑暗之日循環。實驗研究方案已經地方政府檢查且批准(P 2008016)。運抵後，將動物供養一週以適應新環境並進行觀察。定期實施連續健康監測。在研究之第0天經腎內向小鼠注射1x10^{6}個ACHN細胞，將其隨機化並稱重。在腫瘤細胞注射後一週時，在三週內每週三次經靜脈內向小鼠注射4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab。經靜脈內向所有小鼠注射200 µl適當溶液。向媒劑組中之小鼠注射PBS且向治療組注射4G8 Fab-IL-2 wt-Fab或4G8 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。為在每200 µl中獲得適當量之免疫偶聯物，視需要使用PBS稀釋儲備液。圖25展示與媒劑組相比在增強中值存活期方面之4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物調介之優良效能，其中4G8 Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物在效能方面優於4G8 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。

表14-A.

化合物	劑量	調配物緩衝液	濃度 (mg/mL)
4G8 Fab-IL-2-Fab 野生型=FAP 4G8 wt	20 µg	25 mM磷酸鉀， 125 mM NaCl， 100 mM甘胺酸，pH 6.7	1.45
4G8 Fab-IL-2-Fab四重突變 = FAP 4G8 qm	20 µg	25 mM磷酸鉀， 125 mM NaCl， 100 mM甘胺酸，pH 6.7	4.25

LLC1劉易斯(Lewis)肺上皮癌同系模型

使用經靜脈內注射至Black 6小鼠中之小鼠劉易斯肺上皮癌細胞系LLC1來測試靶向FAP之4G8 Fab-IL-2 qm-Fab及28H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。最初自ATCC獲得LLC1劉易斯肺上皮癌細胞且擴增之後寄存於Glycart內部細胞庫中。在37℃、5% CO_2、水飽和氣氛下於含有10% FCS之DMEM (Gibco)中以常規方式培養腫瘤細胞系。以

97.9%之存活力將傳代10用於移植。在200 μl Aim V細胞培養基(Gibco)中經靜脈內將$2x10^5$個細胞/動物注射至尾靜脈中。根據既定導則(GV-Solas; Felasa; TierschG)，將Black 6小鼠(Charles River，德國)(在實驗開始時為8-9週齡)維持於無特定病原體條件下且實施12 h光/12 h黑暗之日循環。實驗研究方案已經地方政府檢查且批准(P 2008016)。運抵後，將動物供養一週以適應新環境並進行觀察。定期實施連續健康監測。在研究之第0天經靜脈內向小鼠注射$2x10^5$個LLC1細胞，將其隨機化並稱重。在腫瘤細胞注射後一週時，在三週內每週三次經靜脈內向小鼠注射4G8 Fab-IL-2 qm-Fab或28H1 Fab-IL-2 qm-Fab。經靜脈內向所有小鼠注射200 μl適當溶液。向媒劑組中之小鼠注射PBS且向治療組注射4G8 Fab-IL-2 qm-Fab或28H1 Fab-IL-2 qm-Fab構築體。為在每200 μl中獲得適當量之免疫偶聯物，視需要使用PBS稀釋儲備液。圖26展示與媒劑組相比在增強中值存活期方面之4G8 Fab-IL-2 qm-Fab或親和力成熟28H1 Fab-IL-2 qm-Fab構築體調介之優良效能。

表14-B.

化合物 11.	劑量	調配物緩衝液	濃度 (mg/mL)
28H1 Fab-IL-2-Fab 四重突變= FAP 28H1 qm	30 μg	25 mM磷酸鉀， 125 mM NaCl， 100 mM甘胺酸，pH 6.7	2.74
4G8 Fab-IL-2-Fab 四重突變= FAP 4G8 qm	30 μg	25 mM磷酸鉀， 125 mM NaCl， 100 mM甘胺酸，pH 6.7	4.25

在另一實驗中，在經靜脈內注射至Black 6小鼠中之相同小鼠劉易斯肺上皮癌細胞系LLC1中測試靶向FAP之28H1 Fab-IL-2 wt-Fab及28H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。以94.5%之存活力將傳代9用於移植。在200 μl Aim V細胞培養基(Gibco)中經靜脈內將$2x10^5$個細胞/動物注射至尾靜脈中。在研究之第0天經靜脈內向小鼠注射$2x10^5$個

LLC1細胞，將其隨機化並稱重。在腫瘤細胞注射後一週時，在三週內每週三次經靜脈內向小鼠注射28H1 Fab-IL-2 wt-Fab或28H1 Fab-IL-2 qm-Fab。經靜脈內向所有小鼠注射200 μl適當溶液。向媒劑組中之小鼠注射PBS且向治療組注射28H1 Fab-IL-2 wt-Fab或28H1 Fab-IL-2 qm-Fab構築體。為在每200 μl中獲得適當量之免疫偶聯物，視需要使用PBS稀釋儲備液。圖27展示與媒劑組相比在增強中值存活期方面之28H1 Fab-IL-2 wt-Fab及28H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物調介之優良效能，其中28H1 Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物在效能方面略優於8H1 Fab-IL-2 qm-Fab免疫偶聯物。

表14-C.

化合物	劑量	調配物緩衝液	濃度 (mg/mL)
28H1 Fab-IL-2-Fab 四重突變= FAP 28H1 qm	45 μg	25 mM磷酸鉀， 125 mM NaCl， 100 mM甘胺酸，pH 6.7	2.74
28H1 Fab-IL-2-Fab 野生型= FAP 28H1 wt	45 μg	25 mM磷酸鉀， 125 mM NaCl， 100 mM甘胺酸，pH 6.7	1.66

實例9

隨後在7天靜脈內毒性及毒性動力學研究中於Black 6小鼠中對基於4G8、靶向FAP之Fab-IL-2 qm-Fab與基於4G8、靶向FAP之Fab-IL-2 wt-Fab免疫偶聯物進行比較。表15展示毒性及毒性動力學研究之研究設計。

表15.研究設計。

組	類型	劑量[μg/g]	目的
1	DPBS	0	對照
2	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4.5	毒性滴定
3		9.0	
4	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4.5	
5		9.0	

6	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4.5	毒性動力學研究
7		9.0	
8	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4.5	
9		9.0	

此研究之目的在於表徵及比較在經7天對無腫瘤雄性小鼠實施一次日靜脈內投與後靶向FAP之4G8 Fab-IL2-Fab野生型(wt)介白素-2(IL-2)及靶向FAP之G48 Fab-IL-2-Fab四重突變IL-2 (qm)的毒性及毒性動力學特徵。對於此研究而言，向5只雄性小鼠/組之5個組中經靜脈內投與0(媒劑對照)、4.5 μg/g/日或9 μg/g/日wt IL-2或4.5 μg/g/日或9 μg/g/日qm IL-2。向6只雄性小鼠/組之其他4個組中投與4.5 μg/g/日或9 μg/g/日wt IL-2或4.5 μg/g/日或9 μg/g/日qm IL-2以評價毒性動力學。因在給予4.5 μg/g/日及9 μg/g/日wt IL-2之動物中觀察到臨床體徵，故將研究持續時間自7天變為5天。基於死亡率、生活觀察、體重及臨床與解剖病理學來評價毒性。在不同時間點自毒性動力學組中之動物收集血液用於毒性動力學分析。毒性動力學數據展示，使用IL-2或qm IL-2治療之小鼠具有可量測之血漿濃度直至最後出血時間為止，此表明在整個治療持續時間內小鼠皆暴露於各別化合物。第1天之AUC0-inf值顯示wt IL-2及qm IL-2在兩個劑量值下之暴露相當。在第5天獲得稀疏試樣且展示與第1天相等之血漿濃度，此表明在投用任一化合物5天之後並未出現積累。更詳細而言，觀察到下列發現。

毒性動力學

表16匯總了靶向FAP之4G8 Fab-IL-2 qm-Fab及靶向FAP之4G8 Fab-IL-2 wt-Fab之平均血漿毒性動力學參數，如藉由WinNonLin版本5.2.1及商業κ-特異性ELISA(Human Kappa ELISA Quantitation Set，Bethyl實驗室)所測定。

表16

參數	單位	組 6 4G8-Fab-野生型 IL-2	組 7 4G8-Fab-野生型 IL-2	組 8 4G8-Fab-突變 IL-2	組 9 4G8-Fab-突變 IL-2
Cmax	ng/ml	47198	97986	60639	146416
Cmax/劑量	(ng/ml)/(ug/g)	0.011	0.011	0.0135	0.016
AUC	ng*h/ml	331747	747449	355030	926683
AUC/劑量	(ng*h/ml)/(ug/g)	0.074	0.083	0.079	0.103
T1/2z	h	3.6	3.11	4.3	3.12
Original 劑量	ug/g	4.5	9	4.5	9
途徑		IV	IV	IV	IV

＊藉由 WinNonLin 版本 5.2.1 使用無房室分析來計算 TK 參

下文給出個體血清濃度：

組（劑量）	出血日	時間：(h)	動物	血清濃度 (ng/ml)	平均濃度 (ng/ml)
組 6 (4.5 µg/g) 4G8 Fab-IL2-Fab WT	1	1	26	64241	47198
			27	30155	
	1	5.5	28	14693	15784
			29	16875	
	1	24	30	318	419
			31	520	
	5	5.5	29	13061	13335
			30	13620	
			31	13325	
組 7 (9 µg/g) 4G8 Fab-IL2-Fab WT	1	1	32	101208	97986
			33	94764	
	1	5.5	34	35766	34062
			35	32359	
	1	24	36	573	580
			37	588	
	5	5.5	32	31779	37473
			33	51143	
			35	53409	
			36	13562	
組 8 (4.5 µg/g) 4G8 Fab-IL2-突變 tant	1	1	38	73326	60639
			39	47953	
	1	5.5	40	12168	13269
			41	14371	
	1	24	42	494	490
			43	487	
	5	5.5	40	6561	10957
			41	15352	
	5	24	38	608	721
			39	543	
			42	1298	
			43	437	
組 9 (9 µg/g) 4G8 Fab-IL2-突變 ant	1	1	44	162970	146416
			45	129862	
	1	5.5	46	20475	24800
			47	29125	
	1	24	48	478	493
			49	509	
	5	5.5	46	20504	48031
			47	75557	
	5	24	44	634	703
			45	796	
			48	661	
			49	719	

該等數據展示，4G8 Fab-IL-2 qm-Fab及4G8 Fab-IL-2 wt-Fab皆展示相當之藥物代謝動力學性質，其中4G8 Fab-IL-2 qm-Fab之暴露略高。

死亡率

在9 µg/g靶向FAP之4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中，在第5天屍體剖檢之前在一隻動物中出現治療相關之死亡率。在死亡之前發現活動減退、冷皮膚及弓背姿勢。此動物可能因伴有水腫及出血之肺中細胞浸潤以及顯著骨髓壞死而死亡。死亡率匯總於表17中。

表17.第5天之死亡率。

組	類型	劑量 [μg/g]	發現死亡	嚴重毒性處死**	總計
1	DPBS	0	0/5	0/5	0/5
2	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4.5	0/5	5/5	5/5
3		9	1/5*	4/5	4/5
4	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4.5	0/5	0/5	0/5
5		9	0/5	0/5	0/5
6	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4.5	1/6	5/6	6/6
7		9	2/6	4/6	6/6
8	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4.5	0/6	0/6	0/6
9		9	0/6	0/6	0/6

* 在送往屍體剖檢之途中死亡

** 該研究計劃持續7天，但所有使用野生型IL-2免疫偶聯物治療之小鼠至第5天時皆顯著受影響，且預計其不會存活而將其處死。

臨床觀察

在給予4.5 μg/g/日及9 μg/g/日wt IL-2之動物中觀察到活動減退、冷皮膚及弓背姿勢。臨床觀察匯總於表18中。

表18.第5天之臨床觀察。

組	類型	劑量 [μg/g]	弓背姿勢	活動減退	觸感冰冷
1	DPBS	0	0/5	0/5	0/5
2	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4.5	4/5	4/5	5/5
3		9	5/5	5/5	5/5
4	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4.5	0/5	0/5	0/5
5		9	0/5	0/5	0/5
6	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4.5	6/6	2/6	2/6
7		9	6/6	5/6	6/6
8	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4.5	0/6	0/6	0/6
9		9	0/6	0/6	0/6

體重

在治療給予4.5 μg/g/日及9 μg/g/日(分別為9%及11%)wt IL-2之動

物5天之後觀察到體重具有中等降低。在治療給予4.5 μg/g/日或9 μg/g/日(分別為2%及1%)qm IL-2之動物5天之後觀察到體重略有降低。在媒劑對照中治療5天之後亦觀察到體重具有中等(9%)降低。然而，若排除潛在離群值(3號動物)，則百分比降低為5%。媒劑組中之體重損失可歸因於壓力。

血液學

在給予4.5 μg/g/日(約2/9)及9 μg/g/日(約1/11)4G8 Fab-IL-2 wt-Fab之動物中觀察到減少之血小板計數，此與該等動物骨髓中之減少之巨核細胞以及脾及肺中之全身性消耗效應(纖維蛋白)有關(參見下文之組織病理學部分)。該等發現表明，減少之血小板可能係由於消耗與產生降低/骨髓擁擠(由於IL-2之直接或間接效應使得淋巴細胞/骨髓樣細胞產生增加所致)之組合效應。

與化合物投與具有不明確關係之血液學發現包括與媒劑對照組之平均值相比絕對淋巴細胞計數隨4G8 Fab-IL-2 wt-Fab(4.5 μg/g(約1/5)及9 μg/g(約1/3))而降低。該等發現缺乏明顯之劑量依賴性，但將視為與生活觀察中所注意到之壓力或化合物之誇大藥理學有關之繼發效應(淋巴細胞遷移至組織中)。並無因投與4G8 Fab-IL-2 qm-Fab產生之治療相關之血液學變化。少數孤立之血液學發現在統計學上與其各別對照不同。然而，該等發現不足以展現病理學相關性。

眼觀病理學及組織病理學

治療相關之眼觀發現包含，在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組之5/5及4/5小鼠中分別發現脾增大，且在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab治療組二者之1/5小鼠中發現脾增大。

在給予4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab之組中，在肺、骨髓、肝、脾及胸腺中存在治療相關之組織病理學發現，其中發病率、嚴重程度等級或變化性質有所

不同，如下文所報告。肺中之治療相關之組織病理學發現包括，在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組之5/5小鼠中發現輕微至顯著之單核細胞浸潤且在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組之5/5小鼠中發現邊緣性單核細胞浸潤。單核細胞浸潤包括淋巴細胞(發現其中之一些具有細胞質顆粒)以及反應性巨噬細胞。該等細胞最經常注意到具有血管中心模式(vasocentric pattern)，同時經常在肺中之血管內注意到邊緣化。亦注意到該等細胞環繞血管，但在更嚴重情形下，該模式更具擴散性。在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組之5/5小鼠中看到邊緣至輕微之出血，且在9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組之2/5小鼠中看到邊緣出血。儘管最通常在血管周圍發現出血，但在更嚴重情形下，在肺泡腔中發現出血。在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之5/5小鼠中發現輕微至中等水腫且在9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中之5/5小鼠中發現邊緣水腫。儘管通常在血管周圍看到水腫，但在更嚴重情形下，亦在肺泡腔中發現水腫。在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之2/5及5/5小鼠中分別發現邊緣細胞變性及核破裂且包括浸潤性或反應性白細胞變性。使用MSB染色之所選動物對於4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組二者中動物之肺內發現之纖維蛋白呈現陽性，此部分地與在該等動物中發現之血小板減少相關。

骨髓中治療相關之變化包含在4.5 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組之5/5小鼠及2/5小鼠中及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組之5/5小鼠及2/5小鼠中分別具有邊緣至輕微增加的總骨髓細胞性。此可藉由該等組中增加之邊緣至中等淋巴細胞-骨髓細胞增生來描述，如部分地藉由骨髓及竇內CD3陽性T細胞(具體而言係T-淋巴細胞，藉由使用pan-T細胞標記物CD3在所選動物上實施之免疫組織化學來證實)之數量增加所證實。在兩個4G8

Fab-IL-2 wt-Fab組中具有中等CD3陽性T細胞增加且在兩個4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中具有邊緣至輕微之CD3陽性T細胞增加。在4.5 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之2/5小鼠及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之5/5小鼠中觀察到巨核細胞之邊緣至輕微降低，且在4.5 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之3/5小鼠及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之5/5小鼠中發現紅血球前體之邊緣至中等降低。在4.5(微小)μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之1/5小鼠及9 (輕微至顯著)μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之5/5小鼠中發現骨髓壞死。骨髓中巨核細胞之數量減小與血小板減少相關，該血小板減少可能由骨髓之直接擁擠(藉由增加之淋巴細胞/骨髓樣前體及/或骨髓壞死引起)及/或血小板消耗(由各種組織(參見脾及肺)中之發炎引起)引起。在骨髓中發現之紅血球前體減少並不與周邊血血液學發現相關，該等周邊血血液學發現可能由瞬時效應(在周邊血之前之骨髓中看到)及周邊紅血球之較長半衰期(與血小板相比)引起。骨髓中骨髓壞死之機制可為繼發性，其係由於骨髓腔之明顯過度擁擠(由於淋巴細胞/骨髓樣細胞之產生及生長)、細胞因子自增殖細胞類型之全身性或局部釋放(此可能與缺氧之局部影響或化合物之其他藥理學效應有關)。

在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組之5/5小鼠中，肝中之治療相關之發現包括輕微至中等之原發性血管中心單核細胞浸潤及邊緣至輕微之單一細胞壞死。在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中之2/5及4/5小鼠中分別看到邊緣單一細胞壞死。單核細胞浸潤主要包括最經常於中心及門脈血管內注意到之血管中心性以及邊緣性之淋巴細胞(具體而言係T-淋巴細胞，藉由使用pan-T細胞標記物CD3在所選動物上實施之免疫組織化學證實)。用於F4/80免疫組織化學染色之所選動物顯示，在9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組之整個肝竇中巨噬細胞/庫普弗細胞(Kupffer cell)之數量及尺寸

有所增加(活化)。

脾中治療相關之發現包括中等至顯著之淋巴增生/浸潤及輕微至中等之巨噬細胞增生/浸潤(在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中之5/5小鼠中)，及輕微至中等之淋巴增生/浸潤及邊緣至輕微之巨噬細胞增生/浸潤(在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中之5/5小鼠中)。9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及4G8 Fab-IL-2 qm-Fab之免疫組織化學展示使用pan-T細胞標記物CD3以及巨噬細胞標記物F4/80之不同模式。對於9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab而言，T細胞及巨噬細胞免疫反應性之模式主要保留於紅髓區域內，此乃因初級卵泡之結構因淋巴細胞裂解及壞死而改變(如下所述)。對於9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab而言，特殊染色展示與媒劑對照類似之模式，但具有動脈周圍淋巴鞘(periarteriolar lymphoid sheath, PALS)白髓擴張(因T細胞群體)及較大之經擴張紅髓區域。在紅髓內亦具有T細胞及巨噬細胞陽性，其中具有與媒劑對照組類似之模式但有所擴展。該等發現與增大脾之眼觀發現相關。在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中，分別在3/5小鼠中發現邊緣壞死且在5/5小鼠中發現邊緣至輕微之壞死。壞死通常位於初級卵泡區域附近，且在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中使用MSB染色之所選動物對於纖維蛋白呈現陽性，此部分地與該等動物中發現之減少之血小板相關。在4.5 μg/g(微小至輕微)及9 μg/g(中等至顯著)4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中看到淋巴細胞裂解。

胸腺中治療相關之發現包含4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組及4.5 ug/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中淋巴細胞之微小至輕微之增加。在4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中皮質及髓質個別地並不明顯，但9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中所選動物之pan T細胞標記物(CD3)之免疫組織化學展示對於胸腺內之大部分細胞呈現強烈陽性。胸腺中之增加之淋巴細胞可視為兩種化合物之直接

藥物代謝動力學效應，其中IL-2誘導自骨髓遷移至胸腺(T細胞)之淋巴細胞發生增殖以進一步分化及選殖擴增。此出現於所有組中，9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab除外，其可能為瞬時效應。在4.5 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中具有輕微淋巴細胞裂解，且在9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中具有中等至顯著之淋巴細胞裂解。在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組二者中發現中等淋巴缺失。儘管該等發現似乎在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中更為明顯，但將該等動物闡述為在第5天處於瀕死狀態，且輕微至顯著之淋巴細胞裂解以及中等淋巴缺失可與此生活觀察相關(由不良物理條件引起之壓力相關之效應)。

肝中與化合物投與具有不明確關係之組織病理學發現包括，在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中之5/5小鼠中發現隨機分散於整個肝內之小灶/微小肉芽腫之邊緣混合細胞(淋巴細胞及巨噬細胞)浸潤/活化。此邊緣變化亦於媒劑對照組中看到但具有較小發病率及嚴重程度。在9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組之5/5小鼠中看到邊緣至輕微之胃腺膨脹及萎縮，且在3/5小鼠中看到邊緣回腸絨毛萎縮。此發現最有可能歸因於在該等小鼠中看到之不良物理條件(例如減小之體重)，尤其在9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab組中於生活觀察中所發現。

注射位點發現包含混合細胞浸潤、血管周圍水腫及肌變性，在媒劑對照、9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中皆發現肌變性。一隻動物具有表皮壞死。該等發現並不歸因於治療本身，而是歸因於尾部之日靜脈內注射及處理。另一動物具有與肌變性及肌再生有關之骨骼肌之巨噬細胞浸潤(發現於肺組織組織學部分中，可能由慢性損傷引起)且並不歸因於治療。在4.5 μg/g及9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab組中之3/5及4/5小鼠中分別看到邊緣淋巴缺失且最可能歸因於隨著小鼠變老在胸腺中看到之正常生理學變化(亦以類

似發病率(4/5小鼠)及嚴重程度在媒劑對照動物中看到)。

總而言之，在長達5天內以4.5 μg/g/日或9 μg/g/日之劑量在雄性小鼠中日靜脈內投與4G8 Fab-IL-2 wt-Fab或4G8 Fab-IL-2 qm-Fab會對於兩種化合物而言產生類似之治療相關之組織學發現。然而，在使用靶向FAP之4G8 Fab-IL-2 wt-Fab時在以下組織中之發現通常更為普遍且更加嚴重：肺(圖28及29)(由淋巴細胞及反應性巨噬細胞構成之單核細胞浸潤、出血及水腫)、骨髓(淋巴-骨髓增生及增加細胞性)、肝(圖30)(單一細胞壞死、庫普弗細胞/巨噬細胞之數量及活化增加)、脾(眼觀放大、巨噬細胞及淋巴細胞浸潤/增生)及胸腺(增加之淋巴細胞)。此外，肺、脾、骨髓及胸腺中之死亡率、淋巴細胞裂解、壞死或細胞變性、以及骨髓中之減小之巨核細胞及紅血球及周邊血中之減小之血小板僅在給予wt IL-2之動物中看到。基於臨床及解剖病理學發現以及臨床觀察及兩種化合物之同等全身性暴露，此研究條件下之qm IL-2在5個劑量後所展現之全身性毒性顯著小於wt IL-2。

實例10

藉由野生型及四重突變IL-2來誘導NK細胞IFN-γ分泌

將NK-92細胞饑餓2 h，然後以100000個細胞/孔接種至96孔-F底板中。將IL-2構築體滴加於接種之NK-92細胞上。24 h或48 h之後，將板離心，然後收集上清液以使用商業IFN-γ ELISA(BD編號：550612)測定人類IFN-γ之量。

測試野生型IL-2之兩份不同室內製劑(很可能其O-糖基化特徵略有不同，參見實例2)、市售野生型IL-2(普留淨注射劑)及室內製得之四重突變IL-2(第一批)。

圖31顯示，四重突變IL-2與商業獲得(普留淨注射劑)或室內產生之野生型IL-2在24小時(A)或48小時(B)內在誘導NK細胞之IFN-γ分泌方面同等有效。

實例11

藉由野生型及四重突變IL-2來誘導NK細胞增殖

將NK-92細胞饑餓2 h，然後以10000個細胞/孔接種至96孔-黑色F透明底板中。將IL-2構築體滴加於接種之NK-92細胞上。48 h之後，量測ATP含量以使用來自Promega之「CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay」套組根據製造商說明書測定活細胞數量。

測試與實例10中相同之IL-2製劑。

圖32展示所有測試分子皆能夠誘導NK細胞增殖。在低濃度(<0.01 nM)下，四重突變IL-2之活性略小於室內產生之野生型IL-2，且所有室內製劑之活性皆小於在商業上獲得之野生型IL-2(普留淨注射劑)。

在第二實驗中，測試下列IL-2製劑：野生型IL-2(池2)、四重突變IL-2(第一批及第二批)。

圖33展示，所有測試分子在誘導NK細胞增殖方面之活性基本類似，其中在最低濃度下兩種突變IL-2製劑之活性僅略小於野生型IL-2製劑。

實例12

藉由包括野生型或四重突變IL-2之免疫偶聯物來誘導人類PBMC增殖

使用Histopaque-1077(Sigma Diagnostics公司，St. Louis, MO，美國)製備周邊血單核細胞(PBMC)。簡言之，將來自健康志願者之靜脈血汲取至肝素化注射器中。使用無鈣且無鎂之PBS以2:1稀釋血液，並在Histopaque-1077上分層。將梯度在450×g及室溫(RT)下無間斷離心30 min。收集含有PBMC之中間相並使用PBS洗滌三次(350×g，隨後300×g，10 min，在室溫下)。

隨後，在37℃下使用40 nM CFSE(羧基螢光素琥珀醯亞胺酯)經15 min來標記PBMC。使用20 ml培養基洗滌細胞，然後在37℃下經30

min回收標記之PBMC。洗滌細胞，計數，且將100000個細胞接種至96-孔-U底板中。將預稀釋之普留淨注射劑(實施野生型IL-2)或IL2-免疫偶聯物滴加於培育指定時間點之接種細胞上。4-6天之後，洗滌細胞，對適當細胞表面標記物染色，並藉由FACS使用BD FACSCantoII進行分析。將NK細胞定義為$CD3^-/CD56^+$，將CD4 T細胞定義為$CD3^+/CD8^-$，且將CD8 T細胞定義為$CD3^+/CD8^+$。

圖34展示在與不同靶向FAP之28H1 IL-2免疫偶聯物一起培育4 (A)、5 (B)或6 (C)天之後NK細胞之增殖。所有測試構築體皆以濃度依賴性方式誘導NK細胞增殖。在較低濃度下普留淨注射劑之有效性高於免疫偶聯物，然而，此差異在較高濃度下不再存在。在較早時間點(第4天)，IgG-IL2構築體之功效似乎略高於Fab-IL2-Fab構築體。在較晚時間點(第6天)，所有構築體皆具有同等效能，其中Fab-IL2 qm-Fab構築體在低濃度下之功效最小。

圖35展示在與不同靶向FAP之28H1 IL-2免疫偶聯物一起培育4 (A)、5 (B)或6 (C)天之後CD4 T細胞之增殖。所有測試構築體皆以濃度依賴性方式誘導CD4 T細胞增殖。普留淨注射劑之活性高於免疫偶聯物，且包括野生型IL-2之免疫偶聯物之功效略高於包括四重突變IL-2者。對於NK細胞而言，Fab-IL2 qm-Fab構築體具有最低活性。最可能地，增殖CD4 T細胞部分地至少對於野生型IL-2構築體而言係調節T細胞。

圖36展示在與不同靶向FAP之28H1 IL-2免疫偶聯物一起培育4 (A)、5 (B)或6 (C)天之後CD8 T細胞之增殖。所有測試構築體皆以濃度依賴性方式誘導CD8 T細胞增殖。普留淨注射劑之活性高於免疫偶聯物，且包括野生型IL-2之免疫偶聯物之功效略高於包括四重突變IL-2者。對於NK細胞及CD4 T細胞而言，Fab-IL2 qm-Fab構築體具有最低活性。

圖37繪示另一實驗之結果，其中對包括野生型或四重突變IL-2之靶向FAP之28H1 IgG-IL-2及普留淨注射劑進行比較。培養時間為6天。如圖中所展示，所有三種IL-2構築體皆以劑量依賴性方式誘導NK (A)及CD8 T細胞(C)增殖且具有類似功效。對於CD4 T細胞(B)而言，IgG-IL2 qm免疫偶聯物具有較低活性(尤其在中等濃度下)，此可能歸因於其缺乏對於作為CD4 T細胞子組之CD25陽性(包含調節)T細胞之活性。

實例13

野生型及四重突變IL-2之效應子細胞活化(pSTAT5分析)

如上所述來製備PBMC。將500000個PBMC/孔接種至96-孔-U底板中並在37℃下於含有10% FCS及1% Glutamax (Gibco)之RPMI培養基中靜置45 min。然後，將PBMC與普留淨注射劑、室內產生之野生型IL-2或四重突變IL-2於指定濃度下在37℃下一起培育20 min以誘導STAT5之磷酸化。隨後，將細胞立即在37℃下固定(BD Cytofix緩衝液)10 min並洗滌一次，隨後在4℃下經30 min實施透化步驟(BD Phosflow Perm緩衝液III)。然後，使用PBS/0.1% BSA洗滌細胞並使用FACS抗體混合物染色以在室溫下於黑暗中經30 min檢測NK細胞($CD3^-$/$CD56^+$)、$CD8^+$ T細胞($CD3^+$/$CD8^+$)、$CD4^+$ T細胞($CD3^+$/$CD4^+$/$CD25^-$/$CD127^+$)或T_{reg}細胞($CD4^+$/$CD25^+$/$CD127^-$/$FoxP3^+$)以及pSTAT5。使用PBS/0.1% BSA將細胞洗滌兩次並再懸浮於2% PFA中，然後實施流式細胞分析(BD FACSCantoII)。

圖38展示在與普留淨注射劑、室內產生之野生型IL-2(池2)及四重突變IL-2(第1批)一起培育30 min之後NK細胞(A)、CD8 T細胞(B)、CD4 T細胞(C)及調節T細胞(D)中之STAT磷酸化。所有三種IL-2製劑在誘導NK以及CD8 T細胞中之STAT磷酸化方面同等有效。在CD4 T細胞及調節T細胞(更為顯著)中，四重突變IL-2之活性低於野生型IL-2製

劑。

實例14

野生型及四重突變IgG-IL-2之效應子細胞活化(pSTAT5分析)

實驗條件如上所述(參見實例13)。

圖39展示在與普留淨注射劑、包括野生型IL-2之IgG-IL-2或包括四重突變IL-2之IgG-IL-2一起培育30 min之後NK細胞(A)、CD8 T細胞(B)、CD4 T細胞(C)及調節T細胞(D)中之STAT磷酸化。在所有細胞類型中，普留淨注射劑誘導STAT磷酸化之功效高於IgG-IL-2免疫偶聯物。IgG-IL-2野生型及四重突變構築體在NK以及CD8 T細胞中同等有效。在CD4 T細胞及調節T細胞(更為顯著)中，IgG-IL-2四重突變之活性低於IgG-IL-2野生型免疫偶聯物。

實例15

靶向FAP之Fab-IL2 wt-Fab及Fab-IL2 qm-Fab免疫偶聯物之最大耐受劑量(MTD)

在無腫瘤免疫活性Black 6小鼠中，測試包括野生型(wt)或四重突變(qm) IL-2之靶向FAP之Fab-IL2-Fab免疫偶聯物之增加的劑量。

根據既定導則(GV-Solas; Felasa; TierschG)，將雌性Black 6小鼠(Charles River，德國)(在實驗開始時為8-9週齡)維持於無特定病原體條件下且實施12 h光/12 h黑暗之日循環。實驗研究方案已經地方政府檢查且批准(P 2008016)。運抵後，將動物供養一週以適應新環境並進行觀察。定期實施連續健康監測。

在7天內每天一次向小鼠經靜脈內注射4G8 Fab-IL2 wt-Fab(以60 μg/小鼠、80 μg/小鼠及100 μg/小鼠之劑量)或4G8 Fab-IL2 qm-Fab(以100 μg/小鼠、200 μg/小鼠、400 μg/小鼠、600 μg/小鼠及1000 μg/小鼠之劑量)。經靜脈內向所有小鼠注射200 μl適當溶液。為在每200 μl中獲得適當量之免疫偶聯物，視需要使用PBS稀釋儲備液。

圖40展示，Fab-IL2 qm-Fab之MTD(最大耐受劑量)為Fab-IL2 wt-Fab之10倍，亦即Fab-IL2 qm-Fab之600 μg/小鼠日(7天內)對Fab-IL2 wt-Fab之60 μg/小鼠日(7天內)。

表19

化合物	劑量	調配物緩衝液	濃度 (mg/mL)
4G8 Fab-IL2 wt-Fab	60 μg、80 μg、100 μg	25 mM磷酸鉀，125 mM NaCl，100 mM甘胺酸，pH 6.7	3.32 (=儲備液)
4G8 Fab-IL2 qm-Fab	100 μg、200 μg、400 μg、600 μg、1000 μg	25 mM磷酸鉀，125 mM NaCl，100 mM甘胺酸，pH 6.7	4.25 (=儲備液)

實例16

單一劑量之靶向FAP及非靶向之IgG-IL2 wt及qm之藥物代謝動力學

在無腫瘤免疫活性129小鼠中實施包括野生型或四重突變IL-2之靶向FAP之IgG-IL2免疫偶聯物及包括野生型或四重突變IL-2之非靶向IgG-IL2免疫偶聯物的單一劑量藥物代謝動力學(PK)研究。

根據既定導則(GV-Solas; Felasa; TierschG)，將雌性129小鼠(Harlan，英國)(在實驗開始時為8-9週齡)維持於無特定病原體條件下且實施12 h光/12 h黑暗之日循環。實驗研究方案已經地方政府檢查且批准(P 2008016)。運抵後，將動物供養一週以適應新環境並進行觀察。定期實施連續健康監測。

經靜脈內向小鼠注射一次靶向FAP之28H1 IgG-IL2 wt (2.5 mg/kg)或28H1 IgG-IL2 qm (5 mg/kg)或非靶向DP47GS IgG-IL2 wt (5 mg/kg)或DP47GS IgG-IL2 qm (5 mg/kg)。經靜脈內向所有小鼠注射200 μl適當溶液。為在每200 μl中獲得適當量之免疫偶聯物，視需要使用PBS稀釋儲備液。

在第1、8、24、48、72、96 h時對小鼠實施取血；且此後在3週內每2天實施取血。提取血清並儲存於-20℃下直至ELISA分析為止。使用ELISA測定血清中之免疫偶聯物濃度以量化IL2-免疫偶聯物抗體(Roche-Penzberg)。使用405 nm之量測波長及492 nm之參考波長量測吸收(VersaMax可調微量板讀數儀，Molecular Devices)。

圖41展示該等IL-2免疫偶聯物之藥物代謝動力學。靶向FAP(A)及非靶向(B)之IgG-IL2 qm構築體二者之血清半衰期(約30 h)皆長於相應IgG-IL2 wt構築體(約15 h)。

表20

化合物	劑量	調配物緩衝液	濃度 (mg/mL)
28H1-IgG-IL2 wt	2.5 mg/kg	20 mM組胺酸， 140 mM NaCl， pH 6.0	3.84 (=儲備液)
28H1-IgG-IL2 qm	5 mg/kg	20 mM組胺酸， 140 mM NaCl， pH 6.0	2.42 (=儲備液)
DP47GS-IgG-IL2wt	5 mg/kg	20 mM組胺酸， 140 mM NaCl， pH 6.0	3.74 (=儲備液)
DP47GS-IgG-IL2QM	5 mg/kg	20 mM組胺酸， 140 mM NaCl， pH 6.0	5.87 (=儲備液)

實例17

單一劑量之非靶向Fab-IL2 wt-Fab及Fab-IL2 qm-Fab之藥物代謝動力學

在無腫瘤免疫活性129小鼠中實施包括野生型或四重突變IL-2之非靶向Fab-IL2-Fab免疫偶聯物之單一劑量藥物代謝動力學(PK)研究。

根據既定導則(GV-Solas; Felasa; TierschG)，將雌性129小鼠(Harlan，英國)(在實驗開始時為8-9週齡)維持於無特定病原體條件下且實施12 h光/12 h黑暗之日循環。實驗研究方案已經地方政府檢查且批准(P 2008016)。運抵後，將動物供養一週以適應新環境並進行觀

察。定期實施連續健康監測。

經靜脈內向小鼠注射一次DP47GS Fab-IL2 wt-Fab(以65 nmol/kg之劑量)或DP47GS Fab-IL2 qm-Fab(以65 nM/kg之劑量)。經靜脈內向所有小鼠注射200 µl適當溶液。為在每200 µl中獲得適當量之免疫偶聯物，視需要使用PBS稀釋儲備液。

在第0.5、1、3、8、24、48、72、96小時時對小鼠實施取血且此後在3週內每2天實施取血。提取血清並儲存於 -20℃下直至ELISA分析為止。使用ELISA測定血清中之免疫偶聯物濃度以量化IL2-免疫偶聯物抗體(Roche-Penzberg)。使用405 nm之量測波長及492 nm之參考波長量測吸收(VersaMax可調微量板讀數儀，Molecular Devices)。

圖42展示該等IL-2免疫偶聯物之藥物代謝動力學。Fab-IL2-Fab wt及qm構築體具有大約3-4 h之血清半衰期。包括野生型或四重突變IL-2之構築體間之血清半衰期差異在Fab-IL2-Fab構築體中之明顯程度小於IgG樣免疫偶聯物(其本身具有較長半衰期)。

表21

化合物	劑量	調配物緩衝液	濃度 (mg/mL)
DP47GS Fab-IL2 wt-Fab	65 nM/kg	100 mM甘胺酸， 125 mM NaCl， 25 mM KH_2PO_4， pH 6.7	3.84 (=儲備液)
DP47GS Fab-IL2 qm-Fab	65 nM/kg	100 mM甘胺酸， 125 mM NaCl， 25 mM KH_2PO_4， pH 6.7	2.42 (=儲備液)

實例18

IL-2活化之PBMC之活化誘導之細胞死亡

使用存於RPMI1640(具有10% FCS及1%麩醯胺酸)中之1 µg/ml PHA-M將來自健康供體之新分離PBMC預活化過夜。預活化之後，收

穫PBMC，使用存於PBS中之40 nM CFSE標記，並以100 000個細胞/孔接種於96-孔板中。使用不同濃度之IL-2免疫偶聯物(4B9 IgG-IL-2 wt、4B9 IgG-IL-2 qm、4B9 Fab-IL-2 wt-Fab及4B9 Fab-IL-2 qm-Fab)刺激預活化之PBMC。實施IL-2處理6天後，使用0.5 μg/ml活化抗Fas抗體過夜處理PBMC。6天之後，藉由CFSE稀釋分析CD4 ($CD3^+CD8^-$)及CD8 ($CD3^+CD8^+$) T細胞之增殖。藉由針對$CD3^+$ Annexin V陰性活細胞進行選通來測定在抗Fas處理之後活T細胞之百分比。

如圖44中所展示，所有構築體皆誘導預活化T細胞之增殖。在低濃度下，包括野生型IL-2 wt之構築體之活性高於包括IL-2 qm之構築體。IgG-IL-2 wt、Fab-IL-2 wt-Fab及普留淨注射劑具有類似活性。Fab-IL-2 qm-Fab之活性略小於IgG-IL-2 qm。包括野生型IL-2之構築體對於CD4 T細胞之活性高於CD8 T細胞，此最可能歸因於調節T細胞之活化。包括四重突變IL-2之構築體對於CD8及CD4 T細胞具有類似活性。

如圖45中所展示，使用高濃度野生型IL-2刺激之T細胞對於抗Fas誘導之細胞凋亡之敏感性高於使用四重突變IL-2處理的T細胞。

* *　*

儘管出於理解清晰性之目的藉由闡釋及實例方式略微詳細地闡述了前文之發明，但不應將說明及實例解釋為限制本發明範圍。本文所引用所有專利及科學文獻之全部揭示內容明確地以引用方式併入本文中。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 瑞士商羅齊克雷雅公司

<120> 突變介白素-2 多肽

<130> 27307

<140> 101103928

<141> 2012-02-07

<150> EP 11153964.9
<151> 2011-02-10

<150> EP 11164237.7
<151> 2011-04-29

<160> 324

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 133
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 2
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型人類 IL-2

<400> 2
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgact 399

<210> 3
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型人類 IL-2 (C125A)

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 4
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型人類 IL-2 (C125A) (1)

<400> 4
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 5
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型人類 IL-2 (C125A) (2)

<400> 5
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 6
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型人類 IL-2 (C125A) (3)

<400> 6
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 7
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 L72G (C125A)

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 8
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 L72G (C125A) (1)

<400> 8
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 9
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 L72G (C125A) (2)

<400> 9
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 10
<211> 399
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 L72G (C125A) (3)

<400> 10
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 11
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 L72G / F42A (C125A)

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 12
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 F42A / L72G (C125A) (1)

<400> 12
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 13
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 F42A / L72G (C125A) (2)

<400> 13
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 14
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 F42A / L72G (C125A) (3)

<400> 14
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 15
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 三重突變 F42A / Y45A / L72G (C125A)

<400> 15

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 16
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 三重突變 F42A / Y45A / L72G (C125A) (1)

<400> 16
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 17
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 三重突變 F42A / Y45A / L72G (C125A) (2)

<400> 17
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 18
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 三重突變 F42A / Y45A / L72G (C125A) (3)

<400> 18
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 19
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 四重突變 T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A)

<400> 19

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr

<210> 20
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 四重突變 T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (1)

<400> 20
gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 21
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 四重突變 T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (2)

<400> 21
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 22
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 四重突變 T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (3)

<400> 22
gctcctgcca gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 23
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10; VL

<400> 23

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 24
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10; VL

<400> 24
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 25
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10(GS); VL

<400> 25

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 26
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10(GS); VL

<400> 26
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 27
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10; VH

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10; VH

<400> 28
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 29
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11; VL

<400> 29

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 30

<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11; VL

<400> 30
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcgtccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 31
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11(VI); VL

<400> 31

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 32
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11(VI); VL

<400> 32
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 33
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11; VH

<400> 33

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 34
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11; VH

<400> 34
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac atggccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 35
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11(MT); VH

<400> 35

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 36
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11(MT); VH

<400> 36
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 37
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2; VL

<400> 37

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Tyr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 38
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2; VL

<400> 38
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt atccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtça gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 39
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2(YS); VL

<400> 39

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro

85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 40
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2(YS); VL

<400> 40
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 41
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2; VH

<400> 41

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2; VH

<400> 42
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 43
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9, VL

<400> 43

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 44
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9, VL

<400> 44
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 45
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9, VH

<400> 45

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 46
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9, VH

<400> 46
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 47
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9(TA); VH

<400> 47

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 48
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9(TA); VH

<400> 48
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 49
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8; VL

<400> 49

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 50
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8; VL

<400> 50
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggacg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 51
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8; VH

<400> 51

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8; VH

<400> 52
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 53
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3; VL

<400> 53

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Tyr Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 54
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3; VL

<400> 54
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 55
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3; VH

<400> 55

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 56
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3; VH

<400> 56
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 57
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4D6; VL

<400> 57

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Gln Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 58
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4D6; VL

<400> 58
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatccag ggcgcctcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 59
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4D6; VH

<400> 59

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 60
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4D6; VH

<400> 60
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 61
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C6; VL

<400> 61

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 62
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C6; VL

<400> 62
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag caggctggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 63
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C6; VH

<400> 63

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Ala Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 64
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C6; VH

<400> 64
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatc cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggga gtgctggtta tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 65
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5H5; VL

<400> 65

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 66
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5H5; VL

<400> 66
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 67
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5H5; VH

<400> 67

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Thr Met Ser Trp Val Arg Arg Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 68
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5H5; VH

<400> 68
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatacca tgagctgggt ccgccggtct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtg gtggtaggac atactacgca 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa aggttggttt 300

acgccttttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 69
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C4; VL

<400> 69

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 70
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C4; VL

<400> 70
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agtaactact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcctcca ttagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 71
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C4; VH

<400> 71

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2C4; VH

<400> 72
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 73
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2D9; VL

<400> 73

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 74
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2D9; VL

<400> 74
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 75
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2D9; VH

<400> 75

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 76
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2D9; VH

<400> 76
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 77
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B8; VL

<400> 77

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 78
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B8; VL

<400> 78
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 79
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B8; VH

<400> 79

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 80
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B8; VH

<400> 80
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 81
<211> 108

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 7A1; VL

<400> 81

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 82
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 7A1; VL

<400> 82
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 83
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 7A1; VH

<400> 83

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 84
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 7A1; VH

<400> 84
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 85
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 13C2; VL

<400> 85

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 86
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 13C2; VL

<400> 86
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 13C2; VH

<400> 87

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88

<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 13C2; VH

<400> 88
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 89
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 13E8; VL

<400> 89

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Asn Ile Pro
85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 90
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 13E8; VL

<400> 90
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtctga atattccctc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 91
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 13E8; VH

<400> 91

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 13E8; VH

<400> 92
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 93
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 14C10; VL

<400> 93

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ile Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 94
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 14C10; VL

<400> 94
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcata ttattccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 95
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 14C10; VH

<400> 95

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ala Trp Met Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 14C10; VH

<400> 96
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcttgg 300

atggggcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 97
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 17A11; VL

<400> 97

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Asn Ile Pro

85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 98
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 17A11; VL

<400> 98
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtctga tattccctc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 99
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 17A11; VH

<400> 99

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 17A11; VH

<400> 100
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 101
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 19G1; VL

<400> 101

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 102
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 19G1; VL

<400> 102
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 103
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 19G1; VH

<400> 103

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 19G1; VH

<400> 104
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt caccttagc agttatgcga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg attattagta gtggtggtct cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 105
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 20G8; VL

<400> 105

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 106
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 20G8; VL

<400> 106
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 107
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 20G8; VH

<400> 107

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 108
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 20G8; VH

<400> 108
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcaa tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggga gtggtagtcg tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 109
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9; VL

<400> 109

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 110
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9; VL

<400> 110
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 111
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9; VH

<400> 111

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 112
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9; VH

<400> 112
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtgctag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 113
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5B8; VL

<400> 113

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 114
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5B8; VL

<400> 114
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 115
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5B8; VH

<400> 115

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Gly Gly Gly Arg Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 116
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5B8; VH

<400> 116
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttggggtg gtggtcgtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 117
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5F1; VL

<400> 117

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 118
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5F1; VL

<400> 118
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 119
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5F1; VH

<400> 119

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 120
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5F1; VH

<400> 120
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattagta gtggggctag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 121
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 14B3; VL

<400> 121

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 122
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 14B3; VL

<400> 122
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 123
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 14B3; VH

<400> 123

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 124
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 14B3; VH

<400> 124
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attttggcta gtggtgcgat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 125
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 16F1; VL

<400> 125

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 126
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 16F1; VL

<400> 126
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 127
<211> 117
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 16F1; VH

<400> 127

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 128
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 16F1; VH

<400> 128
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attattggta gtggtggtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 129
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 16F8; VL

<400> 129

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 130
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 16F8; VL

<400> 130
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 131
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 16F8; VH

<400> 131

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Leu Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 132
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 16F8; VH

<400> 132
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcttggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 133
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 03C9; VL

<400> 133

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 134
<211> 324

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 03C9; VL

<400> 134
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 135
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 03C9; VH

<400> 135

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 136
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 03C9; VH

<400> 136
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttttgcca tgagctgggt ccgtcagtct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtaa cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 137
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 02D7; VL

<400> 137

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Thr Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 138
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 02D7; VL

<400> 138
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcacccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggctatta tgcttcctcc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 139
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> O2D7; VH

<400> 139

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 140
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> O2D7; VH

<400> 140
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 141
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1; VL

<400> 141

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 142
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1; VL

<400> 142
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 143
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1; VH

<400> 143

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 144
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1; VH

<400> 144
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agtcatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttgggcta gtggggagca atactacgca 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa agggtggctg 300

ggtaattttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 145
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 22A3; VL

<400> 145

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 146
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 22A3; VL

<400> 146
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 147
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 22A3; VH

<400> 147

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 148
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 22A3; VH

<400> 148
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 149
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 29B11; VL

<400> 149

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 150
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 29B11; VL

<400> 150
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 151
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 29B11; VH

<400> 151

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 152
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 29B11; VH

<400> 152
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtggtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 153
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 23C10; VL

<400> 153

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 154
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 23C10; VL

<400> 154
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 155
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 23C10; VH

<400> 155

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Thr Asn Gly Asn Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 156
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 23C10; VH

<400> 156
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttctgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtacta atggtaatta tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 157
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3B6; VL

<400> 157

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 158
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3B6; VL

<400> 158
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 159
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 159

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 160
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 160
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6A12; VL

<400> 161

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 162
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6A12; VL

<400> 162
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 163
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6A12; VH

<400> 163

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 164
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6A12; VH

<400> 164
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 165
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3A6; VL

<400> 165

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ser Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 166
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3A6; VL

<400> 166
gacatccaga tgacccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat tcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 167
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3A6; VH

<400> 167

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 168
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_C3A6; VH

<400> 168
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 169
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VL

<400> 169

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 170
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VL

<400> 170
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 171
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 171

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 172
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 172
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 173
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VL

<400> 173

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 174
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VL

<400> 174
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 175
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VH

<400> 175

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 176
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VH

<400> 176
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 177
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_07D8; VL

<400> 177

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Val
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 178
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_07D8; VL

<400> 178
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 179
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_07D8; VH

<400> 179

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 180
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_07D8; VH

<400> 180
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 181
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_01F7; VL

<400> 181

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 182
<211> 321

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_01F7; VL

<400> 182
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcctgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 183
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_01F7; VH

<400> 183

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 184
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_01F7; VH

<400> 184
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag gaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 185
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6H10; VL

<400> 185

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Gln Ala Ala Thr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 186
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6H10; VL

<400> 186
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatccaggct gctaccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 187
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6H10; VH

<400> 187

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 188
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10_6H10; VH

<400> 188
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 189
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG1; VH

<400> 189

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 190
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG1; VH

<400> 190
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtcaagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagt 366

<210> 191
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> KV9; VL

<400> 191

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 192
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> KV9; VL

<400> 192
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 193
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG; VH

<400> 193

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 194
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG; VH

<400> 194
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagt 366

<210> 195
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> KV1; VL

<400> 195

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 196
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> KV1; VL

<400> 196
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaacttag cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg 330

<210> 197
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> KV7; VL

<400> 197

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 198
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> KV7; VL

<400> 198
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg 330

<210> 199

<211> 603
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L19 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 199

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
290 295 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305 310 315 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ser
405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
420 425 430

Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
435 440 445

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
450 455 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
465 470 475 480

Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
500 505 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly

565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600

<210> 200
<211> 1809
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> L19 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 200
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agtttttcga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatct atttccggta gttcgggtac cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaccgttt 300

ccgtattttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcgagtgc tagcaccaag 360

ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

tccggcggag gagggagcgg cggaggtggc tccggaggtg gcggagcacc tgcctcaagt 720

tctacaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg 780

aatggaatta ataattacaa gaatcccaaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc 840

atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900

ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960

atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020

gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080

caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggat ccggcggagg tggctctggc 1140

ggtggcggag aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtacagcc tgggggggtcc 1200

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc acctttagca gtttttcgat gagctgggtc 1260

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtctcatcta tttccggtag ttcgggtacc 1320

acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440

aaaccgtttc cgtattttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcgagtgct 1500

agcaccaagg gcccatcggt cttcccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 1680

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa 1800

tcttgtgac 1809

<210> 201
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L19 輕鏈

<400> 201

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Tyr Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Gly Arg Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 202

<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> L19 輕鏈

<400> 202
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat tatgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagacgggtc gtattcctcc gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 203
<211> 641
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F16 scFv-IL2 qm-scFv

<400> 203

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu
130 135 140

Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr
145 150 155 160

Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val
165 170 175

Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
180 185 190

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
195 200 205

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met
210 215 220

Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
225 230 235 240

Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Pro
245 250 255

Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu
260 265 270

Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro
275 280 285

Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala
290 295 300

Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu
305 310 315 320

Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro
325 330 335

Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly
340 345 350

Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile
355 360 365

Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser
370 375 380

Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
385 390 395 400

Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu
405 410 415

Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr
420 425 430

Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val

435 440 445

Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
450 455 460

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
465 470 475 480

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met
485 490 495

Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Glu Val
515 520 525

Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
530 535 540

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Met
545 550 555 560

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
565 570 575

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
580 585 590

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
595 600 605

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
610 615 620

Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
625 630 635 640

Ser

<210> 204
<211> 1923
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F16 scFv-IL2 qm-scFv

<400> 204
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc cggtatggta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgcat 300

aatgcttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tgtcgagagg tggaggcggt 360

tcaggcggag gtggctctgg cggtggcgga tcgtctgagc tgactcagga ccctgctgtg 420

tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc acatgccaag gagacagcct cagaagctat 480

tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa 540

aacaaccggc cctcagggat cccagaccga ttctctggct ccagctcagg aaacacagct 600

tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa gatgaggctg actattactg taactcctct 660

gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc ggagggacca agctgaccgt cctaggctct 720

tcctcatcgg gtagtagctc ttccggctca tcgtcctccg gagcacctgc ctcaagttct 780

acaaagaaaa cacagctaca actggagcat ttactgctgg atttacagat gattttgaat 840

ggaattaata attacaagaa tcccaaactc accaggatgc tcacagccaa gtttgccatg 900

cccaagaagg ccacagaact gaaacatctt cagtgtctag aagaagaact caaacctctg 960

gaggaagtgc taaatggcgc tcaaagcaaa aactttcact taagacccag ggacttaatc 1020

agcaatatca acgtaatagt tctggaacta aagggatctg aaacaacatt catgtgtgaa 1080

tatgctgatg agacagcaac cattgtagaa tttctgaaca gatggattac ctttgcccaa 1140

agcatcatct caacactgac ttccggcgga ggagggagcg gcggaggtgg ctctggcggt 1200

ggcggatcgt ctgagctcac tcaggaccct gctgtgtctg tggccttggg acagacagtc 1260

aggatcacat gccaaggaga cagcctcaga agctattatg caagctggta ccagcagaag 1320

ccaggacagg cccctgtact tgtcatctat ggtaaaaaca accggccctc agggatccca 1380

gaccgattct ctggctccag ctcaggaaac acagcttcct tgaccatcac tggggctcag 1440

gcggaagatg aggctgacta ttactgtaac tcctctgttt atactatgcc gcccgtggta 1500

ttcggcggag ggaccaagct taccgtacta ggctcaggag gcggttcagg cggaggttct 1560

ggcggcggta gcggatcgga ggtgcagctg ttggagtctg ggggaggctt ggtacagcct 1620

gggggtccc tgagactctc ctgtgcagcc tctggattca cctttagccg gtatggtatg 1680

agctgggtcc gccaggctcc agggaagggg ctggagtggg tctcagctat tagtggtagt 1740

ggtggtagca catactacgc agactccgtg aagggccggt tcaccatctc cagagacaat 1800

tccaagaaca cgctgtatct gcaaatgaac agcctgagag ccgaggacac ggccgtatat 1860

tactgtgcga aagcgcataa tgcttttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtg 1920

tcg 1923

<210> 205
<211> 603
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F16 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 205

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Ser Ser Ser
210 215 220

Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
290 295 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305 310 315 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly
405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
420 425 430

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
435 440 445

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
450 455 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
465 470 475 480

Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
500 505 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600

<210> 206
<211> 1809
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F16 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 206
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc cggtatggta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgcat 300

aatgcttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tgtcgagtgc tagcaccaag 360

ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

tcttcctcat cgggtagtag ctcttccggc tcatcgtcct ccggagcacc tgcctcaagt 720

tctacaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg 780

aatggaatta ataattacaa gaatcccaaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc 840

atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900

ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960

atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020

gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080

caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggga gcggcggagg tggctctggc 1140

ggtggcggag aggtgcaatt gttggagtct gggggaggct tggtacagcc tgggggtcc 1200

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc acctttagcc ggtatggtat gagctgggtc 1260

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtctcagcta ttagtggtag tggtggtagc 1320

acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440

aaagcgcata atgcttttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt gtcgagtgct 1500

agcaccaagg gcccatcggt cttcccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 1680

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 1800

tcttgtgac 1809

<210> 207
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F16 輕鏈

<400> 207

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met Pro Pro
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 208
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F16 輕鏈

<400> 208
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60

acatgccaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120

caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180

ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gatgaggctg actattactg taactcctct gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc 300

ggagggacca agctgaccgt cctaggtcaa cccaaggctg cccccagcgt gaccctgttc 360

cccccagca gcgaggaact gcaggccaac aaggccaccc tggtctgcct gatcagcgac 420

ttctacccag gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgaca gcagccccgt gaaggccggc 480

gtggagacca ccacccccag caagcagagc aacaacaagt acgccgccag cagctacctg 540

agcctgaccc ccgagcagtg gaagagccac aggtcctaca gctgccaggt gacccacgag 600

ggcagcaccg tggagaaaac cgtggccccc accgagtgca gc 642

<210> 209
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 209

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 210
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 210
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300
tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660
gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720
agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780
ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840
gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900
cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960
ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020
tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080
gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140
ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200
tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggtttggtgg ttttaactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 211
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 211

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 212
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 212
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 213
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 213

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 214
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 214
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc tatgagctgg 1260

gtccgccaga ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattggtgt tagtactggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaaggtt ggctgggtcc ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 215
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 215

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 216
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 216
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acaccgccgt atattactgt 1440

gcgaaatgga gatggatgat gtttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 217
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 217

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 218
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 218
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 219
<211> 603
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1 Fab-IL2 qm-Fab(重鏈細胞因子融合構築體)

<400> 219

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
290 295 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305 310 315 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
420 425 430

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
450 455 460

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
465 470 475 480

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
500 505 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600

<210> 220
<211> 1809
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 220
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggaccctccg tgttcccccc ggcccccctcc agcaagtcta cctctggcgg caccgccgct 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 480

gccctgacca gcggcgtcca cacctttcca gccgtgctgc agtcctccgg cctgtactcc 540

ctgtcctccg tcgtgaccgt gccctccagc tctctgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaaccaca agccctccaa caccaaggtg gacaagaagg tggaacccaa gtcctgcgac 660

agtggtgggg gaggatctgg tggcggaggt tctggcggag gtggcgctcc tgcctcctcc 720

agcaccaaga aaacccagct ccagctggaa catctcctgc tggatctgca gatgatcctg 780

aacggcatca acaactacaa gaaccccaag ctgacccgga tgctgaccgc caagttcgcc 840

atgcccaaga aggccaccga gctgaaacat ctgcagtgcc tggaagagga actgaagcct 900

ctggaagagg tgctgaacgg cgcccagtcc aagaacttcc acctgaggcc tcgggacctg 960

atctccaaca tcaacgtgat cgtgctggaa ctgaagggct ccgagacaac cttcatgtgc 1020

gagtacgccg acgagacagc taccatcgtg gaatttctga accggtggat caccttcgcc 1080

cagtccatca tctccaccct gacctccggt ggtggcggat ccgggggagg gggttctggc 1140

ggaggcggag aagtgcagct gctggaatcc ggcggaggcc tggtgcagcc tggcggatct 1200

ctgagactgt cctgcgccgc ctccggcttc accttctcct cccacgccat gtcctgggtc 1260

cgacaggctc caggcaaggg cctggaatgg gtgtccgcca tctgggcctc cggcgagcag 1320

tactacgccg actctgtgaa gggccggttc accatctccc gggacaactc caagaacacc 1380

ctgtacctgc agatgaactc cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgtgccaag 1440

ggctggctgg gcaacttcga ctactggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtcctccgcc 1500

tctaccaagg gcccctccgt gttccctctg gcccccctcca gcaagtctac ctctggcggc 1560

accgccgctc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 1620

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gtcctccggc 1680

ctgtactccc tgtcctccgt cgtgaccgtg ccctccagct ctctgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaaggtgg acaagaaggt ggaacccaag 1800

tcctgcgac 1809

<210> 221
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 29B11 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 221

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu

290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 222
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 29B11 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 222
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60
tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120
cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ccggcggcat cacctactac 180
gccgactctg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgtgc caagggctgg 300
ttcggaggct tcaactactg gggacagggc accctggtca ccgtgtccag cgctagcacc 360
aagggaccct ccgtgttccc cctggccccc tccagcaagt ctacctctgg cggcaccgcc 420
gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 480
ggcgccctga ccagcggcgt ccacaccttt ccagccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac 540
tccctgtcct ccgtcgtgac cgtgccctcc agctctctgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagtcctgc 660
gacagtggtg ggggaggatc tggtggcgga ggttctggcg gaggtggcgc tcctgcctcc 720
tccagcacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctcc tgctggatct gcagatgatc 780
ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840
gccatgccca agaaggccac cgagctgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900
cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag tccaagaact tccacctgag gcctcgggac 960
ctgatctcca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gctccgagac aaccttcatg 1020
tgcgagtacg ccgacgagac agctaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080
gcccagtcca tcatctccac cctgacctcc ggtggtggcg gatccggggg aggggttct 1140
ggcggaggcg gagaagtgca gctgctggaa tccggcggag gcctggtgca gcctggcgga 1200
tctctgagac tgtcctgcgc cgcctccggc ttcaccttct cctcctatgc catgtcctgg 1260
gtccgacagg ctccaggcaa gggcctggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctccggcggc 1320
atcacctact acgccgactc tgtgaagggc cggttcacca tctcccggga caactccaag 1380
aacaccctgt acctgcagat gaactccctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgt 1440
gccaagggct ggttcggagg cttcaactac tggggccagg gcaccctggt caccgtgtcc 1500
tccgcctcta ccaagggccc ctccgtgttc cctctggccc cctccagcaa gtctacctct 1560
ggcggcaccg ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620
tcctggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagtcc 1680
tccggcctgt actccctgtc ctccgtcgtg accgtgccct ccagctctct gggcacccag 1740
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800
cccaagtcct gcgac 1815

<210> 223
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 19G1 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 223

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 224
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 19G1 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 224
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60
tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120
cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcagct ctggcggcct gacctactac 180
gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300
ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360
aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420
gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480
ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540
agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660
gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720
agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780
ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840
gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900
cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960
ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020
tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080
gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140
ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200
agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260
gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcag ctctggcggc 1320
ctgacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440
gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500
agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560
ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 225
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 20G8 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 225

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 226
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 20G8 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 226
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcagccg gacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcagc 1320

cggacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 227
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 227

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 228
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 228
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcgcc 1320

agcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 229
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 14B3 Fab-IL2 qm-Fab （重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 229

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 230
<211> 1815
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 14B3 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 230
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcctggcct ctggcgccat cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcctggc ctctggcgcc 1320

atcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 231
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2 輕鏈

<400> 231

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 232
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3F2 輕鏈

<400> 232
gagatcgtgc tgacccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60

ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgacc tcctcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120

cccggccagg cccctcggct gctgatcaac gtgggcagtc ggagagccac cggcatccct 180

gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa 240

cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggcatca tgctgccccc caccttggc 300

cagggcacca aggtggaaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360

ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccgcg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480

caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 233
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 輕鏈

<400> 233

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 234
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 輕鏈

<400> 234
gagatcgtgc tgacccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60

ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgtcc cggtcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120

cccggccagg cccctcggct gctgatcatc ggcgcctcta ccagagccac cggcatccct 180

gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa 240

cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggccagg tcatccctcc cacctttggc 300

cagggcacca aggtggaaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360

ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccgcg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480

caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 235
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9 輕鏈

<400> 235

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 236

<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 3D9 輕鏈

<400> 236
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 237
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11輕鏈

<400> 237

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 238
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2F11輕鏈

<400> 238
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 239
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3 輕鏈

<400> 239

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Tyr Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 240
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B3 輕鏈

<400> 240
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 241
<211> 613
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 241

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
325 330 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385 390 395 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
405 410 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
420 425 430

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr
435 440 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
450 455 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465 470 475 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
515 520 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 242
<211> 1839
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 242
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360
tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660
cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840
acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960
agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080
tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140
ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200
aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260
gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agggatcatc 1320
cctatctttg gtacagcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380
gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 243
<211> 613
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C3B6 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 243

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
325 330 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385 390 395 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
405 410 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
420 425 430

Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr
435 440 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
450 455 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465 470 475 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
515 520 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 244
<211> 1839
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C3B6 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 244
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360
tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660
cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840
acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960
agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agctatcatc 1320

ccgatccttg gtatcgcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 245
<211> 613
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 6A12 Fab-IL2 qm-Fab (重鏈細胞因子融合構築體)

<400> 245

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
325 330 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385 390 395 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
405 410 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
420 425 430

Leu Glu Trp Met Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr
435 440 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
450 455 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465 470 475 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
515 520 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 246
<211> 1839
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 6A12 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 246
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctat 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agtgatcatc 1320

cctatccttg gtaccgcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 247
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10輕鏈

<400> 247

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 248
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 2B10 輕鏈

<400> 248
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 249
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> D1A2 輕鏈

<400> 249

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 250
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> D1A2輕鏈

<400> 250
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 251
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 07D8 輕鏈

<400> 251

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Val
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 252
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 07D8 輕鏈

<400> 252
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 253
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG1 Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 253

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
245 250 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
260 265 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro
275 280 285

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
290 295 300

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
305 310 315 320

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
325 330 335

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
340 345 350

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
355 360 365

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
385 390 395 400

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
405 410 415

Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

420 425 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly
435 440 445

Arg Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
450 455 460

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His
485 490 495

Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
500 505 510

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
515 520 525

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
530 535 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
545 550 555 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
565 570 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
580 585 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
595 600 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
610 615

<210> 254
<211> 1845
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG1 Fab-IL2 qm-Fab(重鏈細胞因子融合構築體)

<400> 254
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtcaagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagtt 660

gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc 720

ggagcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 780

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 840

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140

ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200

gtcaagcctg gcgggtccct gcggctctcc tgtgcagcct ccggattcac atttagcaac 1260

tattggatga actgggtgcg gcaggctcct ggaaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320

agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgctgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380

atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440

gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcacta cttcgaccac 1500

tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc 1560

cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 1680

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740

accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 1800

agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 255
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> KV9 輕鏈

<400> 255

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 256
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> KV9 輕鏈

<400> 256
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 257
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG Fab-IL2 qm-Fab（重鏈細胞因子融合構築體）

<400> 257

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
245 250 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
260 265 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro

275 280 285

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
290 295 300

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
305 310 315 320

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
325 330 335

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
340 345 350

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
355 360 365

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
385 390 395 400

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
405 410 415

Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
420 425 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly
435 440 445

Arg Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
450 455 460

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His
485 490 495

Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
500 505 510

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
515 520 525

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
530 535 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
545 550 555 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
565 570 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
580 585 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
595 600 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
610 615

<210> 258
<211> 1845
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> MHLG Fab-IL2 qm-Fab(重鏈細胞因子融合構築體)

<400> 258
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagtt 660

gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc 720

ggagcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 780

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 840

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140

ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200

gtccagcctg gcgggtccct gcggctctcc tgtgcagcct ccggattcac atttagcaac 1260

tattggatga actgggtgcg gcaggctcct ggaaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320

agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgctgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380

atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440

gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcacta cttcgaccac 1500

tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc 1560

cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 1680

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740

accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 1800

agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 259
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> KV1輕鏈

<400> 259

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 260
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> KV1 輕鏈

<400> 260
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaacttag cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 261
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> KV7 輕鏈

<400> 261

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 262
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> KV7 輕鏈

<400> 262
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 263
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 263

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 264
<211> 57

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 264
atggactgga cctggagaat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 265
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 265
atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 266
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 266

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
20

<210> 267
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 267
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60

aggtgt 66

<210> 268
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 268

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 269
<211> 57
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 269
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattcc 57

<210> 270
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 270
atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggctaccg ccactggagt gcattcc 57

<210> 271
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 271
atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtcgccacag ccaccggcgt gcactct 57

<210> 272
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 272

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

Val Thr Asn Ser
20

<210> 273
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 前導序列

<400> 273
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60

<210> 274
<211> 466
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IL-2R-β-Fc（孔洞）融合蛋白

<400> 274

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Asn Gly Thr Ser Gln Phe Thr Cys
20 25 30

Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly
35 40 45

Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg
50 55 60

Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp
65 70 75 80

Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Thr
85 90 95

Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp
100 105 110

Arg Val Met Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu
115 120 125

Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys
130 135 140

Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His
145 150 155 160

Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu
165 170 175

Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu
180 185 190

Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro
195 200 205

Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala
210 215 220

Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp
225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 275
<211> 1401
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IL-2R-β-Fc（孔洞）融合蛋白

<400> 275
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60

aggtgtgcgg tgaatggcac ttcccagttc acatgcttct acaactcgag agccaacatc 120

tcctgtgtct ggagccaaga tggggctctg caggacactt cctgccaagt ccatgcctgg 180

ccggacagac ggcggtggaa ccaaacctgt gagctgctcc ccgtgagtca agcatcctgg 240

gcctgcaacc tgatcctcgg agccccagat tctcagaaac tgaccacagt tgacatcgtc 300

accctgaggg tgctgtgccg tgaggggtg cgatggaggg tgatggccat ccaggacttc 360

aagccctttg agaaccttcg cctgatggcc cccatctccc tccaagttgt ccacgtggag 420

acccacagat gcaacataag ctgggaaatc tcccaagcct cccactactt tgaaagacac 480

ctggagttcg aggcccggac gctgtcccca ggccacacct gggaggaggc ccccctgctg 540

actctcaagc agaagcagga atggatctgc ctggagacgc tcaccccaga cacccagtat 600

gagtttcagg tgcgggtcaa gcctctgcaa ggcgagttca cgacctggag cccctggagc 660

cagcccctgg ccttcagaac aaagcctgca gcccttggga aggacaccgg agctcaggac 720

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaactcc tgggggacc gtcagtcttc 780

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1140

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380

tccctgtctc cgggtaaatg a 1401

<210> 276
<211> 492
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IL-2R-β-Fc（孔洞）融合蛋白

<400> 276

Met Leu Lys Pro Ser Leu Pro Phe Thr Ser Leu Leu Phe Leu Gln Leu
1 5 10 15

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

Asn Glu Asp Thr Thr Ala Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp
35 40 45

Ser Leu Ser Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val
50 55 60

Phe Asn Val Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro
65 70 75 80

Gln Pro Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn
85 90 95

Asp Lys Val Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr
100 105 110

Ser Gly Cys Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe
115 120 125

Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln
130 135 140

Met Leu Lys Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu
145 150 155 160

Thr Leu His Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn
165 170 175

Arg Phe Leu Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp
180 185 190

Trp Asp His Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe
195 200 205

Ser Leu Pro Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg
210 215 220

Ser Arg Phe Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp
225 230 235 240

Ser His Pro Ile His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe
245 250 255

Leu Phe Ala Leu Glu Ala Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 277
<211> 1479
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IL-2R-γ-Fc（凸起）融合蛋白

<400> 277
atgttgaagc catcattacc attcacatcc ctcttattcc tgcagctgcc cctgctggga 60

gtggggctga acacgacaat tctgacgccc aatgggaatg aagacaccac agctgatttc 120

ttcctgacca ctatgcccac tgactccctc agtgtttcca ctctgcccct cccagaggtt 180

cagtgttttg tgttcaatgt cgagtacatg aattgcactt ggaacagcag ctctgagccc 240

cagcctacca acctcactct gcattattgg tacaagaact cggataatga taaagtccag 300

aagtgcagcc actatctatt ctctgaagaa atcacttctg gctgtcagtt gcaaaaaaag 360

gagatccacc tctaccaaac atttgttgtt cagctccagg acccacggga acccaggaga 420

caggccacac agatgctaaa actgcagaat ctggtgatcc cctgggctcc agagaaccta 480

acacttcaca aactgagtga atcccagcta gaactgaact ggaacaacag attcttgaac 540

cactgtttgg agcacttggt gcagtaccgg actgactggg accacagctg gactgaacaa 600

tcagtggatt atagacataa gttctccttg cctagtgtgg atgggcagaa acgctacacg 660

tttcgtgttc ggagccgctt taacccactc tgtggaagtg ctcagcattg gagtgaatgg 720

agccacccaa tccactgggg gagcaatact tcaaaagaga atcctttcct gtttgcattg 780

gaagccggag ctcaggacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 840

gggggaccgt cagtcttcct cttccccccа aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 900

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatgccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg tggtgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1479

<210> 278
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IL-2Rα 亞單位+Avi 標籤+His 標籤

<400> 278

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala
20 25 30

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

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

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

Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro
85 90 95

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

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

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

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

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

Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln
180 185 190

Gly Gly Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp
195 200 205

His Glu Ala Arg Ala His His His His His His
210 215

<210> 279
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IL-2Rα 亞單位+Avi 標籤+His 標籤

<400> 279
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag 60

ctctgtgacg atgacccgcc agagatccca cacgccacat tcaaagccat ggcctacaag 120

gaaggaacca tgttgaactg tgaatgcaag agaggtttcc gcagaataaa aagcgggtca 180

ctctatatgc tctgtacagg aaactctagc cactcgtcct gggacaacca atgtcaatgc 240

acaagctctg ccactcggaa cacaacgaaa caagtgacac ctcaacctga agaacagaaa 300

gaaaggaaaa ccacagaaat gcaaagtcca atgcagccag tggaccaagc gagccttcca 360

ggtcactgca gggaacctcc accatgggaa aatgaagcca cagagagaat ttatcatttc 420

gtggtggggc agatggttta ttatcagtgc gtccagggat acagggctct acacagaggt 480

cctgctgaga gcgtctgcaa aatgacccac gggaagacaa ggtggaccca gccccagctc 540

atatgcacag gtgtcgacga acagttatat tttcagggcg gctcaggcct gaacgacatc 600

ttcgaggccc agaagatcga gtggcacgag gctcgagctc accaccatca ccatcactga 660

<210> 280
<211> 473
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠類 IL-2R-β-Fc（孔洞）融合蛋白

<400> 280

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Lys
20 25 30

Asn Cys Ser His Leu Glu Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Val Ser
35 40 45

Cys Met Trp Ser His Glu Glu Ala Leu Asn Val Thr Thr Cys His Val
50 55 60

His Ala Lys Ser Asn Leu Arg His Trp Asn Lys Thr Cys Glu Leu Thr
65 70 75 80

Leu Val Arg Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ser Phe
85 90 95

Pro Glu Ser Gln Ser Leu Thr Ser Val Asp Leu Leu Asp Ile Asn Val
100 105 110

Val Cys Trp Glu Glu Lys Gly Trp Arg Arg Val Lys Thr Cys Asp Phe
115 120 125

His Pro Phe Asp Asn Leu Arg Leu Val Ala Pro His Ser Leu Gln Val
130 135 140

Leu His Ile Asp Thr Gln Arg Cys Asn Ile Ser Trp Lys Val Ser Gln
145 150 155 160

Val Ser His Tyr Ile Glu Pro Tyr Leu Glu Phe Glu Ala Arg Arg Arg
165 170 175

Leu Leu Gly His Ser Trp Glu Asp Ala Ser Val Leu Ser Leu Lys Gln
180 185 190

Arg Gln Gln Trp Leu Phe Leu Glu Met Leu Ile Pro Ser Thr Ser Tyr
195 200 205

Glu Val Gln Val Arg Val Lys Ala Gln Arg Asn Asn Thr Gly Thr Trp
210 215 220

Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Thr Phe Arg Thr Arg Pro Ala Asp Pro
225 230 235 240

Met Lys Glu Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 281
<211> 1422

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠類 IL-2R-β-Fc（孔洞）融合蛋白

<400> 281
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt ccccctcctg 60

ctgctctggt tcccaggtgc caggtgtgca gtgaaaaact gttcccatct tgaatgcttc 120

tacaactcaa gagccaatgt ctcttgcatg tggagccatg aagaggctct gaatgtcaca 180

acctgccacg tccatgccaa gtcgaacctg cgacactgga acaaaacctg tgagctaact 240

cttgtgaggc aggcatcctg ggcctgcaac ctgatcctcg ggtcgttccc agagtcccag 300

tcactgacct ccgtggacct ccttgacata aatgtggtgt gctgggaaga gaagggttgg 360

cgtagggtaa agacctgcga cttccatccc tttgacaacc ttcgcctggt ggcccctcat 420

tccctccaag ttctgcacat tgatacccag agatgtaaca taagctggaa ggtctcccag 480

gtctctcact acattgaacc atacttggaa tttgaggccc gtagacgtct tctgggccac 540

agctgggagg atgcatccgt attaagcctc aagcagagac agcagtggct cttcttggag 600

atgctgatcc ctagtacctc atatgaggtc caggtgaggg tcaaagctca acgaaacaat 660

accgggacct ggagtccctg gagccagccc ctgacctttc ggacaaggcc agcagatccc 720

atgaaggagg gagctcagga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc 780

ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 840

cggaccccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 900

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 960

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1020

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1080

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtgcaccct gccccatcc 1140

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctctcgtgcg cagtcaaagg cttctatccc 1200

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1260

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctcgtga gcaagctcac cgtggacaag 1320

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1380

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1422

<210> 282
<211> 500
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠類 IL-2R-γ-Fc（凸起）融合蛋白

<400> 282

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Trp Ser Ser
20 25 30

Lys Val Leu Met Ser Ser Ala Asn Glu Asp Ile Lys Ala Asp Leu Ile

35 40 45

Leu Thr Ser Thr Ala Pro Glu His Leu Ser Ala Pro Thr Leu Pro Leu
50 55 60

Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Ile Glu Tyr Met Asn Cys Thr
65 70 75 80

Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Ala Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr
85 90 95

Arg Tyr Lys Val Ser Asp Asn Asn Thr Phe Gln Glu Cys Ser His Tyr
100 105 110

Leu Phe Ser Lys Glu Ile Thr Ser Gly Cys Gln Ile Gln Lys Glu Asp
115 120 125

Ile Gln Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Gln Lys
130 135 140

Pro Gln Arg Arg Ala Val Gln Lys Leu Asn Leu Gln Asn Leu Val Ile
145 150 155 160

Pro Arg Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Ser Asn Leu Ser Glu Ser Gln
165 170 175

Leu Glu Leu Arg Trp Lys Ser Arg His Ile Lys Glu Arg Cys Leu Gln
180 185 190

Tyr Leu Val Gln Tyr Arg Ser Asn Arg Asp Arg Ser Trp Thr Glu Leu
195 200 205

Ile Val Asn His Glu Pro Arg Phe Ser Leu Pro Ser Val Asp Glu Leu
210 215 220

Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Tyr Asn Pro Ile Cys Gly
225 230 235 240

Ser Ser Gln Gln Trp Ser Lys Trp Ser Gln Pro Val His Trp Gly Ser
245 250 255

His Thr Val Glu Glu Asn Pro Ser Leu Phe Ala Leu Glu Ala Gly Ala
260 265 270

Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305 310 315 320

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
405 410 415

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
485 490 495

Ser Pro Gly Lys
500

<210> 283
<211> 1503
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠類 IL-2R-γ-Fc（凸起）融合蛋白

<400> 283
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt ccccctcctg 60

ctgctctggt tcccaggtgc caggtgttgg agttccaagg tcctcatgtc cagtgcgaat 120

gaagacatca aagctgattt gatcctgact tctacagccc ctgaacacct cagtgctcct 180

actctgcccc ttccagaggt tcagtgcttt gtgttcaaca tagagtacat gaattgcact 240

tggaatagca gttctgagcc tcaggcaacc aacctcacgc tgcactatag gtacaaggta 300

tctgataata atacattcca ggagtgcagt cactatttgt tctccaaaga gattacttct 360

ggctgtcaga tacaaaaaga agatatccag ctctaccaga catttgttgt ccagctccag 420

gacccccaga aaccccagag gcgagctgta cagaagctaa acctacagaa tcttgtgatc 480

ccacgggctc cagaaaatct aacactcagc aatctgagtg aatcccagct agagctgaga 540

tggaaaagca gacatattaa agaacgctgt ttacaatact tggtgcagta ccggagcaac 600

agagatcgaa gctggacgga actaatagtg aatcatgaac ctagattctc cctgcctagt 660

gtggatgagc tgaaacggta cacatttcgg gttcggagcc gctataaccc aatctgtgga 720

agttctcaac agtggagtaa atggagccag cctgtccact gggggagtca tactgtagag 780

gagaatcctt ccttgtttgc actggaagct ggagctcagg acaaaactca cacatgccca 840

ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc 900

aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc 960

cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 1020

aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 1080

gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 1140

ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 1200

gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc 1260

ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 1320

gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt cttcctctac 1380

agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1440

atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1500

tga 1503

<210> 284
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠類 IL-2Rα 亞單位+Avi 標籤+His 標籤

<400> 284

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Cys Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Gly Leu Asn
180 185 190

Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Ala Arg Ala His
195 200 205

His His His His His
210

<210> 285
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠類 IL-2Rα 亞單位+Avi 標籤+His 標籤

<400> 285
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgaa 60

ctgtgtctgt atgacccacc cgaggtcccc aatgccacat tcaaagccct ctcctacaag 120

aacggcacca tcctaaactg tgaatgcaag agaggtttcc gaagactaaa ggaattggtc 180

tatatgcgtt gcttaggaaa ctcctggagc agcaactgcc agtgcaccag caactcccat 240

gacaaatcga gaaagcaagt tacagctcaa cttgaacacc agaaagagca acaaaccaca 300

acagacatgc agaagccaac acagtctatg caccaagaga accttacagg tcactgcagg 360

gagccacctc cttggaaaca tgaagattcc aagagaatct atcatttcgt ggaaggacag 420

agtgttcact acgagtgtat tccgggatac aaggctctac agagaggtcc tgctattagc 480

atctgcaaga tgaagtgtgg gaaaacgggg tggactcagc cccagctcac atgtgtcgac 540

gaacagttat attttcaggg cggctcaggc ctgaacgaca tcttcgaggc ccagaagatc 600

gagtggcacg aggctcgagc tcaccaccat caccatcact ga 642

<210> 286
<211> 480
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 短尾猴 IL-2R-β-Fc（凸起）融合蛋白+Avi 標籤

<400> 286

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Ala Val Asn Gly Thr Ser Arg Phe Thr Cys Phe Tyr Asn
20 25 30

Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln
35 40 45

Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn
50 55 60

Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn
65 70 75 80

Leu Ile Leu Gly Thr Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Ala Val Asp Ile
85 90 95

Val Thr Leu Arg Val Met Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp Arg Met Met
100 105 110

Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro
115 120 125

Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys Asn Ile Ser
130 135 140

Trp Lys Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His Leu Glu Phe
145 150 155 160

Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu
165 170 175

Met Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr
180 185 190

Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly
195 200 205

Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr
210 215 220

Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp Lys Thr His
225 230 235 240

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser
450 455 460

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
465 470 475 480

<210> 287
<211> 1443
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 短尾猴 IL-2R-β-Fc（凸起）融合蛋白+Avi 標籤

<400> 287
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgcg 60

gtcaacggca cttcccggtt cacatgcttc tacaactcga gagccaacat ctcctgtgtc 120

tggagccaag atggggctct gcaggacact tcctgccaag tccacgcctg gccggacaga 180

cggcggtgga accaaacctg tgagctgctc cctgtgagtc aagcatcctg ggcctgcaac 240

ctgatcctcg gaaccccaga ttctcagaaa ctgaccgcag tggatatcgt caccctgagg 300

gtgatgtgcc gtgaaggggt gcgatggagg atgatggcca tccaggactt caaacccttt 360

gagaaccttc gcctgatggc ccccatctcc ctccaagtcg tccacgtgga gacccacaga 420

tgcaacataa gctggaaaat ctcccaagcc tcccactact ttgaaagaca cctggagttt 480

gaggcccgga cgctgtcccc aggccacacc tgggaggagg ccccccctgat gaccctcaag 540

cagaagcagg aatggatctg cctggagacg ctcaccccag acacccagta tgagtttcag 600

gtgcgggtca agcctctgca aggcgagttc acgacctgga gcccctggag ccagcccctg 660

gccttcagga caaagcctgc agcccttggg aaggacaccg gagctcagga caaaactcac 720

acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 780

ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg 840

gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900

cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 960

gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 1020

aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1080

gaaccacagg tgtacaccct gccccccatgc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc 1140

ctgtggtgcc tggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200

gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1260

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320

tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380

ccgggtaaat ccggaggcct gaacgacatc ttcgaggccc agaagattga atggcacgag 1440

tga 1443

<210> 288
<211> 489
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 短尾猴 IL-2R-γ-Fc（孔洞）融合蛋白

<400> 288

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly Asn Glu Asp
20 25 30

Ala Thr Thr Asp Phe Phe Leu Thr Ser Met Pro Thr Asp Ser Leu Ser
35 40 45

Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Val
50 55 60

Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Pro Thr
65 70 75 80

Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn Asp Lys Val
85 90 95

Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr Ser Gly Cys
100 105 110

Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln
115 120 125

Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln Met Leu Lys
130 135 140

Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Arg
145 150 155 160

Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn Arg Phe Leu
165 170 175

Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp Trp Asp His
180 185 190

Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe Ser Leu Pro
195 200 205

Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Phe
210 215 220

Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp Ser His Pro
225 230 235 240

Ile His Trp Gly Ser Asn Ser Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu Phe Ala
245 250 255

Leu Glu Ala Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
260 265 270

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
275 280 285

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
290 295 300

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
305 310 315 320

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
325 330 335

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
340 345 350

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
355 360 365

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
370 375 380

Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
385 390 395 400

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
405 410 415

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
420 425 430

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
435 440 445

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
450 455 460

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
465 470 475 480

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

<210> 289
<211> 1470
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 短尾猴 IL-2R-γ-Fc（孔洞）融合蛋白

<400> 289
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccctg 60

aacacgacaa ttctgacgcc caatgggaat gaagacgcca caactgattt cttcctgacc 120

tctatgccca ctgactccct cagtgtttcc actctgcccc tcccagaggt tcagtgtttt 180

gtgttcaatg tcgagtacat gaattgcact tggaacagca gctctgagcc ccagcctacc 240

aacctcactc tgcattattg gtacaagaat tcggataatg ataaagtcca gaagtgcagc 300

cactatctat tctctgaaga aatcacttct ggctgtcagt tgcaaaaaaa ggagatccac 360

ctctaccaaa cgtttgttgt tcagctccag gacccacggg aacccaggag acaggccaca 420

cagatgctaa aactgcagaa tctggtgatc ccctgggctc cggagaacct aacacttcgc 480

aaactgagtg aatcccagct agaactgaac tggaacaaca gattcttgaa ccactgtttg 540

gagcacttgg tgcagtaccg gactgactgg gaccacagct ggactgaaca atcagtggat 600

tatagacata agttctcctt gcctagtgtg gatgggcaga aacgctacac gtttcgtgtc 660

cggagccgct ttaacccact ctgtggaagt gctcagcatt ggagtgaatg gagccaccca 720

atccactggg ggagcaatag ttcaaaagag aatcctttcc tgtttgcatt ggaagccgga 780

gctcaggaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 840

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 900

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 960

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 1020

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1080

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1140

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1200

accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1260

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1320

gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1380

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1440

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1470

<210> 290
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 短尾猴 IL-2Rα 亞單位+Avi 標籤+His 標籤

<400> 290

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Lys Ile Thr His Ala Thr Phe Lys
20 25 30

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
35 40 45

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Pro Tyr Met Leu Cys Thr Gly
50 55 60

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

Ala Ala Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
85 90 95

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Gln Met Gln Leu Ala Asp
100 105 110

Gln Val Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
115 120 125

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Thr Val Tyr
130 135 140

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

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
165 170 175

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly
180 185 190

Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
195 200 205

Ala Arg Ala His His His His His His
210 215

<210> 291
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 短尾猴 IL-2Rα 亞單位+Avi 標籤+His 標籤

<400> 291
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtga gctctgtgac 60

gatgacccgc caaaaatcac acatgccaca ttcaaagcca tggcctacaa ggaaggaacc 120

atgttgaact gtgaatgcaa gagaggtttc cgcagaataa aaagcgggtc accctatatg 180

ctctgtacag gaaactctag ccactcgtcc tgggacaacc aatgtcaatg cacaagctct 240

gctgctcgga acacaacaaa acaagtgaca cctcaacctg aagaacagaa agaaagaaaa 300

accacagaaa tgcaaagtca aatgcagctg gcggaccaag tgagccttcc aggtcactgc 360

agggaacctc caccgtggga aaatgaagcc acagaaagaa tttatcattt cgtggtgggg 420

cagacggttt actaccagtg cgtccaggga tacagggctc tacacagagg tcctgctgag 480

agcgtctgca aaatgaccca cgggaagaca agatggaccc agccccagct catatgcaca 540

ggtgaagtcg acgaacagtt atattttcag ggcggctcag gcctgaacga catcttcgag 600

gcccagaaga tcgagtggca cgaggctcga gctcaccacc atcaccatca ctga 654

<210> 292
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型 IL-2 (C125A) (4)

<400> 292
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 293
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 L72G (C125A) (4)

<400> 293
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 294
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 突變 L72G / F42A (C125A) (4)

<400> 294
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 295
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 三重突變 F42A / Y45A / L72G (C125A) (4)

<400> 295
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 296
<211> 399
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-2 四重突變 T3A / F42A /Y45A /L72G (C125A) (4)

<400> 296
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 297
<211> 593
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1 Fab 重鏈-Fc (凸起)-IL-2 qm

<400> 297

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser
450 455 460

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
465 470 475 480

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
485 490 495

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
500 505 510

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
515 520 525

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
530 535 540

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
545 550 555 560

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
565 570 575

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
580 585 590

Thr

<210> 298
<211> 1779
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1 Fab 重鏈-Fc（凸起）-IL-2 qm

<400> 298
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60
tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120
cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180
gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300
ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360
ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420
ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 720
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 780
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960
aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatgcc gggatgagct gaccaagaac 1080
caggtcagcc tgtggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1260
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320
tccctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggctcc 1380
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 1440
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 1500
acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 1560
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 1620
agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1680
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1740
tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 1779

<210> 299
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1 Fab重鏈-Fc（孔洞）

<400> 299

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 300
<211> 1338
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 28H1 Fab 重鏈-Fc(孔洞)

<400> 300
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggcccctccg tgttcccccc ggcccccagc agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaacagcgga 480

gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagttctgg cctgtatagc 540

ctgagcagcg tggtcaccgt gccttctagc agcctgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaagg tggagcccaa gagctgcgac 660

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc 720

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 780

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1080

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320

tccctgtctc cgggtaaa 1338

<210> 301
<211> 594
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9 Fab重鏈-Fc(凸起)-IL-2 qm

<400> 301

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala
450 455 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
465 470 475 480

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
485 490 495

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr
580 585 590

Leu Thr

<210> 302
<211> 1782
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9 Fab 重鏈-Fc（凸起） -IL-2 qm

<400> 302
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc 1380

tccgcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 1440

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 1620

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782

<210> 303
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9 Fab 重鏈-Fc（孔洞）

<400> 303

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 304
<211> 1341
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4B9 Fab 重鏈-Fc（孔洞）

<400> 304
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 305
<211> 592
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47GS Fab 重鏈-Fc（凸起） -IL-2 qm

<400> 305

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys

355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
435 440 445

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser
450 455 460

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
465 470 475 480

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
485 490 495

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
500 505 510

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
515 520 525

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
530 535 540

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
545 550 555 560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
565 570 575

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
580 585 590

<210> 306
<211> 1776
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47GS Fab 重鏈-Fc（凸起） -IL-2 qm

<400> 306
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc 300

ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc 360

ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480

ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540

agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600

aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660

actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc 720

ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatgccggg atgagctgac caagaaccag 1080

gtcagcctgt ggtgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200

tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320

ctgtctccgg gtggcggcgg aggctccgga ggcggaggtt ctggcggagg tggctccgca 1380

cctgcctcaa gttctacaaa gaaaacacag ctacaactgg agcatttact gctggattta 1440

cagatgattt tgaatggaat taataattac aagaatccca aactcaccag gatgctcaca 1500

gccaagtttg ccatgcccaa gaaggccaca gaactgaaac atcttcagtg tctagaagaa 1560

gaactcaaac ctctggagga agtgctaaat ggcgctcaaa gcaaaaactt tcacttaaga 1620

cccagggact taatcagcaa tatcaacgta atagttctgg aactaaaggg atctgaaaca 1680

acattcatgt gtgaatatgc tgatgagaca gcaaccattg tagaatttct gaacagatgg 1740

attacctttg cccaaagcat catctcaaca ctgact 1776

<210> 307
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47GS Fab 重鏈-Fc（孔洞）

<400> 307

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 308
<211> 1335
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47GS Fab 重鏈-Fc (孔洞)

<400> 308
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc 300

ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc 360

ccctccgtgt tccccctggc ccccagcagc aagagcacca gcggcggcac agccgctctg 420

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480

ctgacctccg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gttctggcct gtatagcctg 540

agcagcgtgg tcaccgtgcc ttctagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600

aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgcgacaaa 660

actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc 720

ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga ccctgaggt cacatgcgtg 780

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020

ccccgagaac cacaggtgtg cacctgccc ccatcccggg atgagctgac caagaaccag 1080

gtcagcctct cgtgcgcagt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200

tccttcttcc tcgtgagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320

ctgtctccgg gtaaa 1335

<210> 309
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47GS 輕鏈

<400> 309

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 310
<211> 645

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47GS 輕鏈

<400> 310
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgct gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 311
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A; VL

<400> 311

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 312
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A; VL

<400> 312
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300

cagggcacca agctcgagat caag 324

<210> 313
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A; VH

<400> 313

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 314
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A; VH

<400> 314
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360

agc 363

<210> 315
<211> 594
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 Fab 重鏈-Fc（凸起） -IL-2 qm

<400> 315

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala
450 455 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
465 470 475 480

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
485 490 495

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr
580 585 590

Leu Thr

<210> 316
<211> 1782
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 Fab 重鏈-Fc（凸起） -IL-2 qm

<400> 316
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc 1380

tccgcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 1440

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 1620

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782

<210> 317
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 Fab 重鏈-Fc（孔洞）

<400> 317

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 318
<211> 1341
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 4G8 Fab 重鏈-Fc（孔洞）

<400> 318
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 319
<211> 600
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A Fab 重鏈-Fc（凸起） -IL-2 qm

<400> 319

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln
465 470 475 480

Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn
485 490 495

Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala
500 505 510

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu
515 520 525

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn
530 535 540

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val
545 550 555 560

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp
565 570 575

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala
580 585 590

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
595 600

<210> 320
<211> 1800
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A Fab 重鏈-Fc（凸起） -IL-2 qm

<400> 320
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360

agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt cccccttgtc ctgcccctga gctgctgggc 720

ggacccagcg tgttcctgtt ccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 780

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agccccggga ggaacagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg cccccatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtaca ccctgccccc ctgcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctggtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc aagtccggag gcggaggctc cggcggcgga 1380

ggttctggcg gaggtggctc cgcacctgcc tcaagttcta caaagaaaac acagctacaa 1440

ctggagcatt tactgctgga tttacagatg attttgaatg gaattaataa ttacaagaat 1500

cccaaactca ccaggatgct cacagccaag tttgccatgc ccaagaaggc cacagaactg 1560

aaacatcttc agtgtctaga agaagaactc aaacctctgg aggaagtgct aaatggcgct 1620

caaagcaaaa actttcactt aagacccagg gacttaatca gcaatatcaa cgtaatagtt 1680

ctggaactaa agggatctga aacaacattc atgtgtgaat atgctgatga gacagcaacc 1740

attgtagaat ttctgaacag atggattacc tttgcccaaa gcatcatctc aacactgact 1800

<210> 321
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A 重鏈-Fc（孔洞）

<400> 321

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 322
<211> 1353
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A Fab 重鏈-Fc (孔洞)

<400> 322
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360

agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt cccccttgtc ctgccccctga gctgctgggc 720

ggacccagcg tgttcctgtt cccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 780

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agccccggga ggaacagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg cccccatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtgca ccctgccccc cagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgagc tgtgccgtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg gtgtccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc aag 1353

<210> 323
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A 輕鏈

<400> 323

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 324
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CH1A1A 輕鏈

<400> 324

gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300

cagggcacca agctcgagat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

201718029

發明摘要

※ 申請案號：106101987（由101103928分割）

※ 申請日：101/02/07 ※IPC 分類：A61K 47/48 (2006.01)
A61K 38/20 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/55 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
C12N 15/26 (2006.01)

【發明名稱】

突變介白素-2多肽

MUTANT INTERLEUKIN-2 POLYPEPTIDES

【中文】

本發明概言之係關於對於IL-2受體之α-亞單位展現減小親和力之突變介白素-2多肽，其用作免疫治療劑。此外，本發明係關於包括該等突變IL-2多肽之免疫偶聯物，編碼該等突變IL-2多肽或免疫偶聯物之多核苷酸分子，及包括該等多核苷酸分子之載體及宿主細胞。本發明進一步關於產生該等突變IL-2多肽或免疫偶聯物之方法，包括其之醫藥組合物，及其用途。

【英文】

The present invention generally relates to mutant interleukin-2 polypeptides that exhibit reduced affinity to the α-subunit of the IL-2 receptor, for use as immunotherapeutic agents. In addition, the invention relates to immunoconjugates comprising said mutant IL-2 polypeptides, polynucleotide molecules encoding the mutant IL-2 polypeptides or immunoconjugates, and vectors and host cells comprising such polynucleotide molecules. The invention further relates to methods for producing the mutant IL-2 polypeptides or immunoconjugates, pharmaceutical compositions comprising the same, and uses thereof.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1B）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種免疫偶聯物，其包含突變IL-2多肽及抗原結合部分，其中該突變IL-2多肽為包含胺基酸取代F42A、Y45A及L72G之人類IL-2分子，其編碼係相對於SEQ ID NO:1之人類IL-2序列；及

其中該抗原結合部分為對成纖維細胞活化蛋白(FAP)具專一性之IgG_1亞類免疫球蛋白分子，其包含(i)SEQ ID NO:41之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO:39之輕鏈可變區域序列；(ii)SEQ ID NO:51之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO:49之輕鏈可變區域序列；(iii)SEQ ID NO:111之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO:109之輕鏈可變區域序列；(iv)SEQ ID NO:143之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO:141之輕鏈可變區域序列；或(v)SEQ ID NO:151之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO:149之輕鏈可變區域序列。

2. 如請求項1之免疫偶聯物，其中該突變IL-2多肽進一步包含胺基酸取代T3A及/或胺基酸取代C125A。

3. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其中該突變IL-2多肽包含SEQ ID NO:19之序列。

4. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其中該突變IL-2多肽以其胺基末端胺基酸與該免疫球蛋白重鏈之一的羧基末端胺基酸連結。

5. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其中該免疫偶聯物包含不超過一個突變IL-2多肽。

6. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其中該IgG_1亞類免疫球蛋白分子在Fc結構域中包括促進兩個不同免疫球蛋白重鏈異源二聚化之修飾。

7. 如請求項6之免疫偶聯物，其中該修飾係凸起與孔洞(knob-into-hole)修飾，包括位於一個免疫球蛋白重鏈中之凸起修飾及位於

另一免疫球蛋白重鏈中之孔洞修飾。

8. 如請求項7之免疫偶聯物，其中該凸起修飾包括位於兩個免疫球蛋白重鏈中之一個之胺基酸取代T366W，及該孔洞修飾位於兩個免疫球蛋白重鏈中另一個之胺基酸取代T366S、L368A及Y407V。

9. 如請求項8之免疫偶聯物，其中該包括凸起修飾之免疫球蛋白重鏈另外包含胺基酸取代S354C，及該包括孔洞修飾之免疫球蛋白重鏈另外包含胺基酸取代Y349C。

10. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其中該IgG_1分子在其Fc結構域中包括減少該免疫偶聯物對FcγRIIIa、FcγRI或FcγRIIa受體之結合親和力之一或多個胺基酸突變。

11. 如請求項10之免疫偶聯物，其中該IgG_1分子包括胺基酸突變L234A、L235A及P329G。

12. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其包含(i)與SEQ ID NO:297至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列、與SEQ ID NO:299至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列及與SEQ ID NO:233至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；(ii)與SEQ ID NO:301至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列、與SEQ ID NO:303至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列及與SEQ ID NO:231至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列；或(iii)與SEQ ID NO:315至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列、與SEQ ID NO:317至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、

98%、99%或100%一致之多肽序列及與SEQ ID NO:233至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致之多肽序列。

13. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其中該對FAP具專一性之IgG_1分子包括SEQ ID NO:111之重鏈可變區域序列及SEQ ID NO:109之輕鏈可變區域序列。

14. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其包括SEQ ID NO:301之多肽序列、SEQ ID NO:303之多肽序列及SEQ ID NO:231之多肽序列。

15. 如請求項1或2之免疫偶聯物，其基本上由藉由鏈接序列連結之突變IL-2多肽及IgG_1分子所組成。

16. 一種經分離之多核苷酸，其編碼如請求項1至15中任一項之免疫偶聯物。

17. 一種宿主細胞，其包括如請求項16之多核苷酸。

18. 一種產生包含突變IL-2多肽及抗原結合部分之免疫偶聯物之方法，其包括在適於表現該免疫偶聯物之條件下培養如請求項17之宿主細胞。

19. 一種免疫偶聯物，其係藉由如請求項18之方法產生。

20. 一種醫藥組合物，其包括如請求項1至15或19中任一項之免疫偶聯物及醫藥上可接受之載劑。

21. 一種如請求項1至15或19中任一項之免疫偶聯物之用途，其用以製造用於治療有需要個體之癌症之藥劑。

圖式

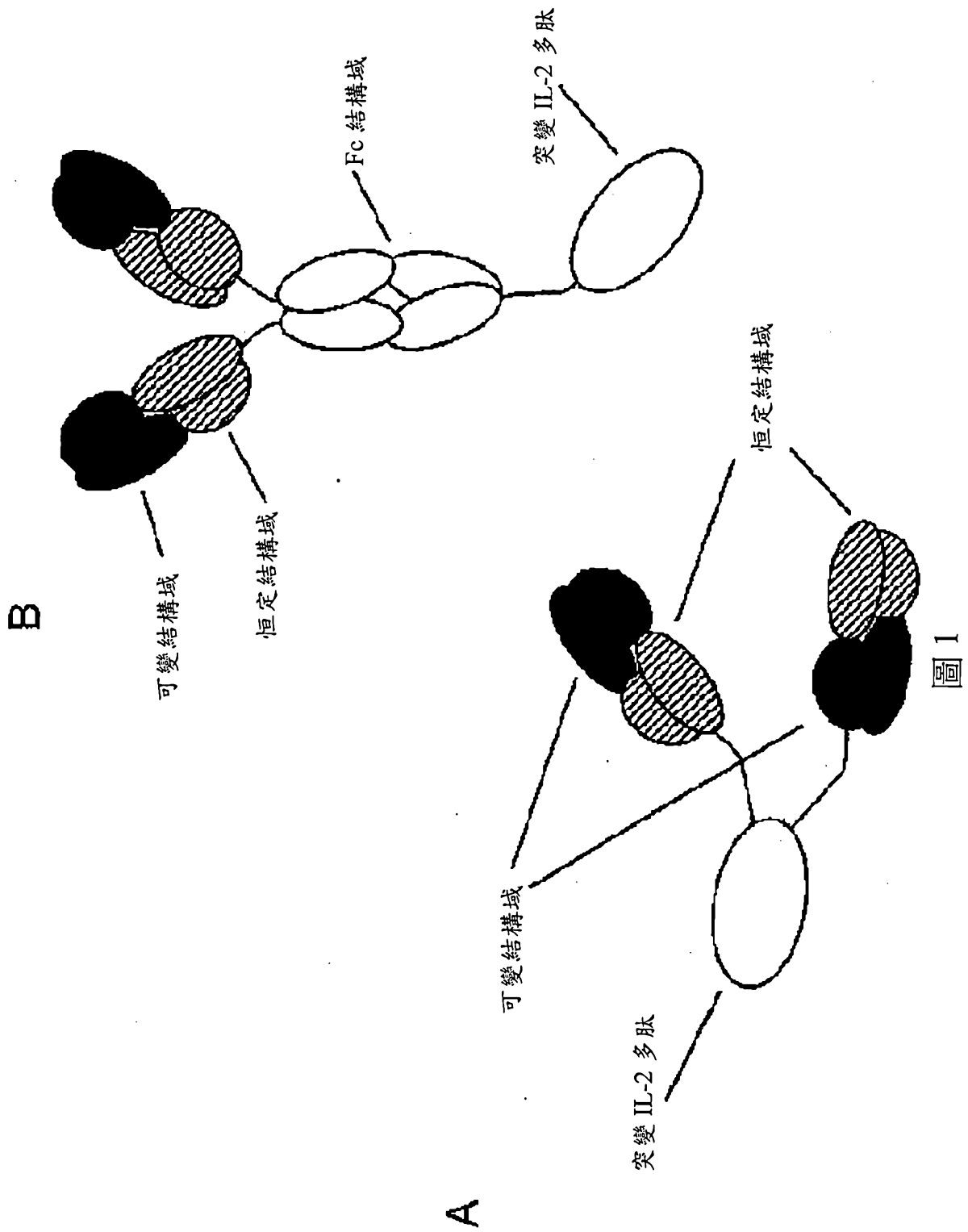


圖 1

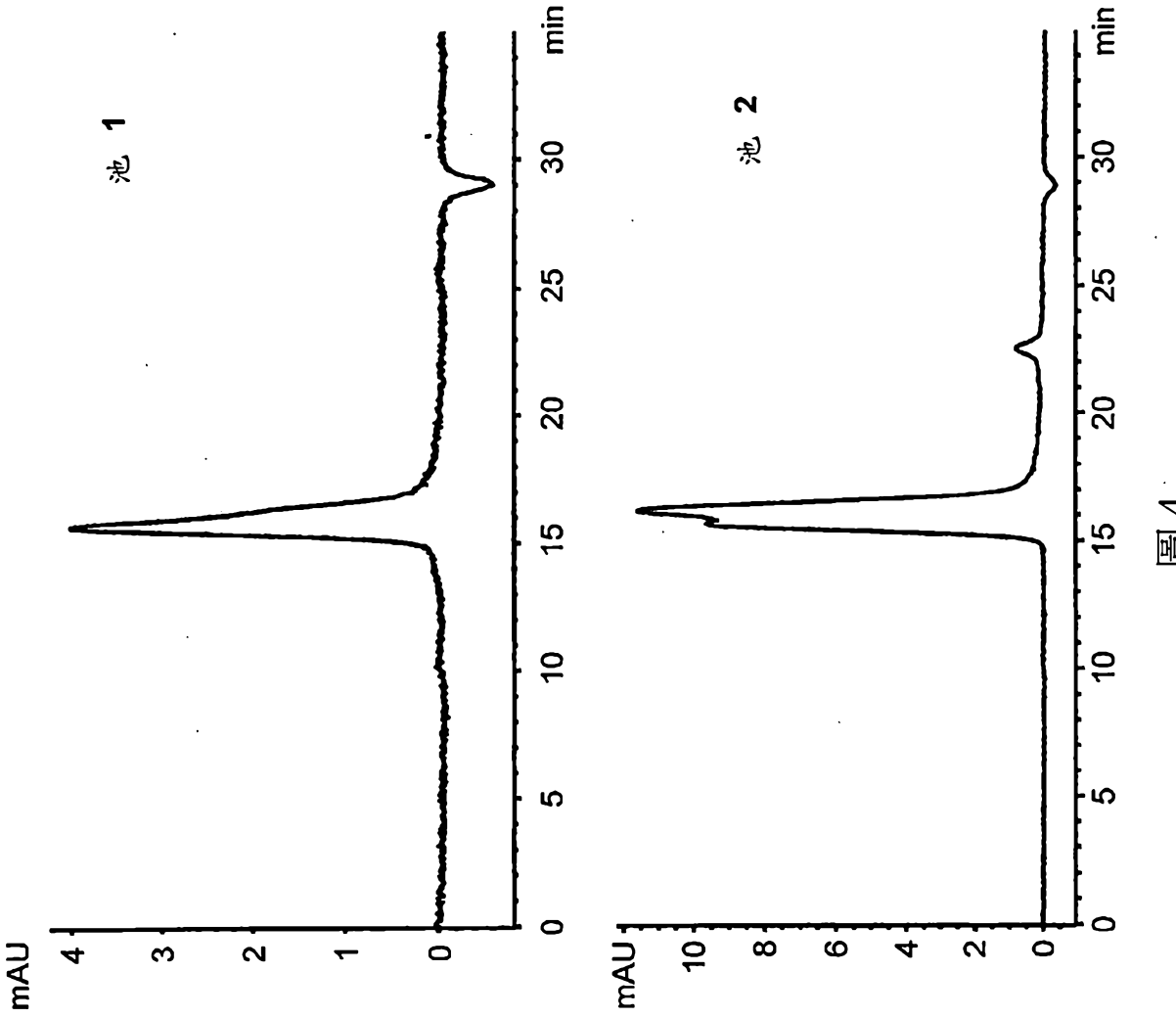

池 1
mAU
4
3
2
1
0
0
5
10
15
20
25
30
min
池 2
mAU
10
8
6
4
2
0
0
5
10
15
20
25
30
min

圖 4

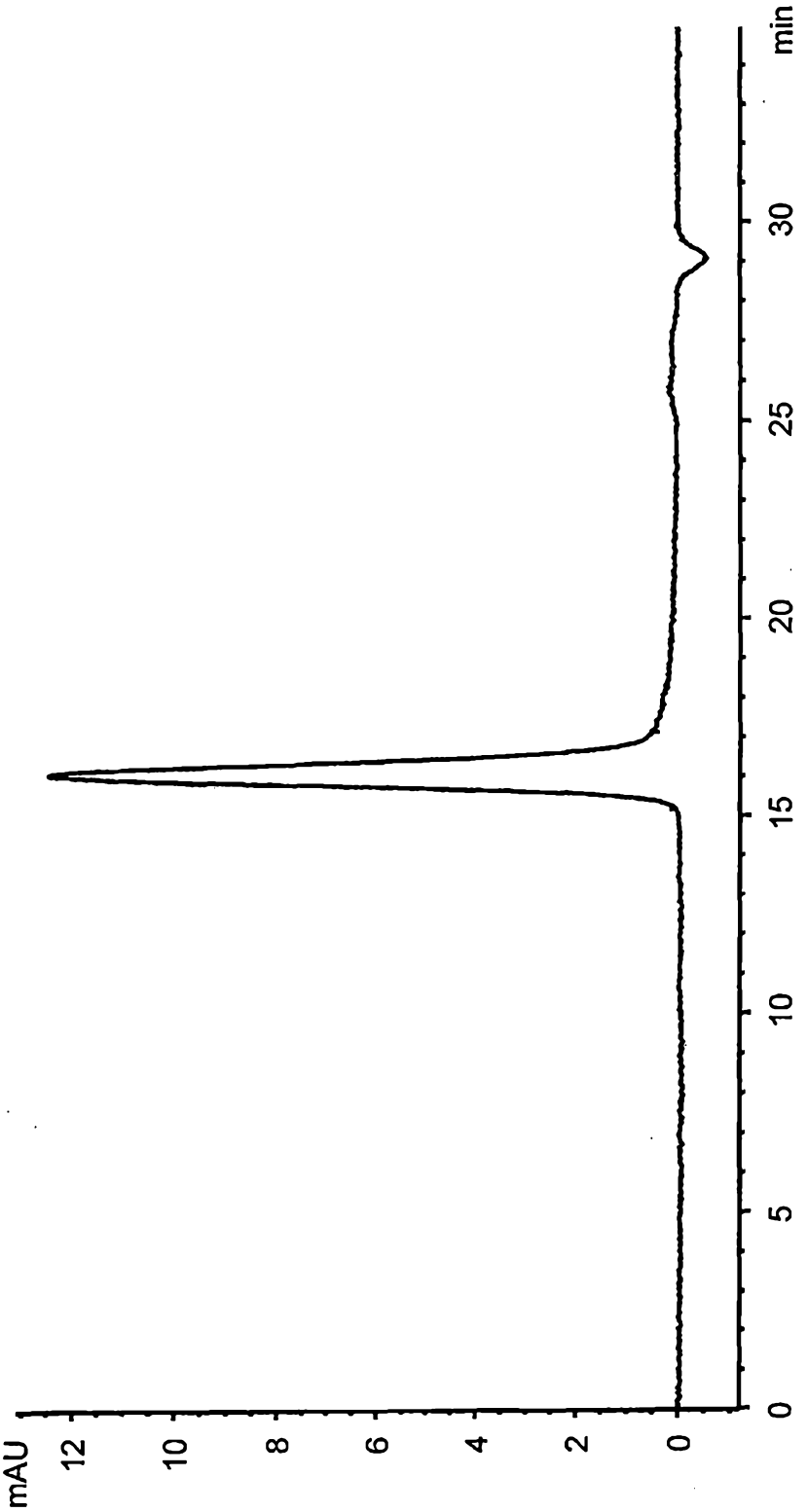


圖 7

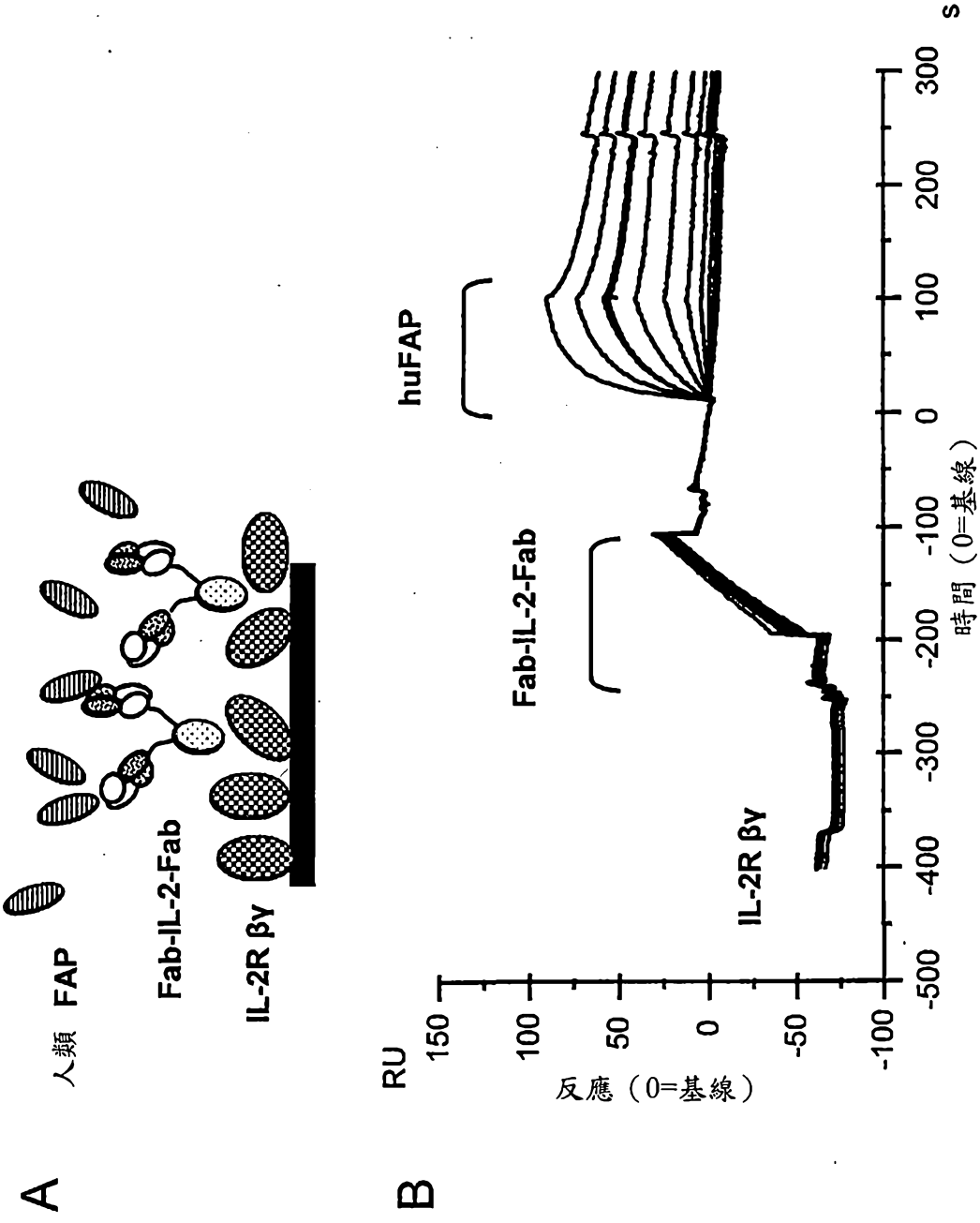

A
人類 FAP
Fab-IL-2-Fab
IL-2R βγ
B
RU
150
100
50
0
-50
-100
反應（0=基線）
huFAP
Fab-IL-2-Fab
IL-2R βγ
-500
-400
-300
-200
-100
0
100
200
300
s
時間（0=基線）

圖 8

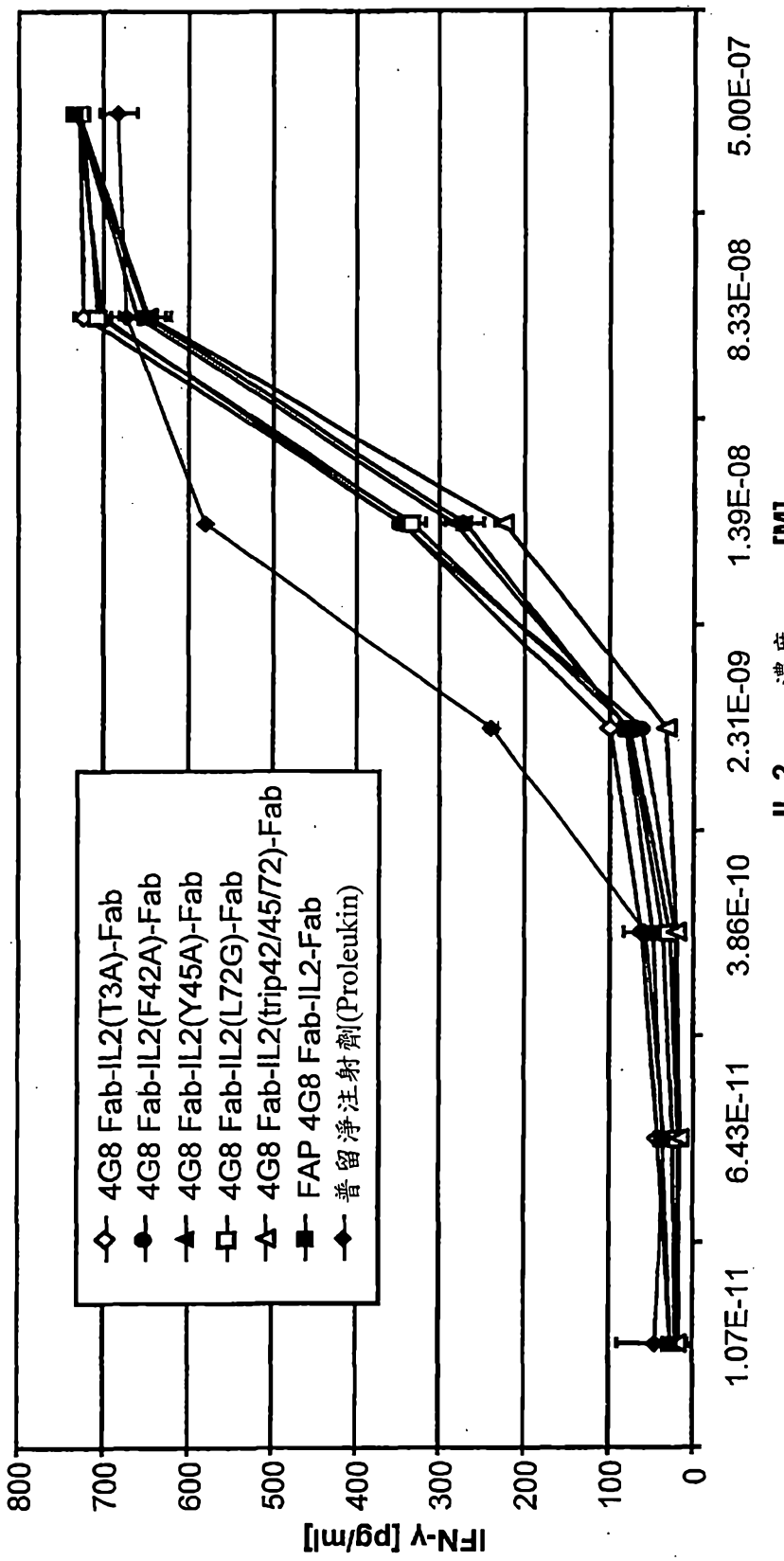

IFN-γ [pg/ml]
800
700
600
500
400
300
200
100
0
1.07E-11
6.43E-11
3.86E-10
2.31E-09
1.39E-08
8.33E-08
5.00E-07
IL-2 濃度 [M]
4G8 Fab-IL2(T3A)-Fab
4G8 Fab-IL2(F42A)-Fab
4G8 Fab-IL2(Y45A)-Fab
4G8 Fab-IL2(L72G)-Fab
4G8 Fab-IL2(trip42/45/72)-Fab
FAP 4G8 Fab-IL2-Fab
普留淨注射劑(Proleukin)

圖 9

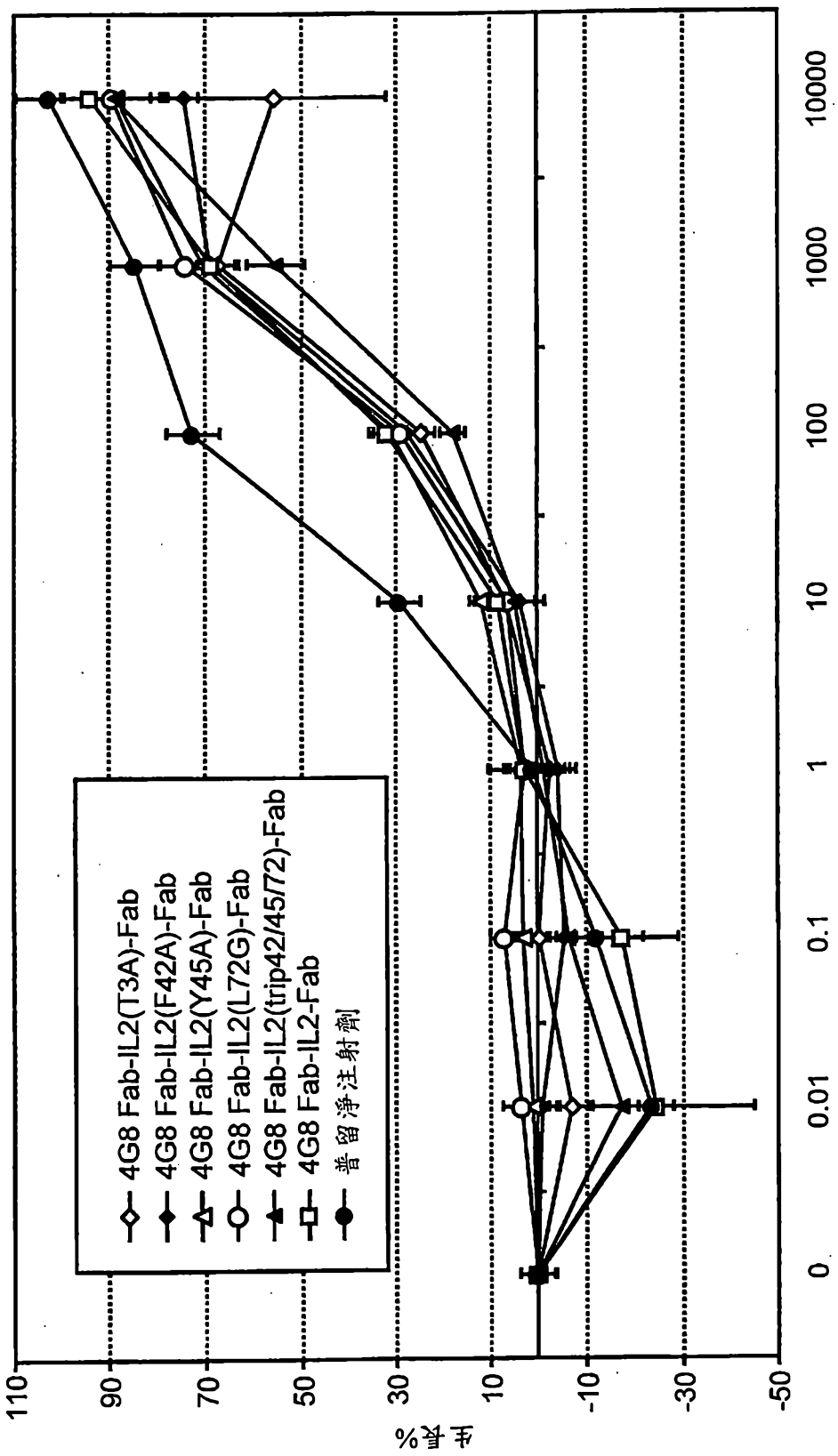

4G8 Fab-IL2(T3A)-Fab
4G8 Fab-IL2(F42A)-Fab
4G8 Fab-IL2(Y45A)-Fab
4G8 Fab-IL2(L72G)-Fab
4G8 Fab-IL2(trip42/45/72)-Fab
4G8 Fab-IL2-Fab
普留淨注射劑
生長%
110
90
70
50
30
10
-10
-30
-50
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
濃度 [ng/ml]

圖 10

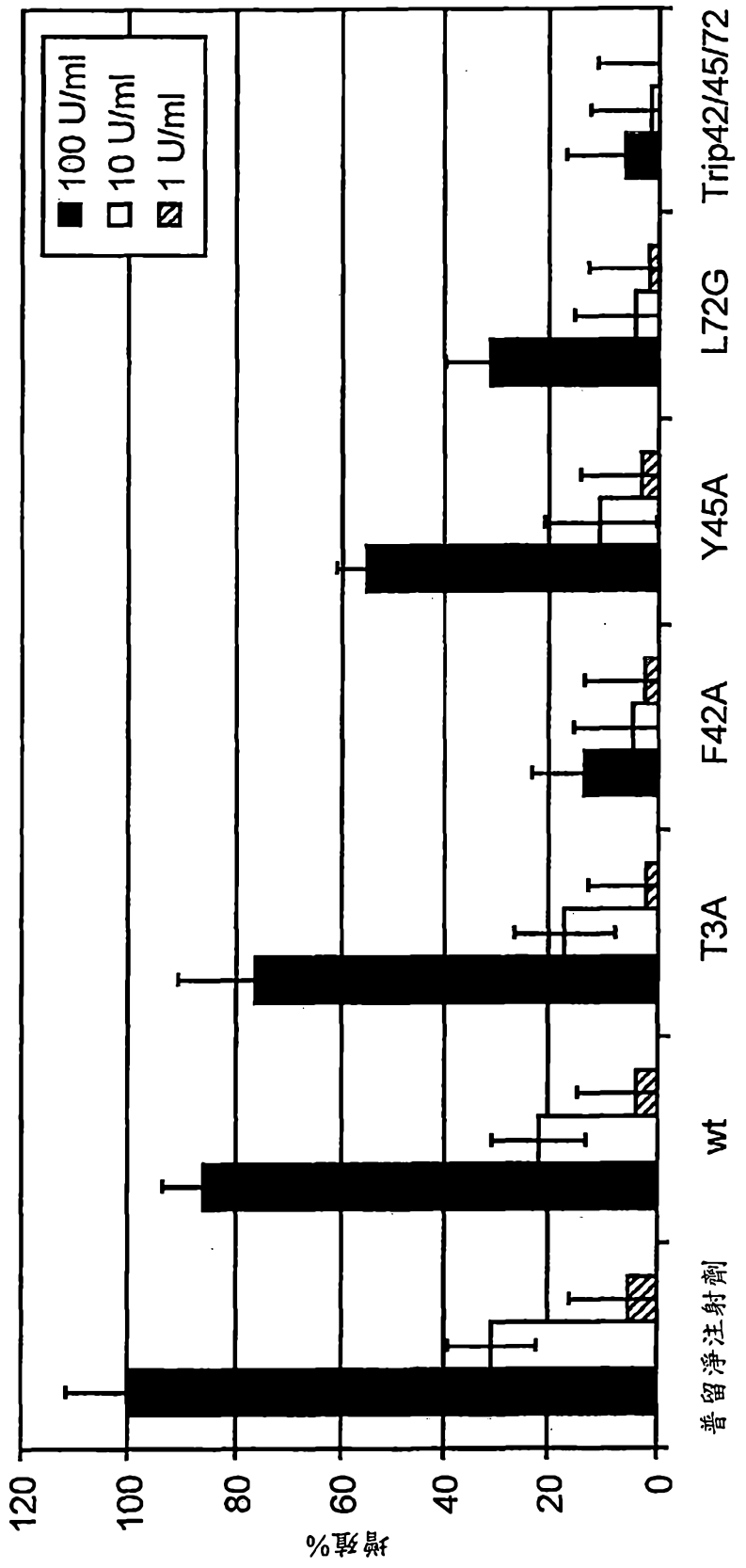

100 U/ml
10 U/ml
1 U/ml
增殖%
120
100
80
60
40
20
0
普留淨注射劑
wt
T3A
F42A
Y45A
L72G
Trip42/45/72

圖 11

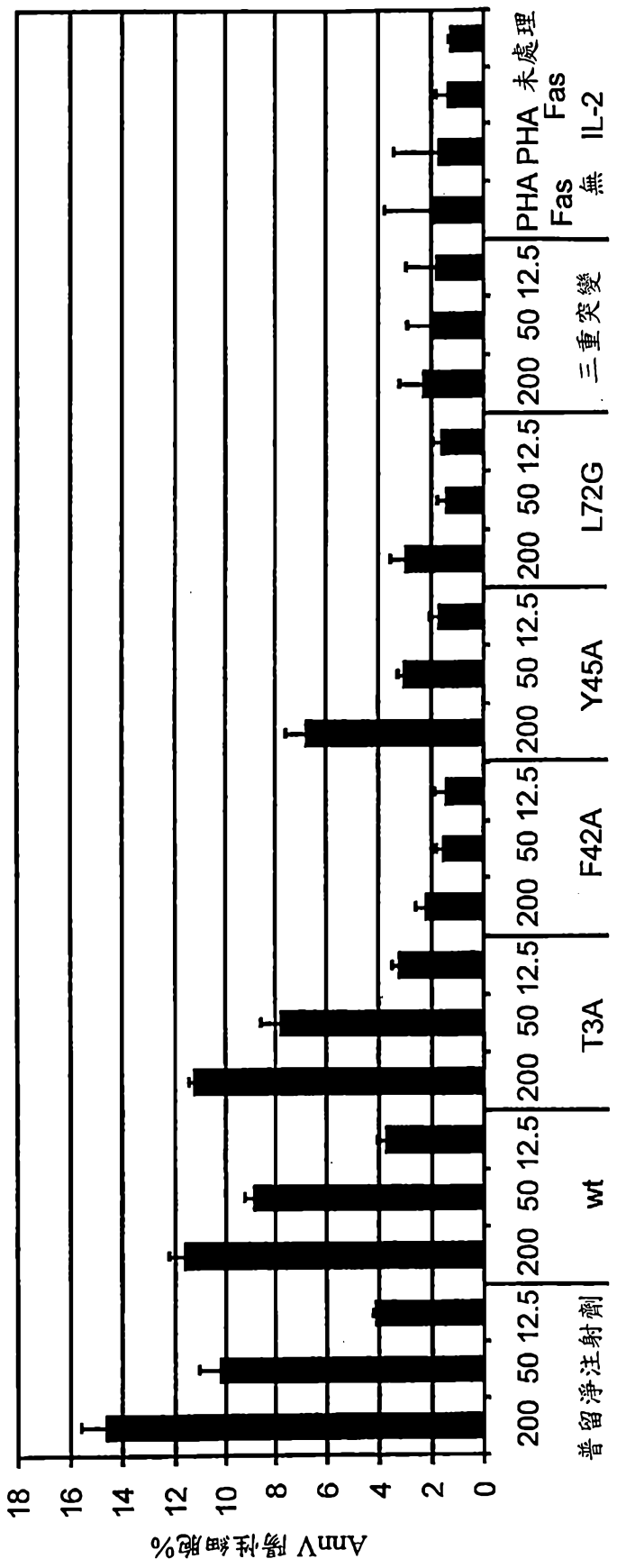

AnnV 陽性細胞%
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
普留淨注射劑
wt
T3A
F42A
Y45A
L72G
三重突變
200 50 12.5
PHA PHA 未處理
Fas
Fas 無 IL-2

圖 12

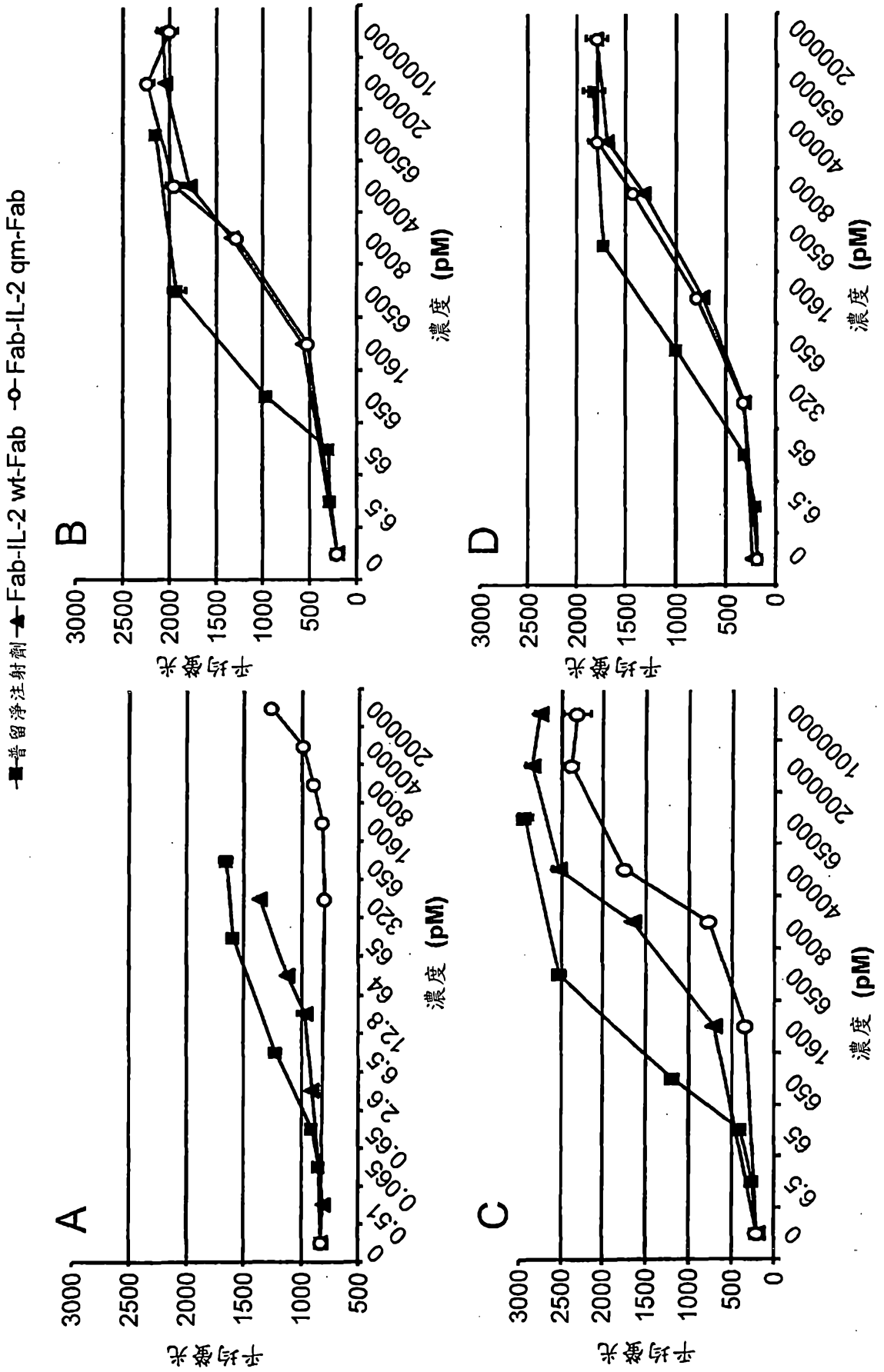


圖 13

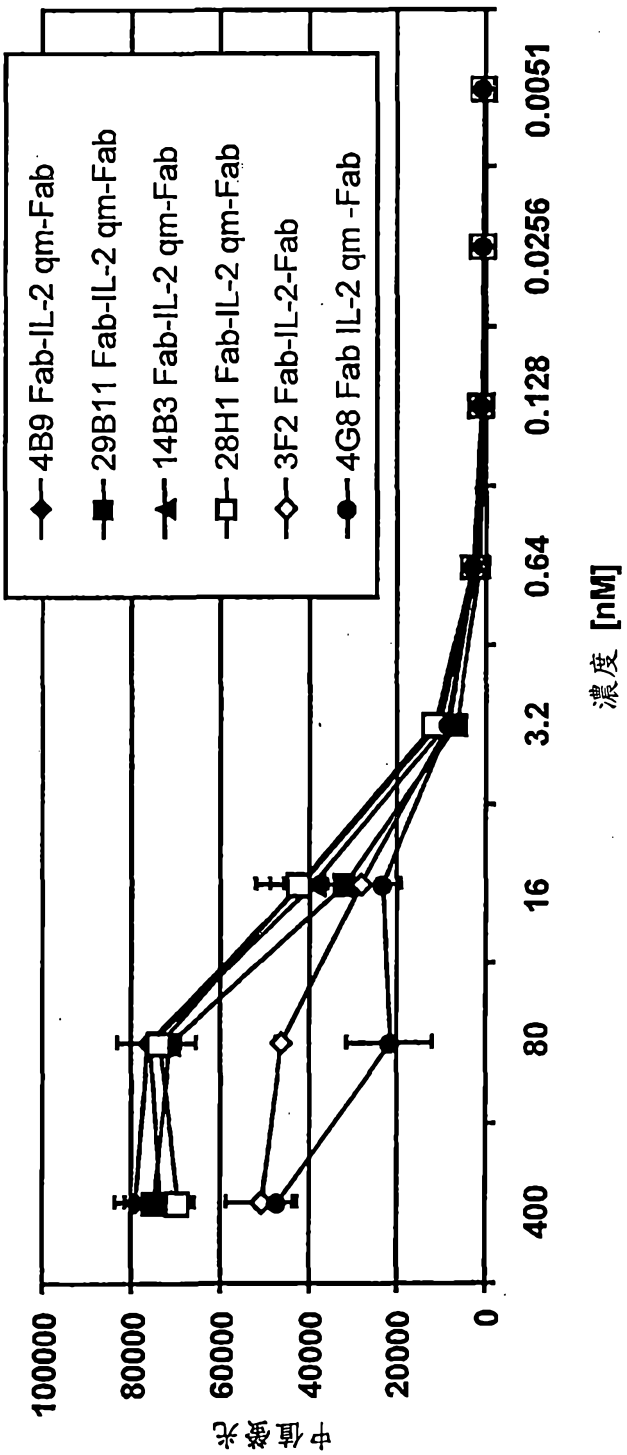

4B9 Fab-IL-2 qm-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
14B3 Fab-IL-2 qm-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
3F2 Fab-IL-2-Fab
4G8 Fab IL-2 qm -Fab
100000
80000
60000
40000
20000
0
中值螢光
400
80
16
3.2
0.64
0.128
0.0256
0.0051
濃度 [nM]

圖 17

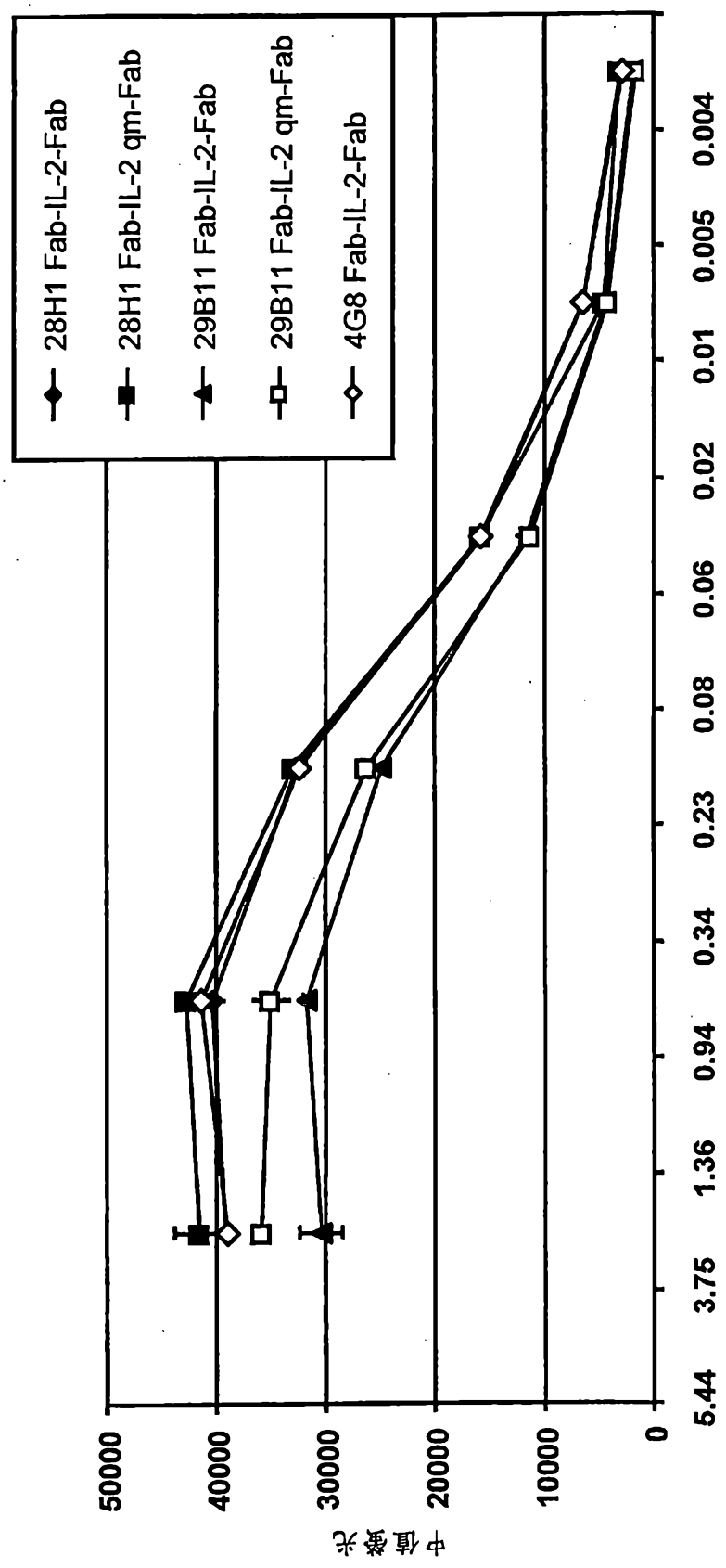

28H1 Fab-IL-2-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
29B11 Fab-IL-2-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 Fab-IL-2-Fab
中值螢光
50000
40000
30000
20000
10000
0
濃度 [μg/ml]
5.44
3.75
1.36
0.94
0.34
0.23
0.08
0.06
0.02
0.01
0.005
0.004

圖 18

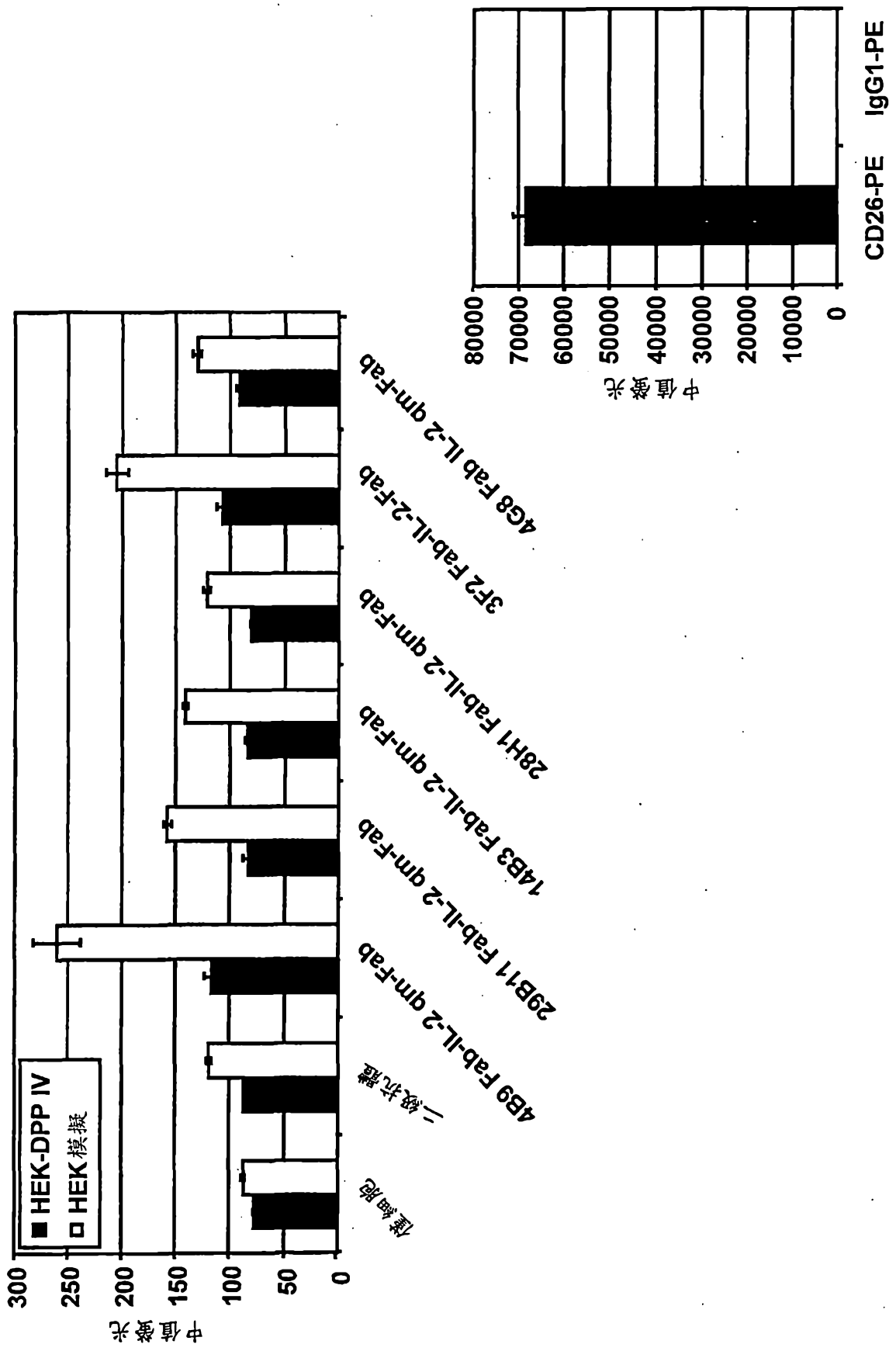

中值螢光
300
250
200
150
100
50
0
■ HEK-DPP IV
□ HEK模擬
蒼鼬胞
二級抗體
4B9 Fab-IL-2 qm-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
14B3 Fab-IL-2 qm-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
3F2 Fab-IL-2-Fab
4G8 Fab IL-2 qm-Fab
中值螢光
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
CD26-PE
IgG1-PE

圖 19

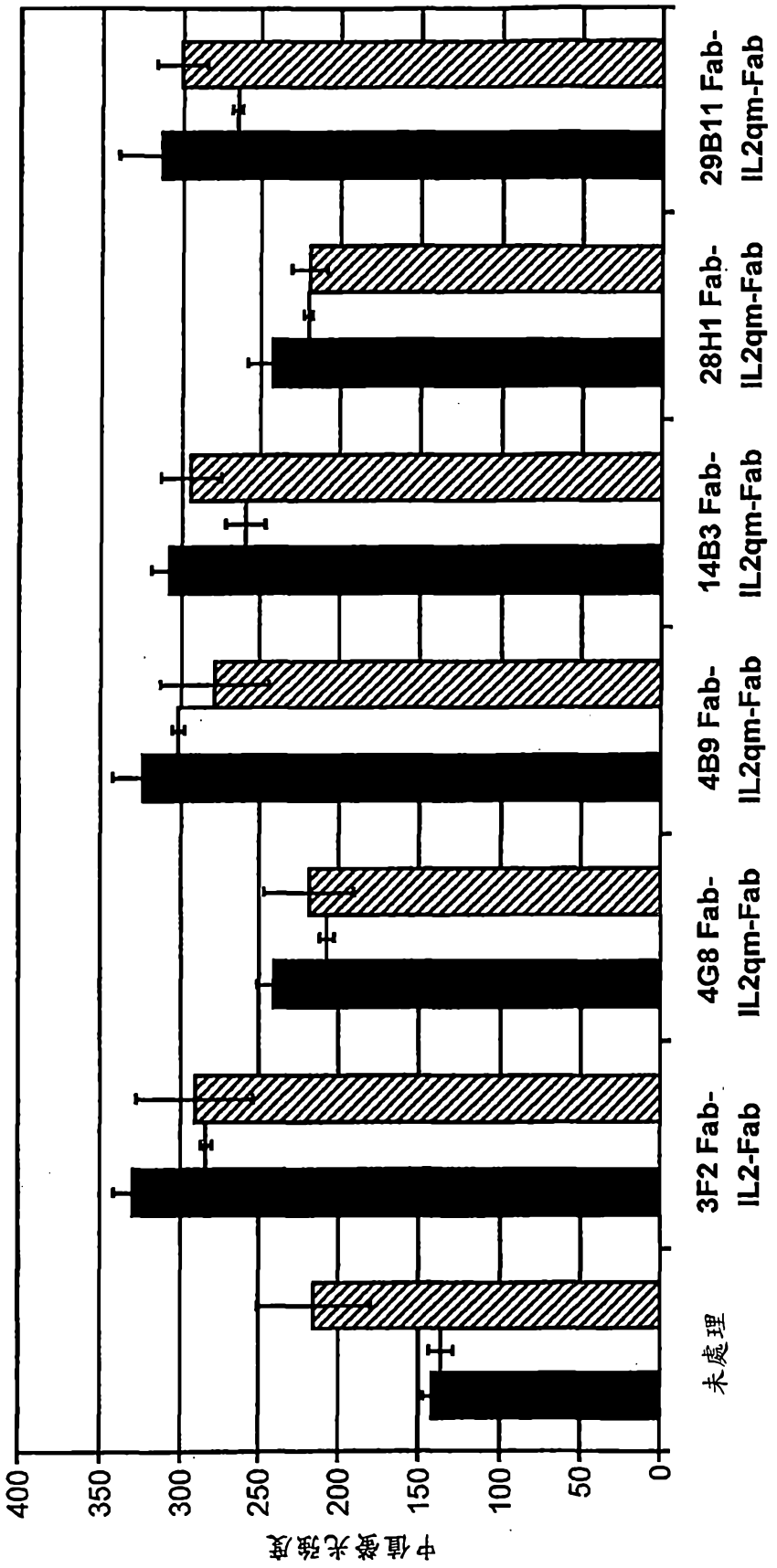

■45 min 4°C
□45 min 4°C + 30 min 37°C
⊠45 min 4°C + 6 h 37°C
中值螢光強度
400
350
300
250
200
150
100
50
0
未處理
3F2 Fab-IL2-Fab
4G8 Fab-IL2qm-Fab
4B9 Fab-IL2qm-Fab
14B3 Fab-IL2qm-Fab
28H1 Fab-IL2qm-Fab
29B11 Fab-IL2qm-Fab

圖 20

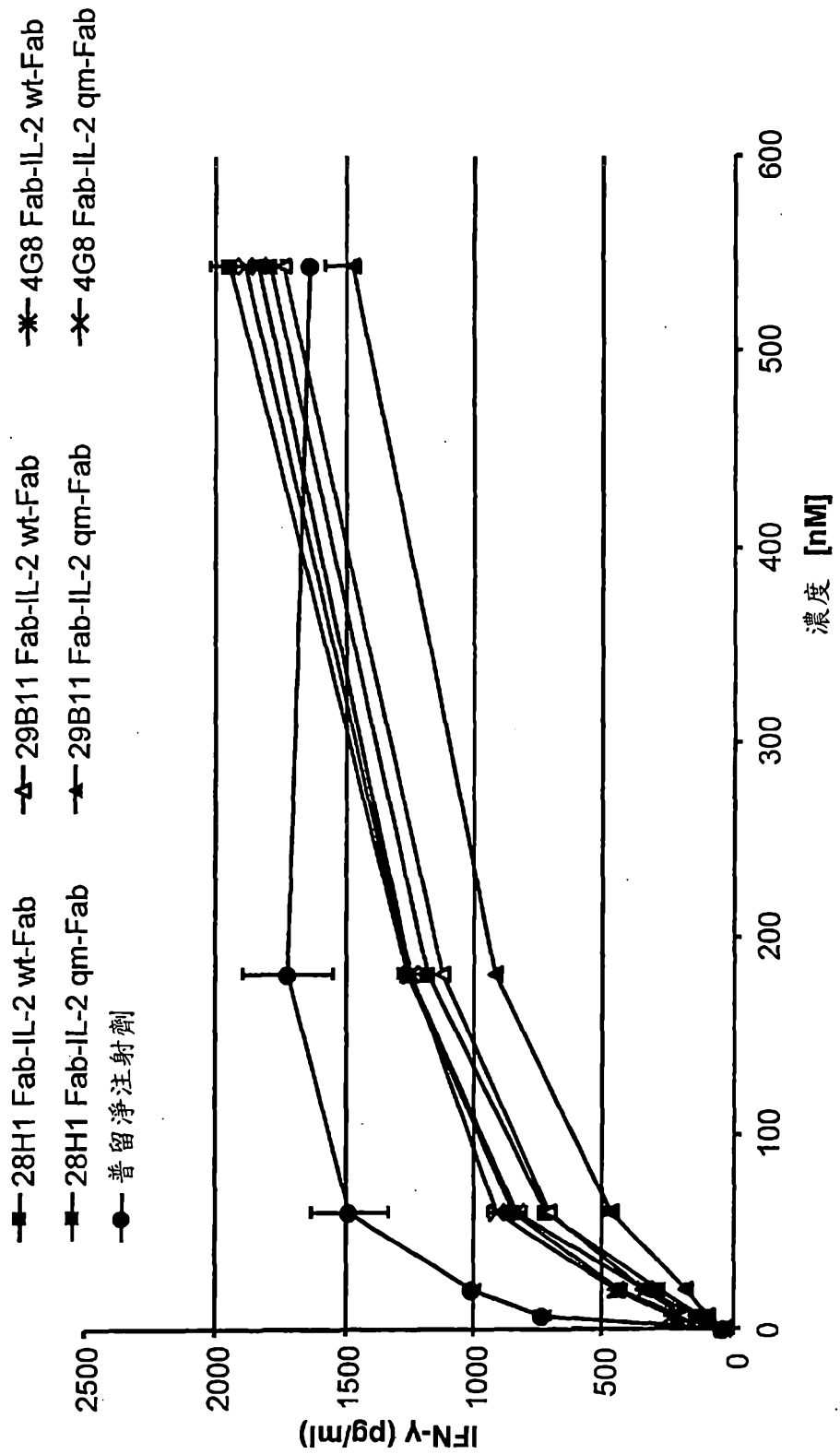

28H1 Fab-IL-2 wt-Fab
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab
4G8 Fab-IL-2 wt-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
普留淨注射劑
IFN-γ (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
100
200
300
400
500
600
濃度 [nM]

圖 21

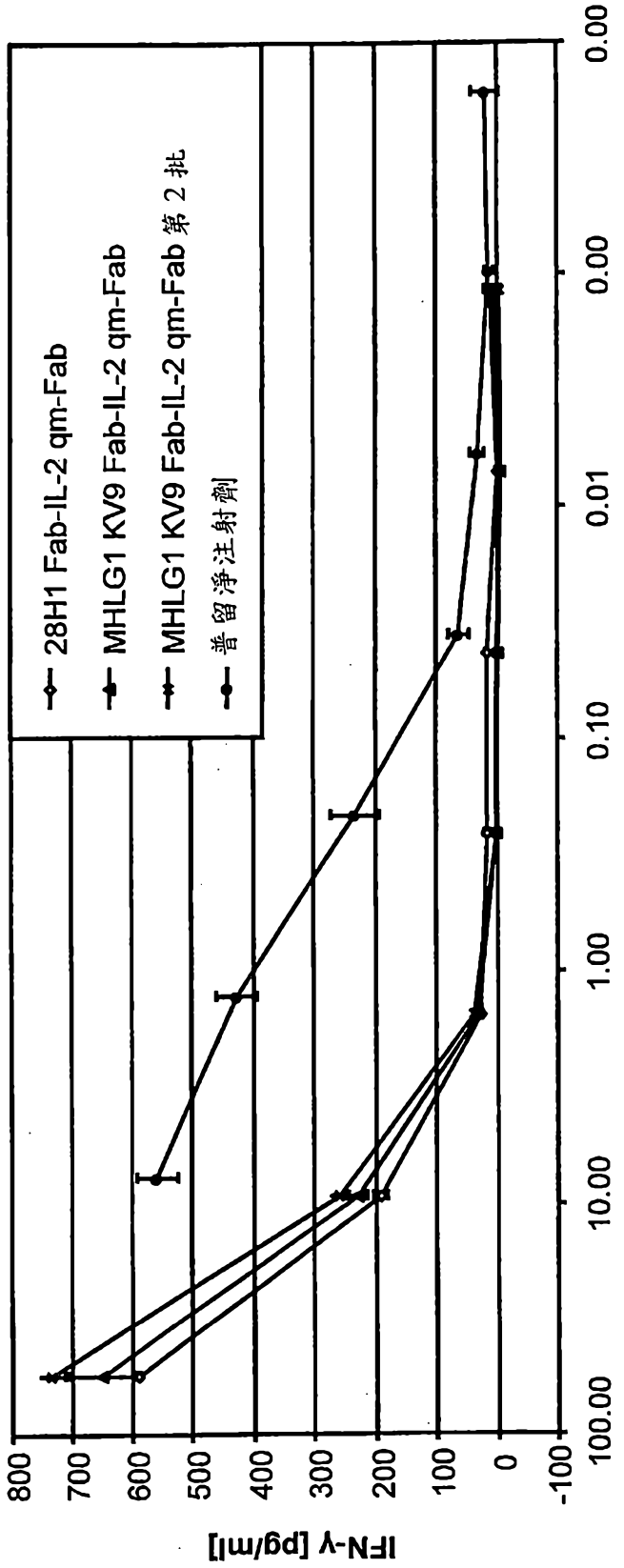

28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab
MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab 第 2 批
普留淨注射劑
IFN-γ [pg/ml]
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-100
100.00
10.00
1.00
0.10
0.01
0.00
0.00
IL-2 濃度 [µg/ml]

圖 22

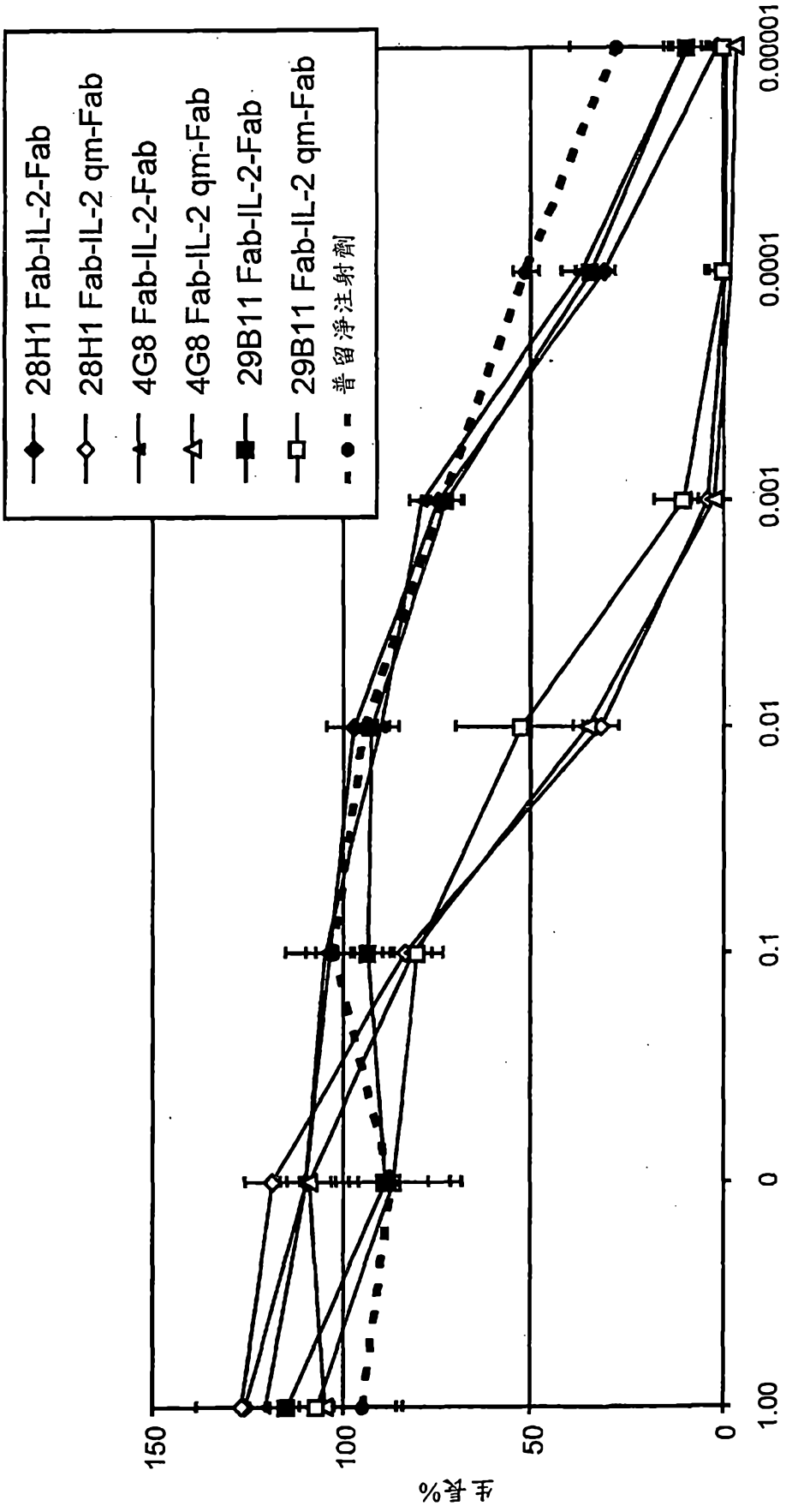

28H1 Fab-IL-2-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 Fab-IL-2-Fab
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
29B11 Fab-IL-2-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
普留淨注射劑
生長%
150
100
50
0
1.00
0
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
濃度 [μg/ml]

圖 23

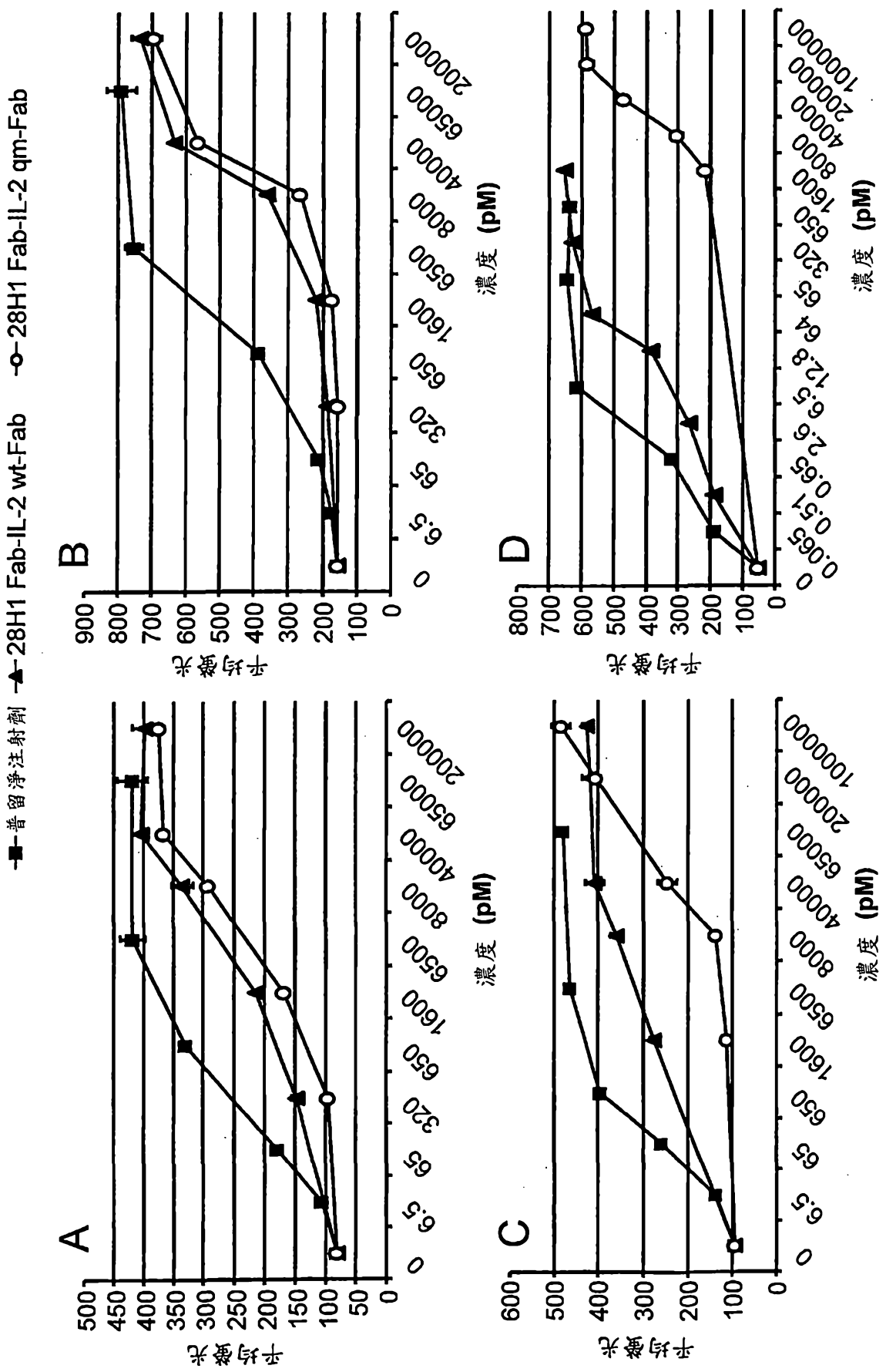


圖 24

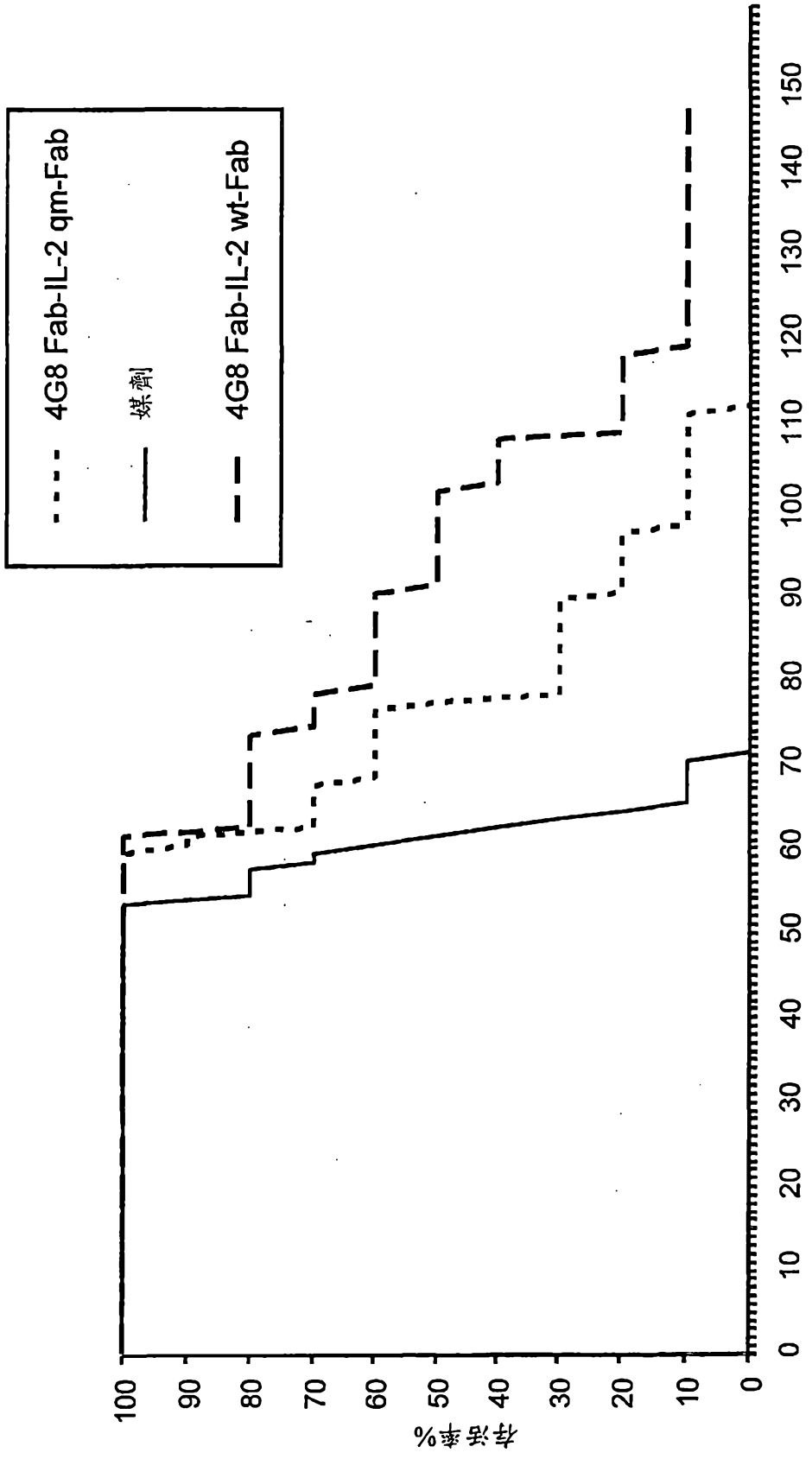

4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
媒劑
4G8 Fab-IL-2 wt-Fab
存活率%
研究日期
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150

圖 25

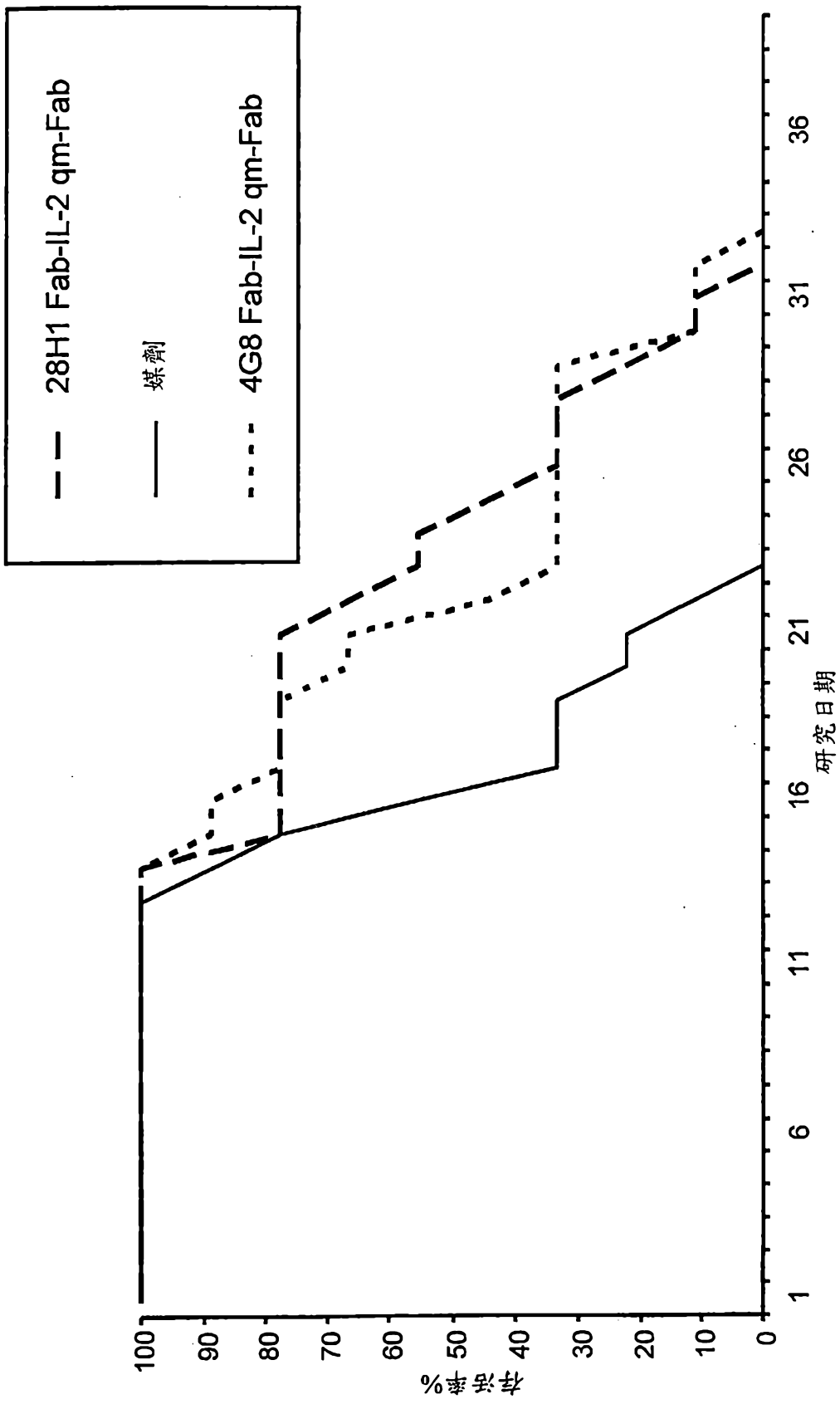

28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
媒劑
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
存活率%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
6
11
16
21
26
31
36
研究日期

圖 26

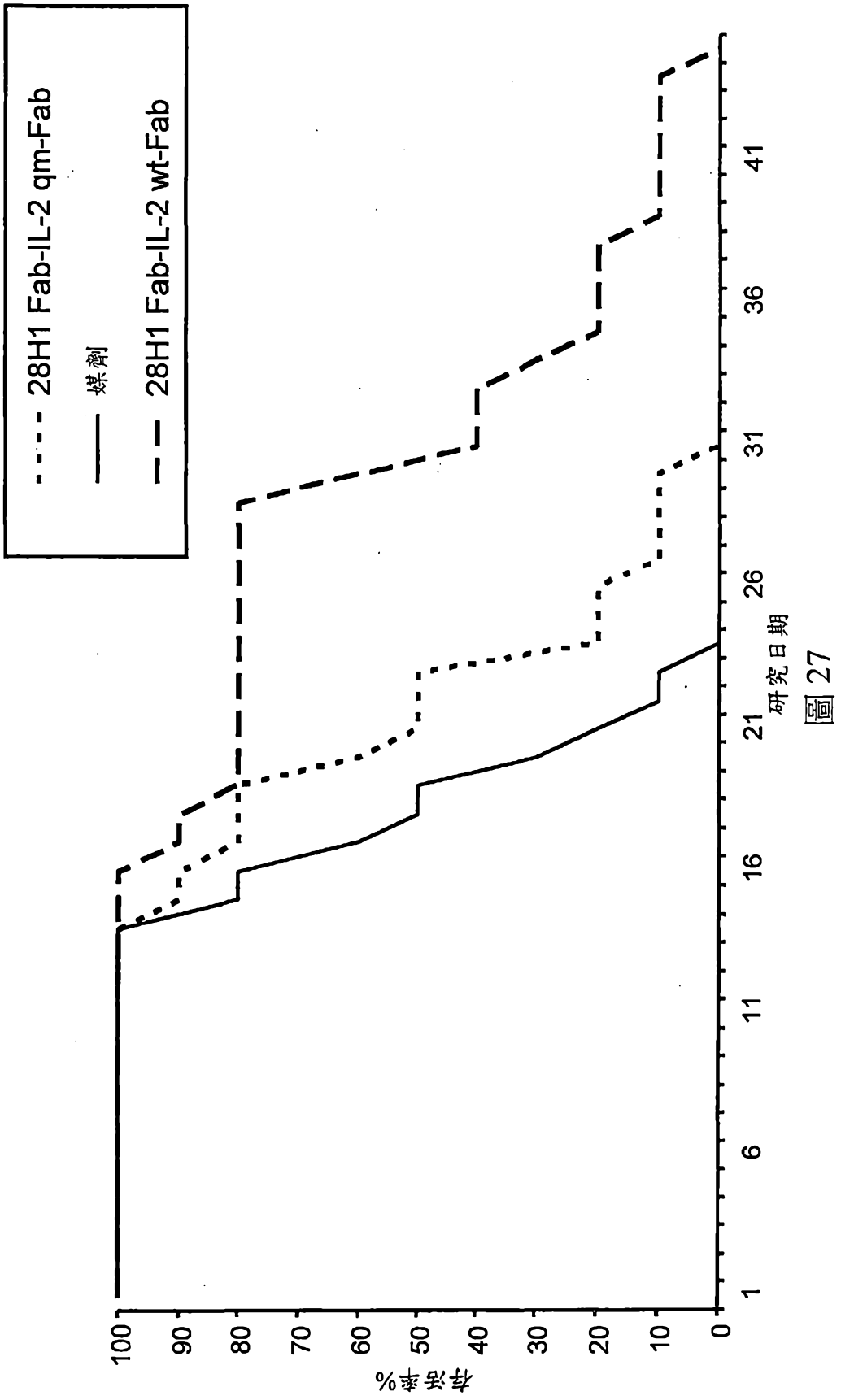

28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
媒劑
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab
存活率%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
6
11
16
21
26
31
36
41
研究日期

圖 27

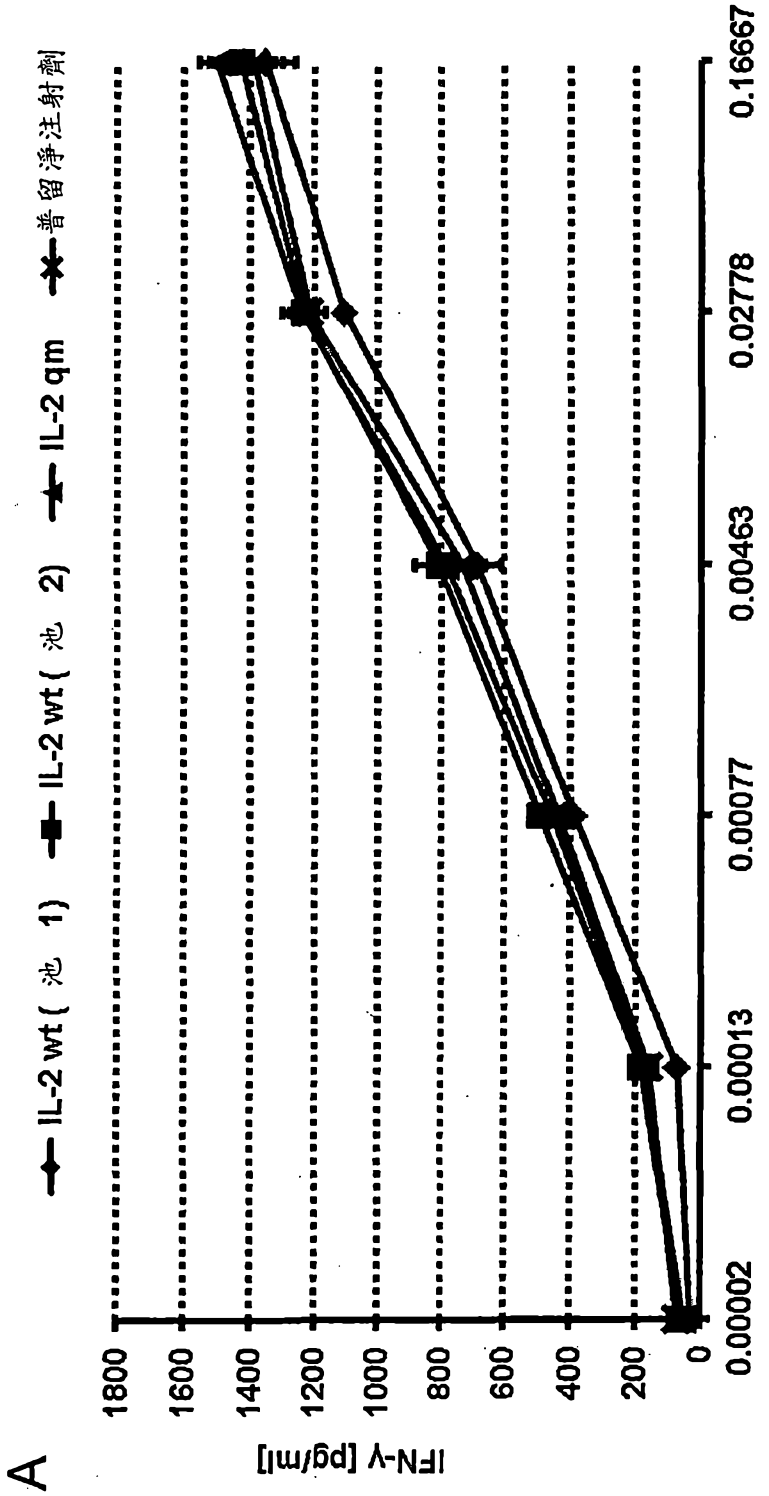

A
IFN-γ [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0.00002
0.00013
0.00077
0.00463
0.02778
0.16667
IL-2 濃度 [μM]
IL-2 wt (池 1)
IL-2 wt (池 2)
IL-2 qm
普留淨注射劑

圖 31

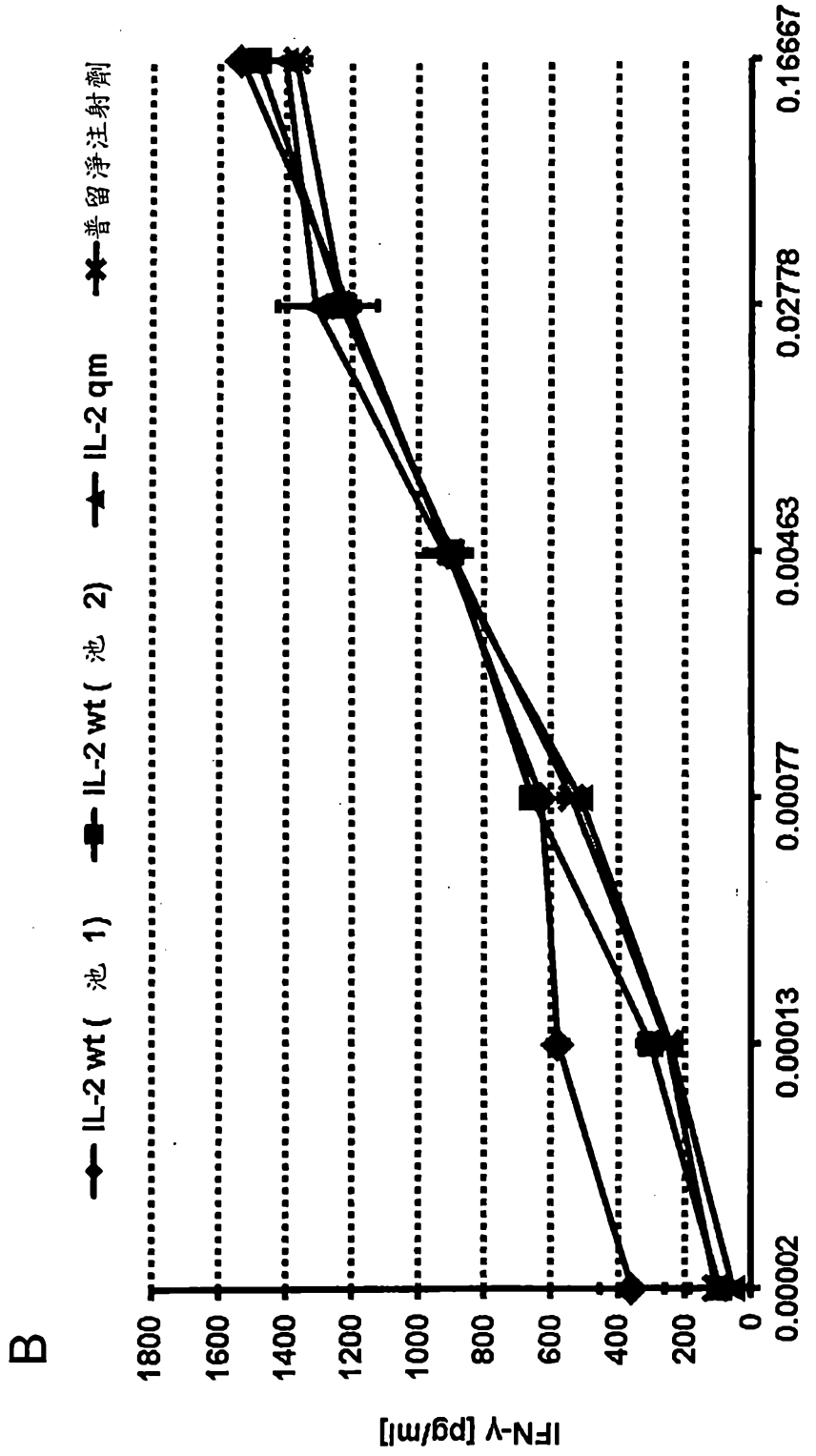

B
IL-2 wt (池 1)
IL-2 wt (池 2)
IL-2 qm
普留淨注射劑
IFN-γ [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0.00002
0.00013
0.00077
0.00463
0.02778
0.16667
IL-2 濃度 [μM]

圖 31

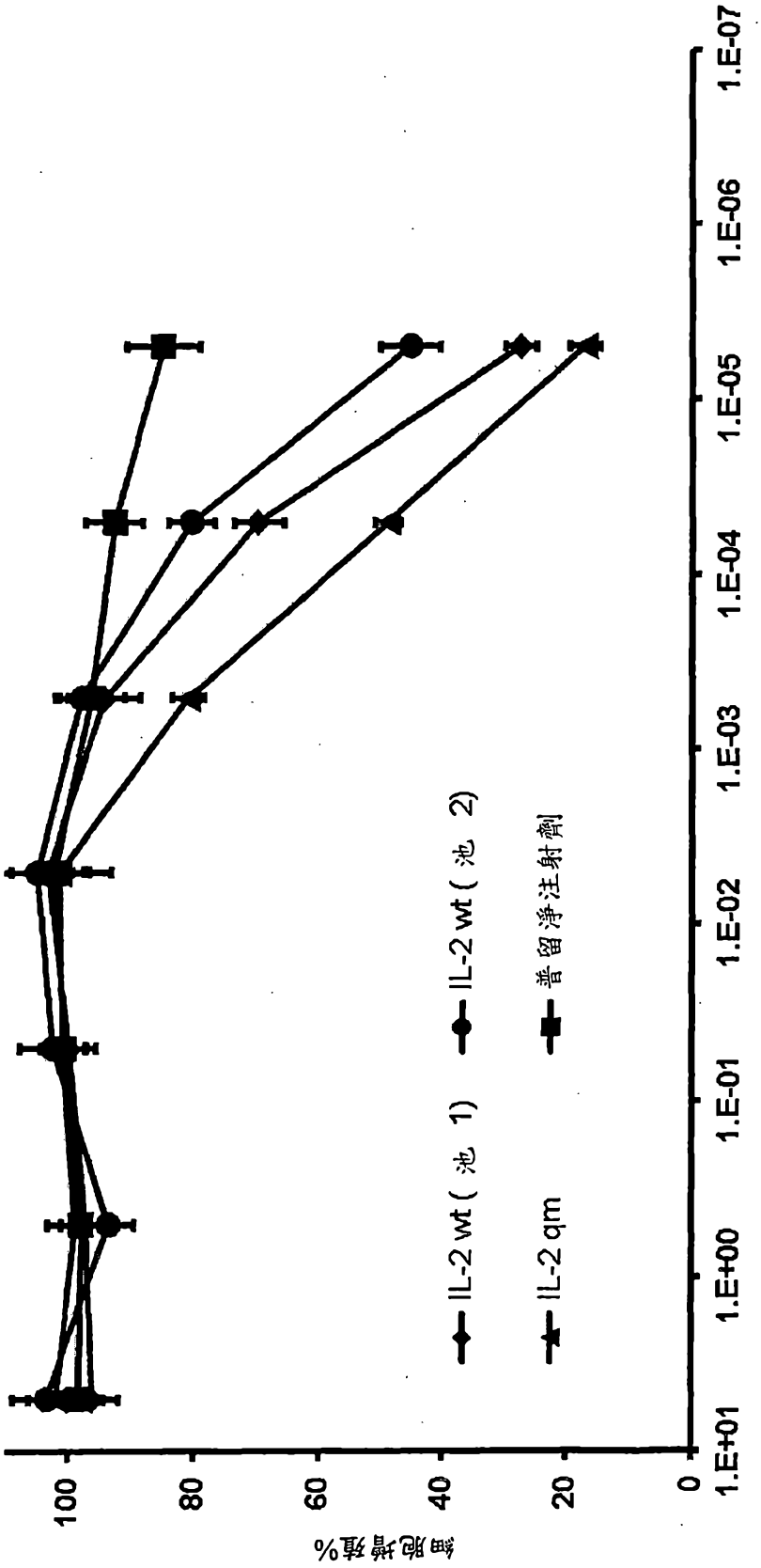

細胞增殖%
100
80
60
40
20
0
1.E+01
1.E+00
1.E-01
1.E-02
1.E-03
1.E-04
1.E-05
1.E-06
1.E-07
IL-2 濃度 [nM]
IL-2 wt (池 1)
IL-2 wt (池 2)
IL-2 qm
普留淨注射劑

圖 32

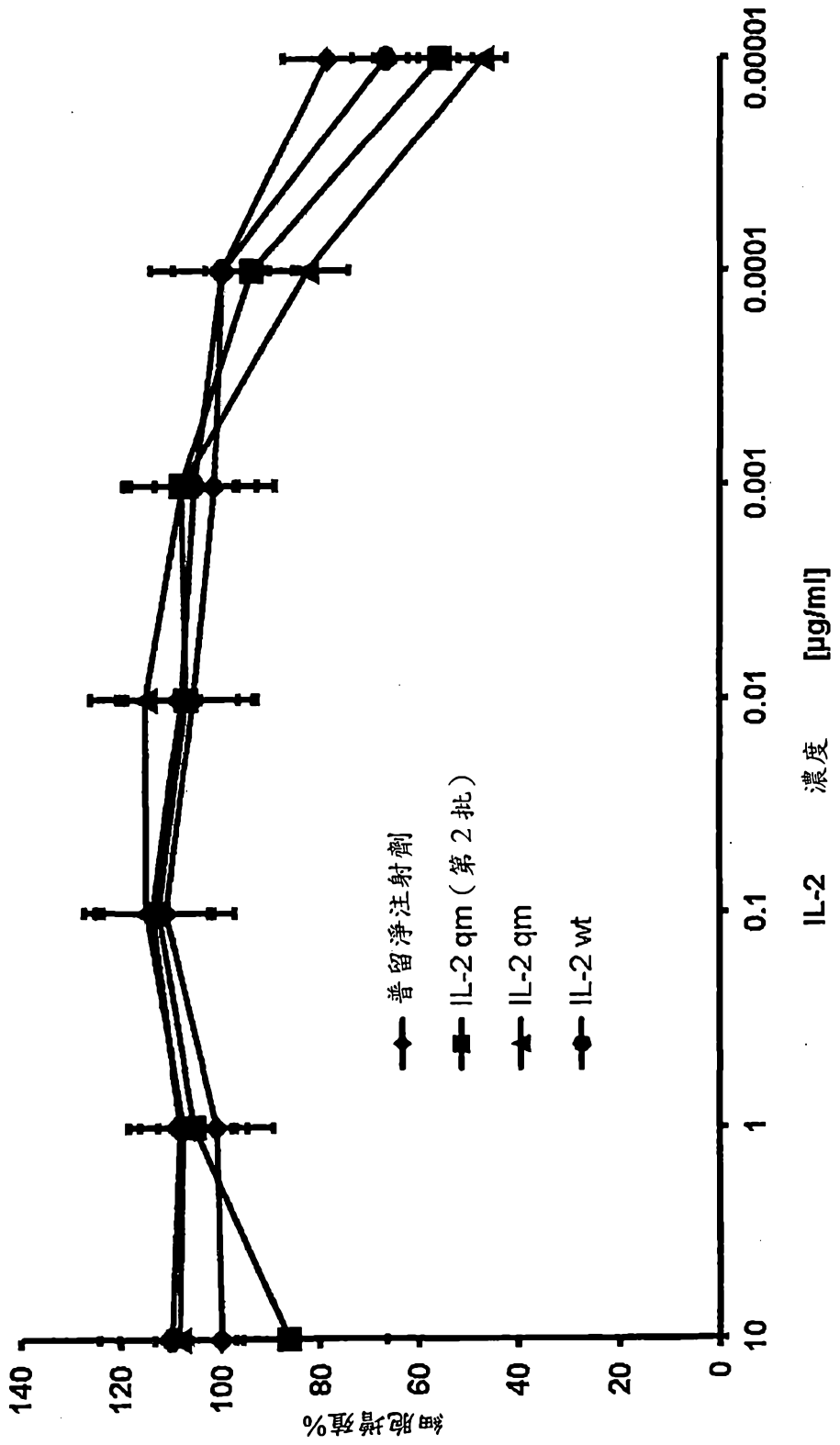

細胞增殖%
140
120
100
80
60
40
20
0
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
IL-2 濃度 [μg/ml]
普留淨注射劑
IL-2 qm（第 2 批）
IL-2 qm
IL-2 wt

圖 33

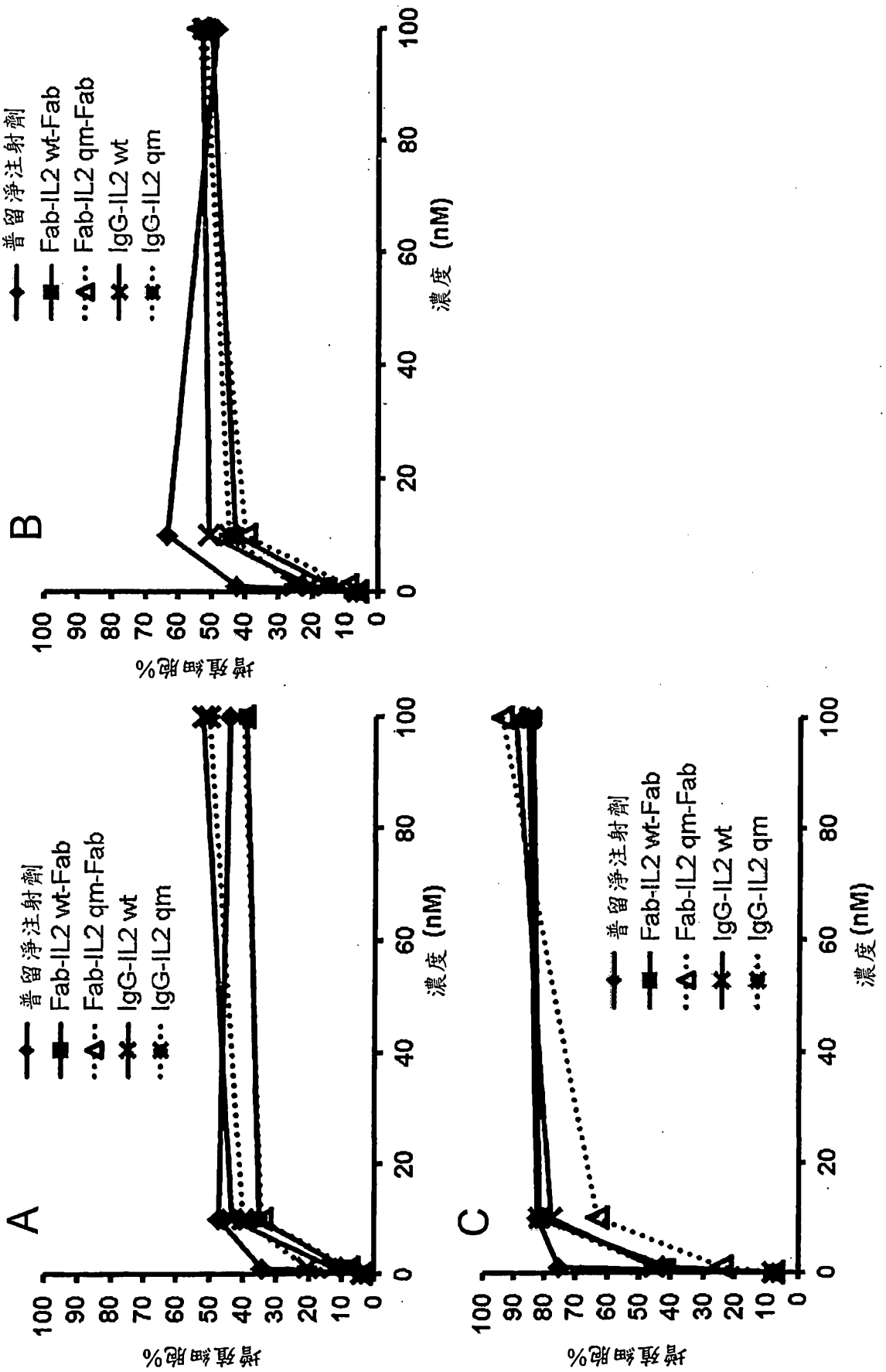

A
B
C
普留淨注射劑
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
增殖細胞%
濃度 (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
20
40
60
80
100

圖 34

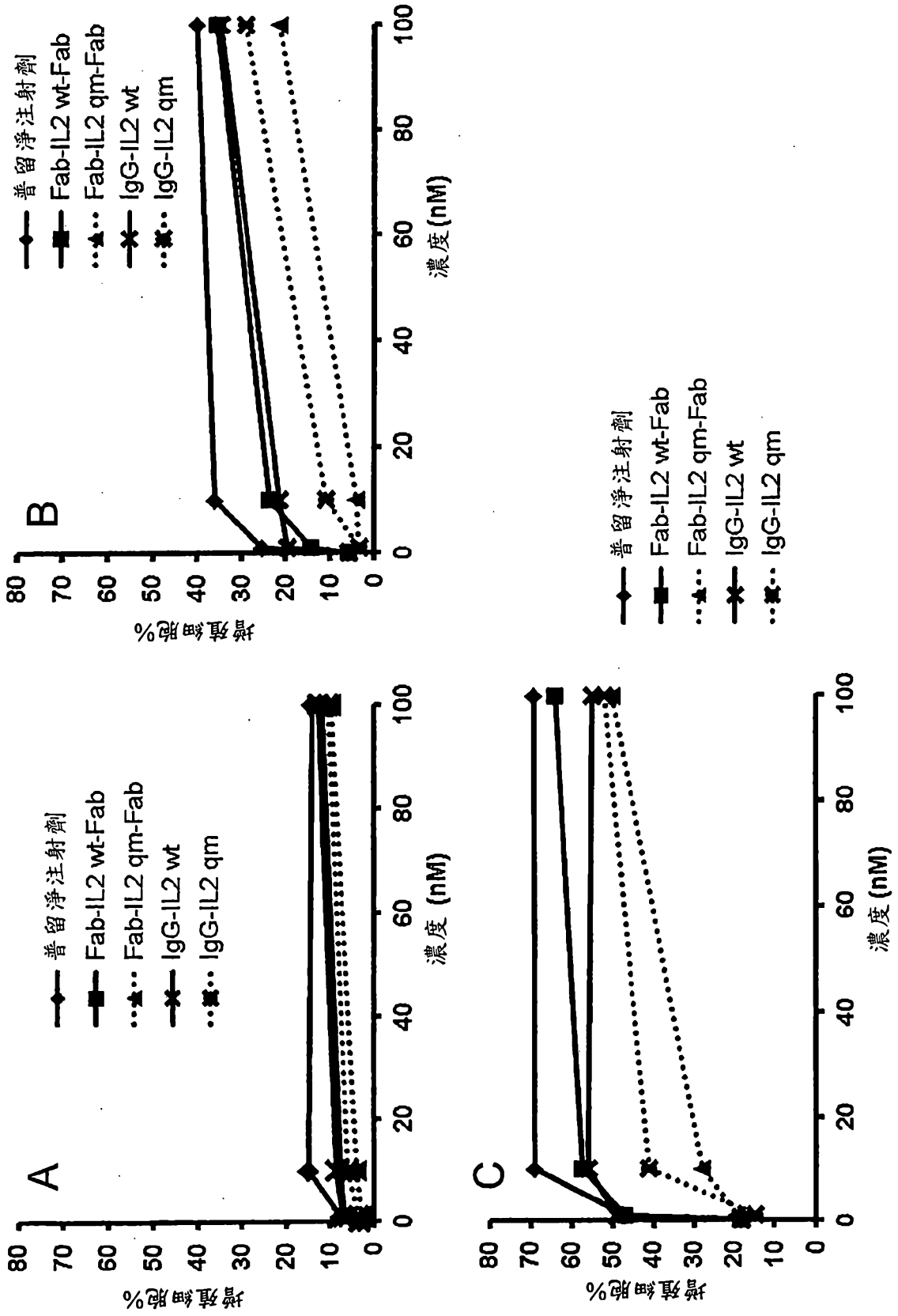

A
B
C
普留淨注射劑
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
增殖細胞%
濃度 (nM)
濃度(nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
0
20
40
60
80
100

圖 35

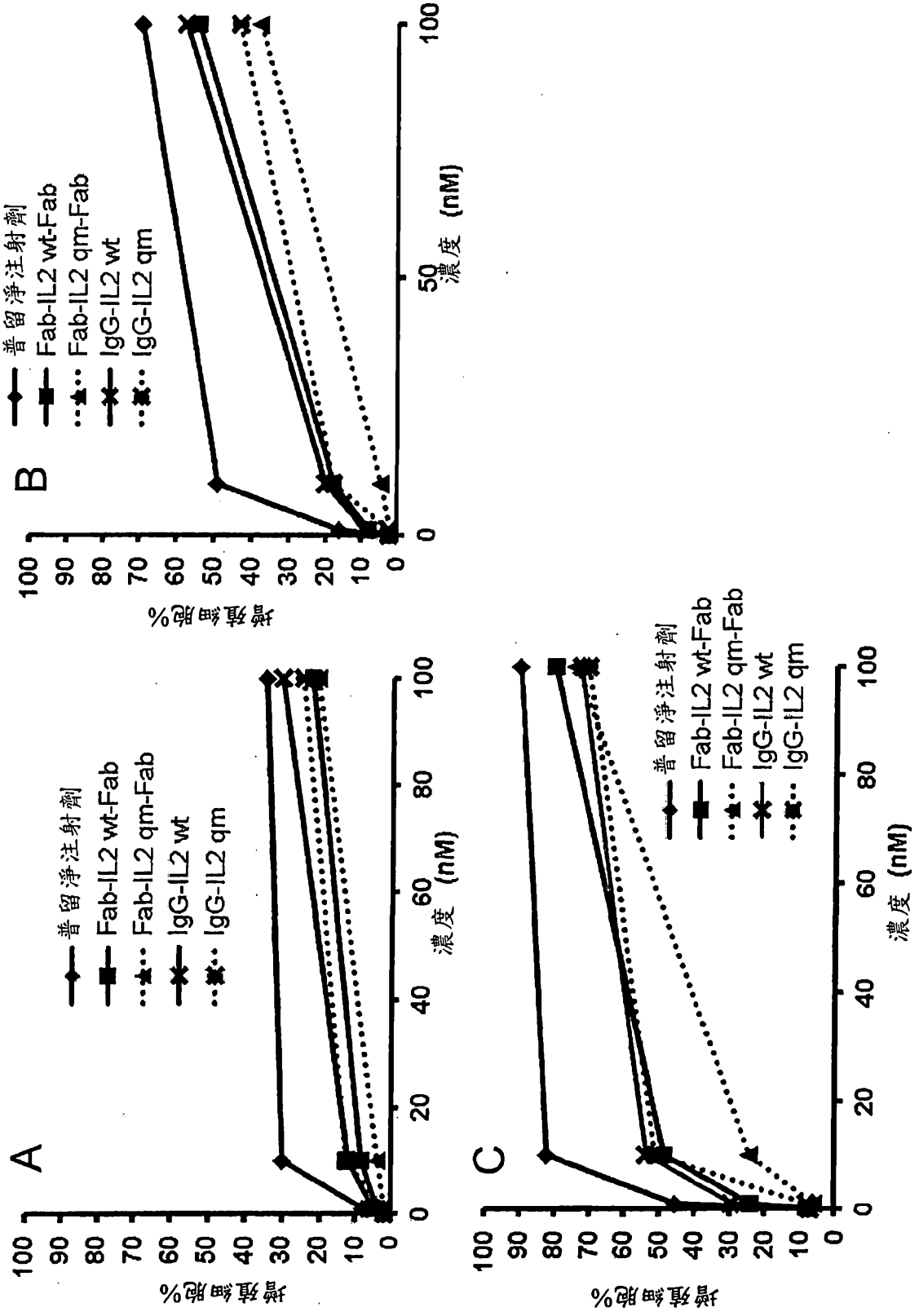

A
B
C
普留淨注射劑
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
增殖細胞%
濃度 (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100

圖 36

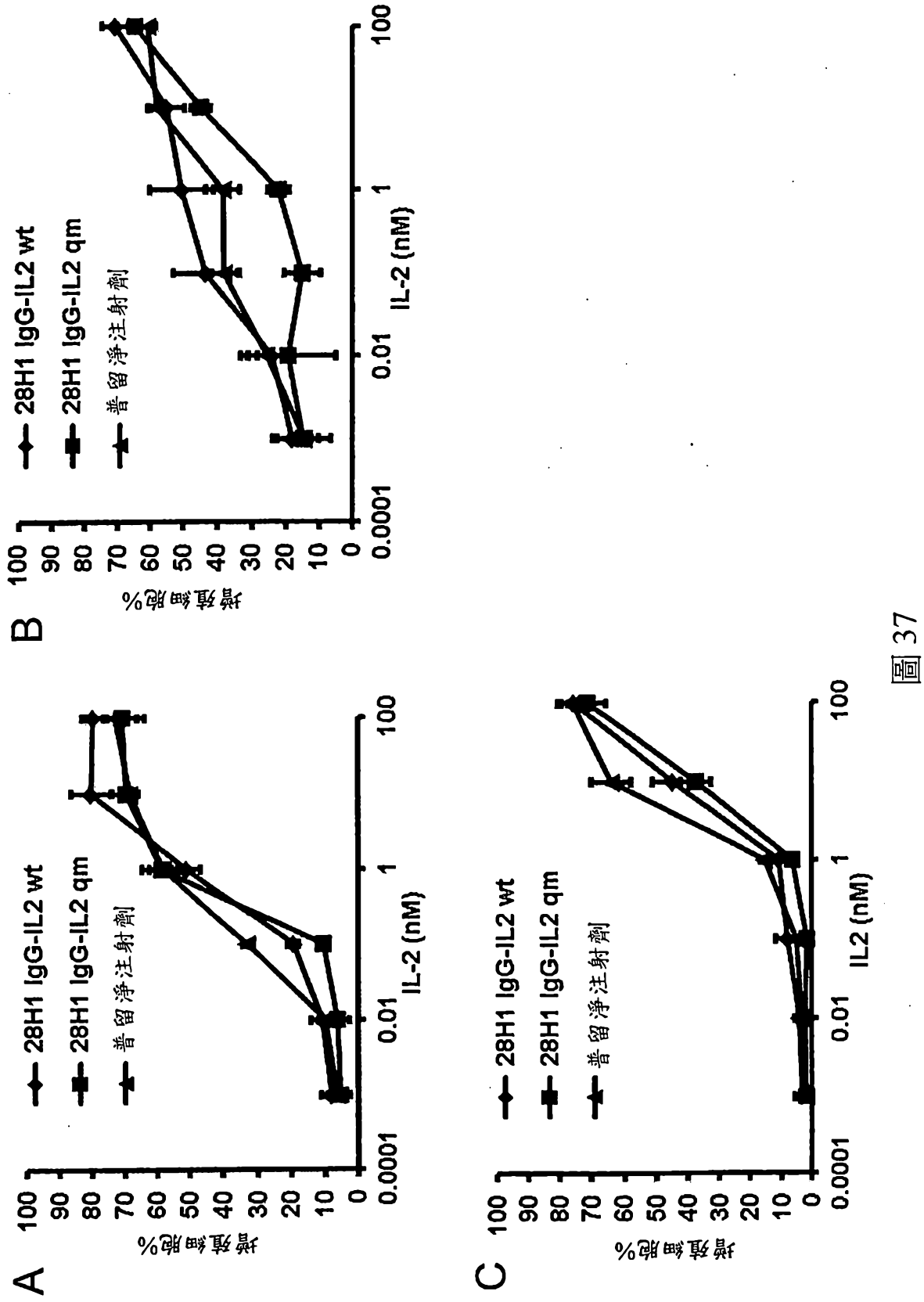

A
B
C
增殖細胞%
IL-2 (nM)
IL2 (nM)
28H1 IgG-IL2 wt
28H1 IgG-IL2 qm
普留淨注射劑
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0.0001
0.01
1

圖 37

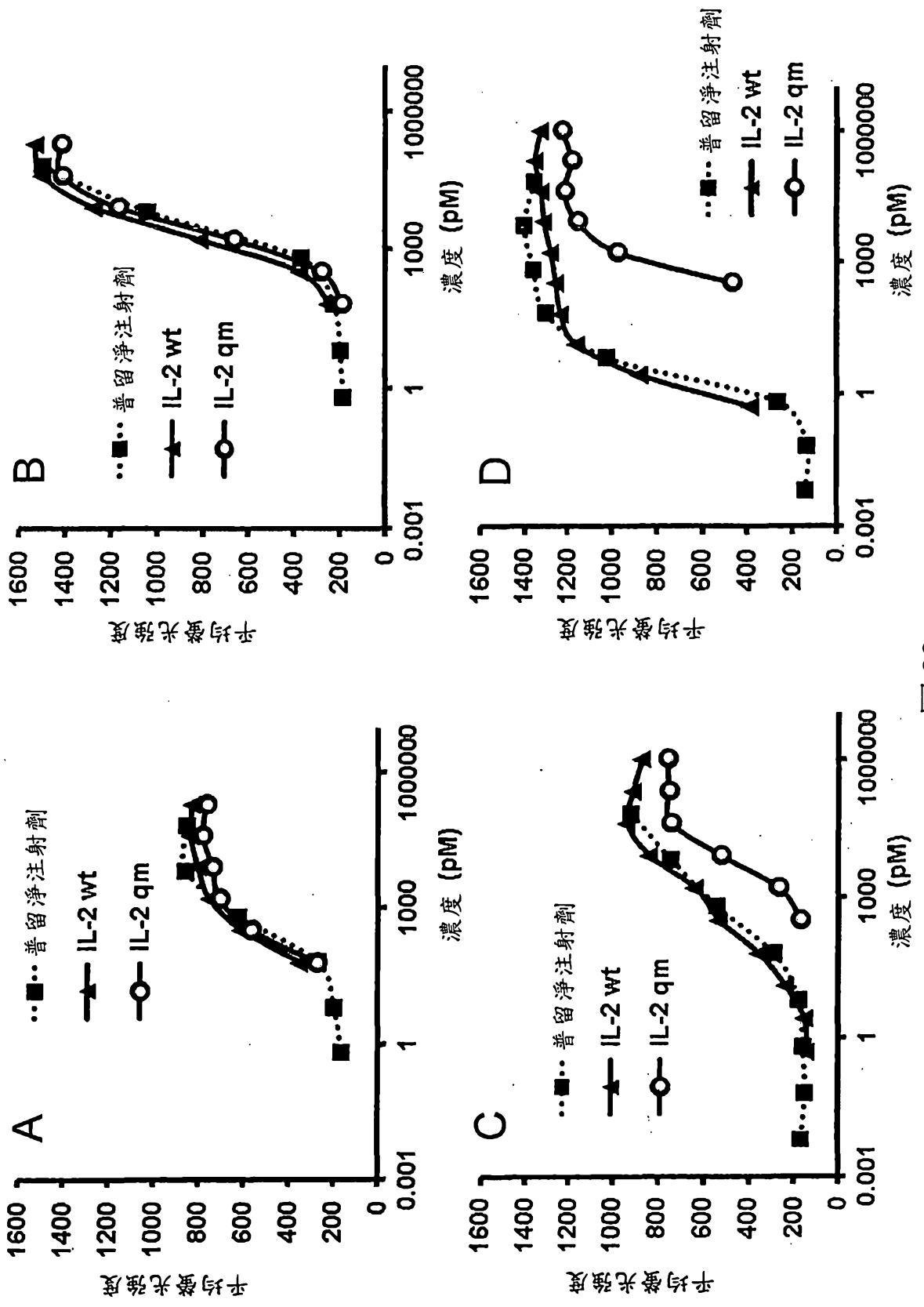

A
B
C
D
普留淨注射劑
IL-2 wt
IL-2 qm
平均螢光強度
濃度 (pM)
0
0.001
1
1000
1000000
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600

圖 38

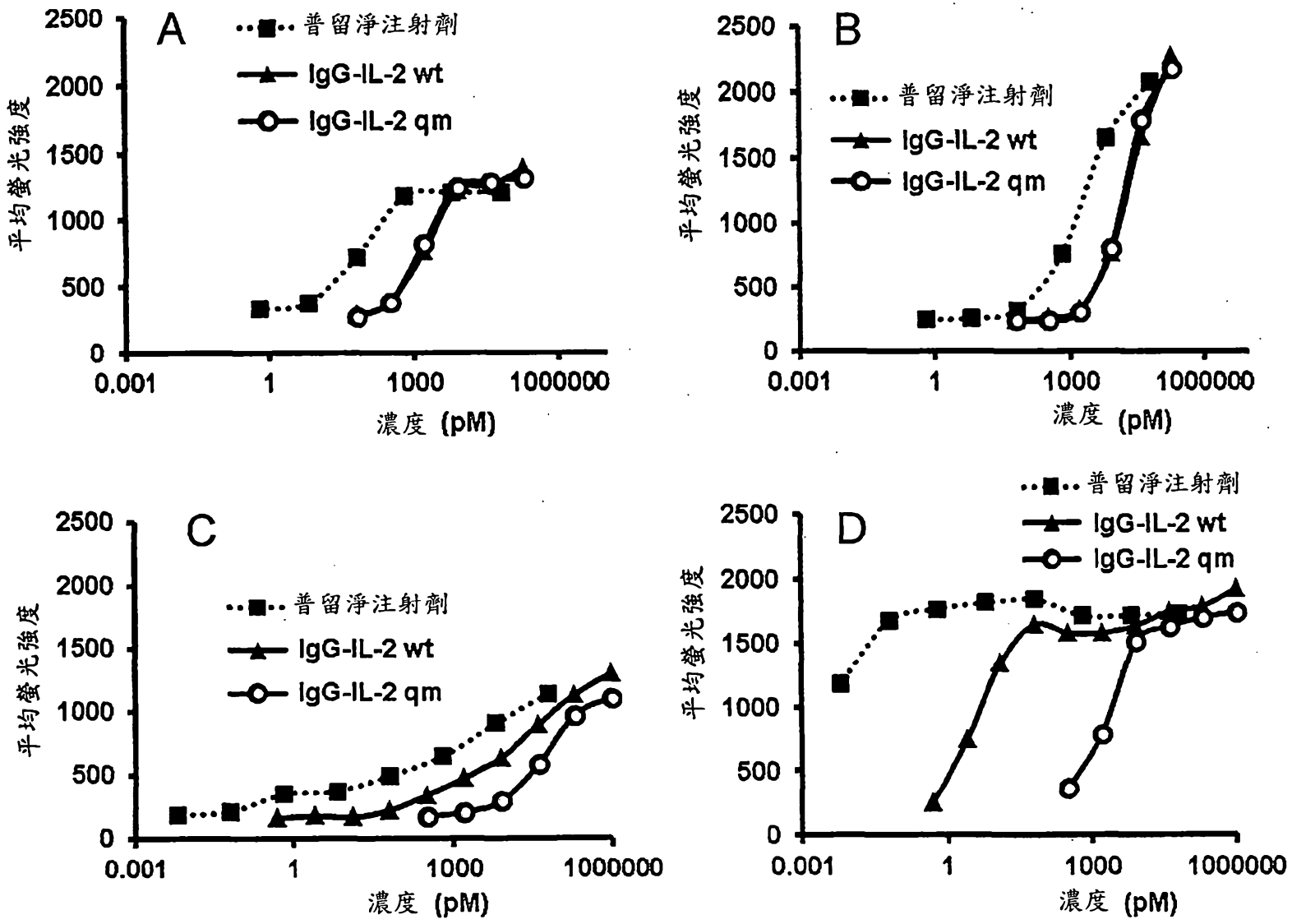

A
普留淨注射劑
IgG-IL-2 wt
IgG-IL-2 qm
平均螢光強度
濃度 (pM)
B
普留淨注射劑
IgG-IL-2 wt
IgG-IL-2 qm
平均螢光強度
濃度 (pM)
C
普留淨注射劑
IgG-IL-2 wt
IgG-IL-2 qm
平均螢光強度
濃度 (pM)
D
普留淨注射劑
IgG-IL-2 wt
IgG-IL-2 qm
平均螢光強度
濃度 (pM)
2500
2000
1500
1000
500
0
0.001
1
1000
1000000

圖 39

平均螢光強度

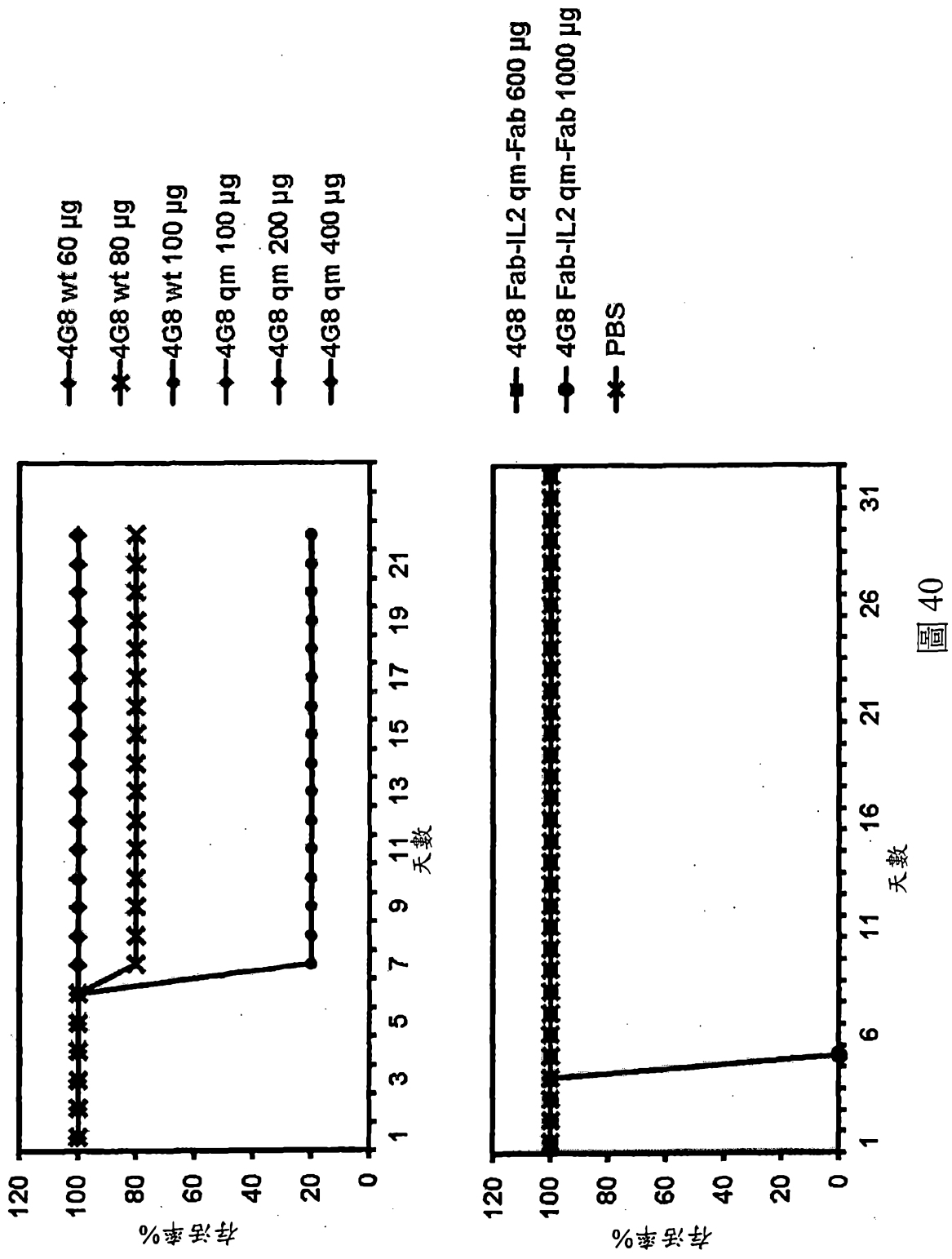

4G8 wt 60 µg
4G8 wt 80 µg
4G8 wt 100 µg
4G8 qm 100 µg
4G8 qm 200 µg
4G8 qm 400 µg
存活率%
天數
4G8 Fab-IL2 qm-Fab 600 µg
4G8 Fab-IL2 qm-Fab 1000 µg
PBS
存活率%
天數

圖 40

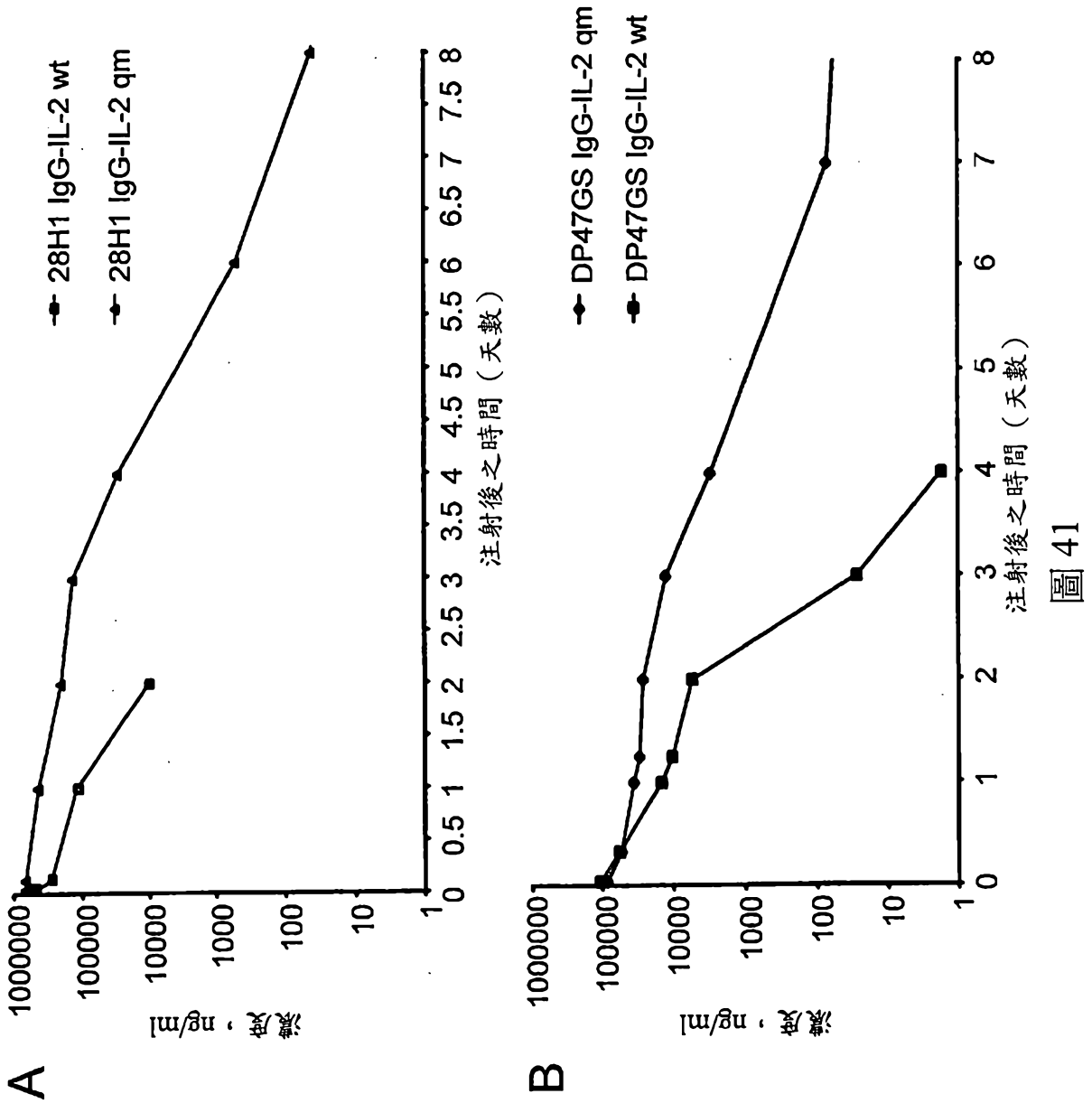

A
濃度，ng/ml
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 7.5 8
注射後之時間（天數）
28H1 IgG-IL-2 wt
28H1 IgG-IL-2 qm
B
濃度，ng/ml
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
0 1 2 3 4 5 6 7 8
注射後之時間（天數）
DP47GS IgG-IL-2 qm
DP47GS IgG-IL-2 wt

圖 41

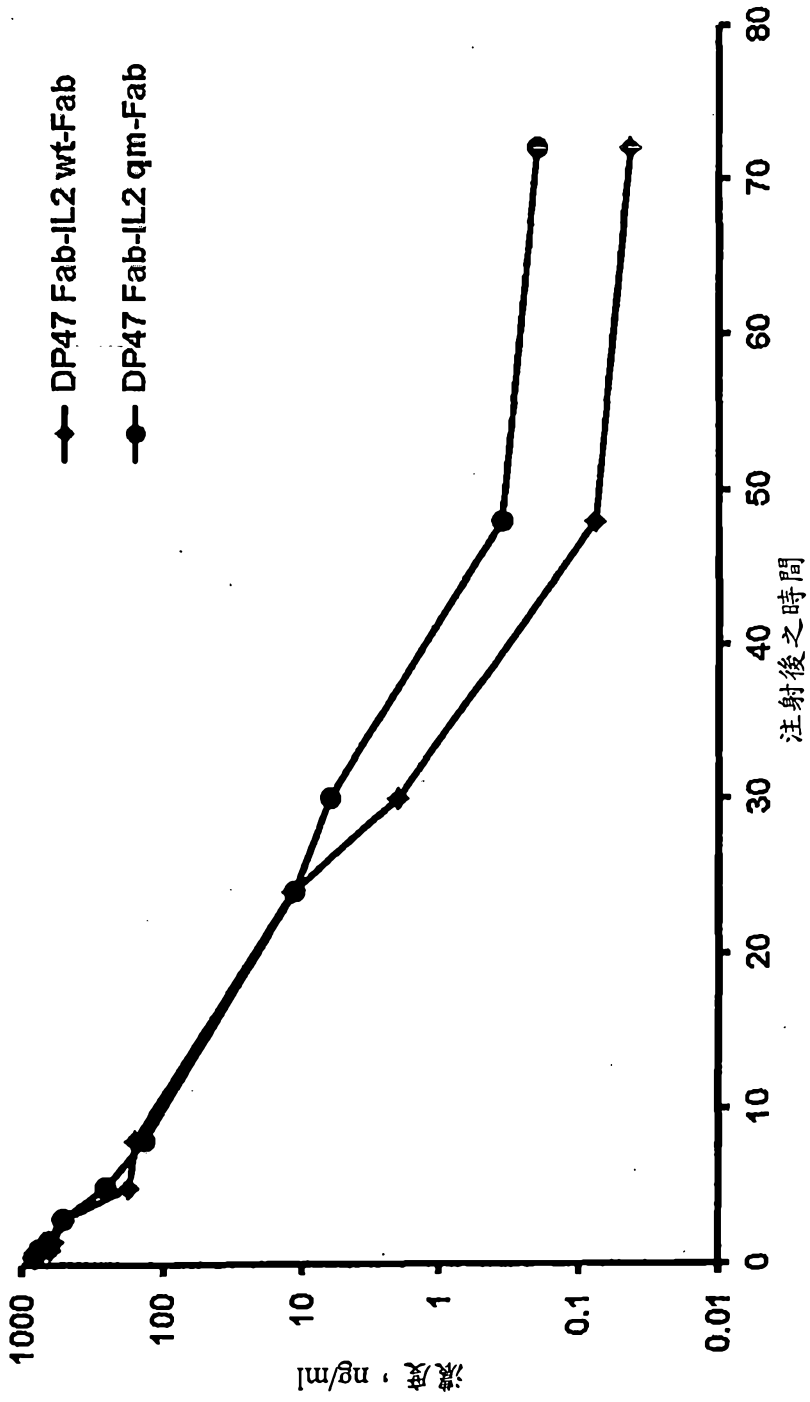

DP47 Fab-IL2 wt-Fab
DP47 Fab-IL2 qm-Fab
濃度，ng/ml
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
10
20
30
40
50
60
70
80
注射後之時間

圖 42

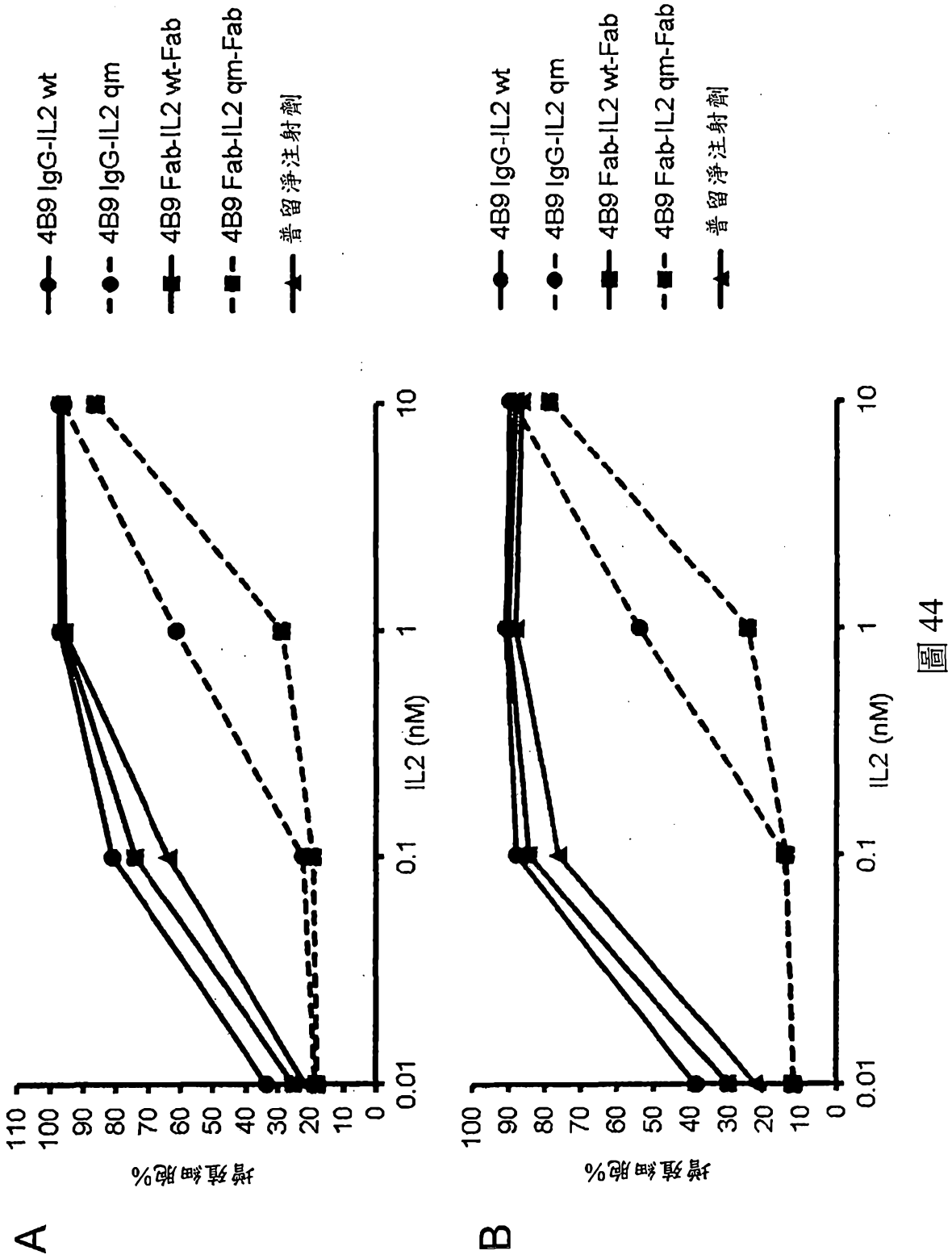

4B9 IgG-IL2 wt
4B9 IgG-IL2 qm
4B9 Fab-IL2 wt-Fab
4B9 Fab-IL2 qm-Fab
普留淨注射劑
A
增殖細胞%
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
IL2 (nM)
B
增殖細胞%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
IL2 (nM)

圖 44

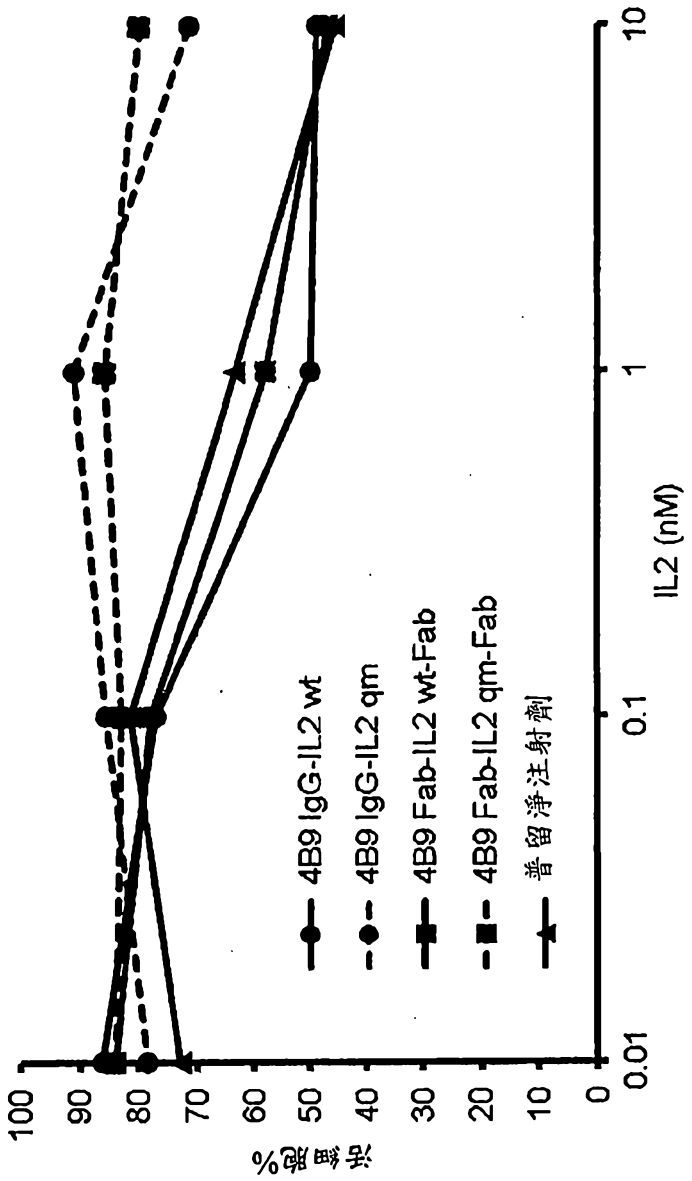

活細胞%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
IL2 (nM)
4B9 IgG-IL2 wt
4B9 IgG-IL2 qm
4B9 Fab-IL2 wt-Fab
4B9 Fab-IL2 qm-Fab
普留淨注射劑

圖 45

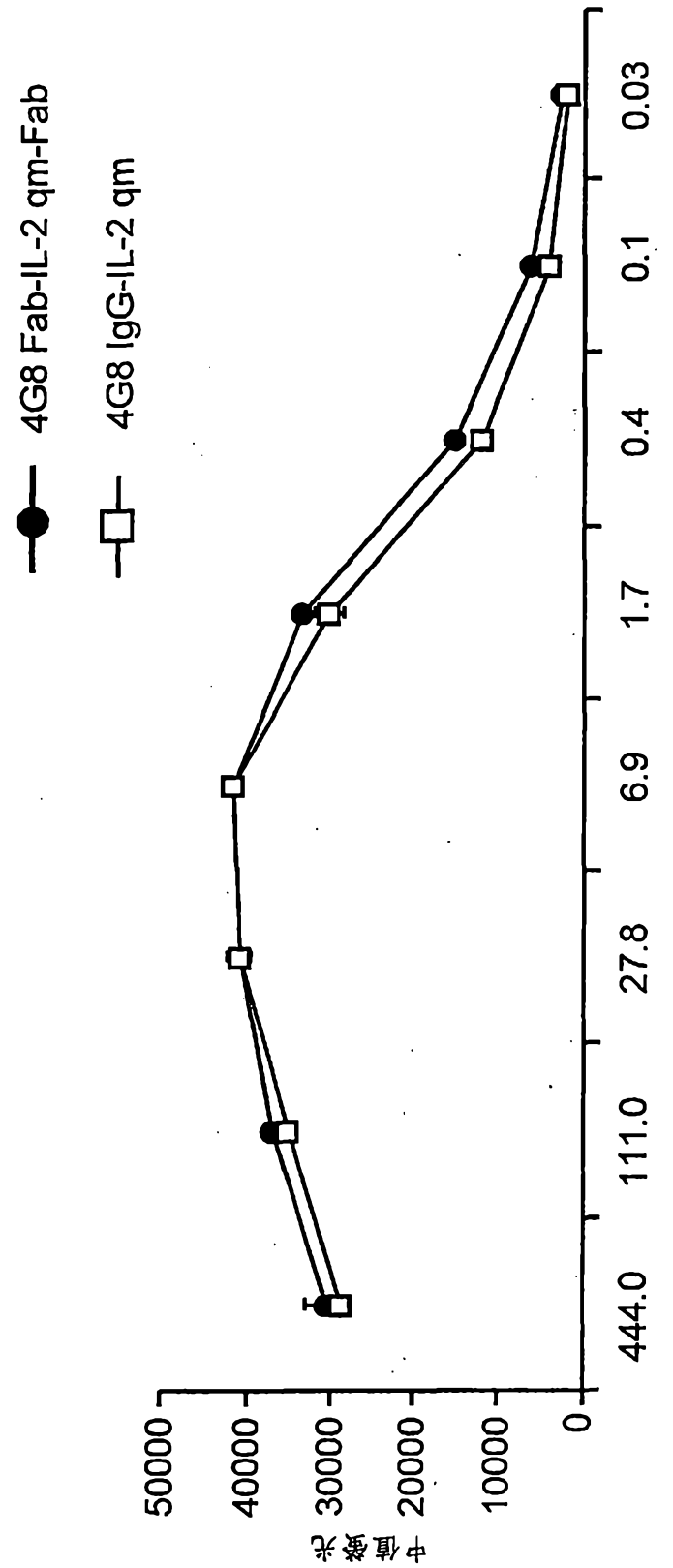

4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 IgG-IL-2 qm
中值螢光
50000
40000
30000
20000
10000
0
濃度 [nM]
444.0
111.0
27.8
6.9
1.7
0.4
0.1
0.03

圖 48

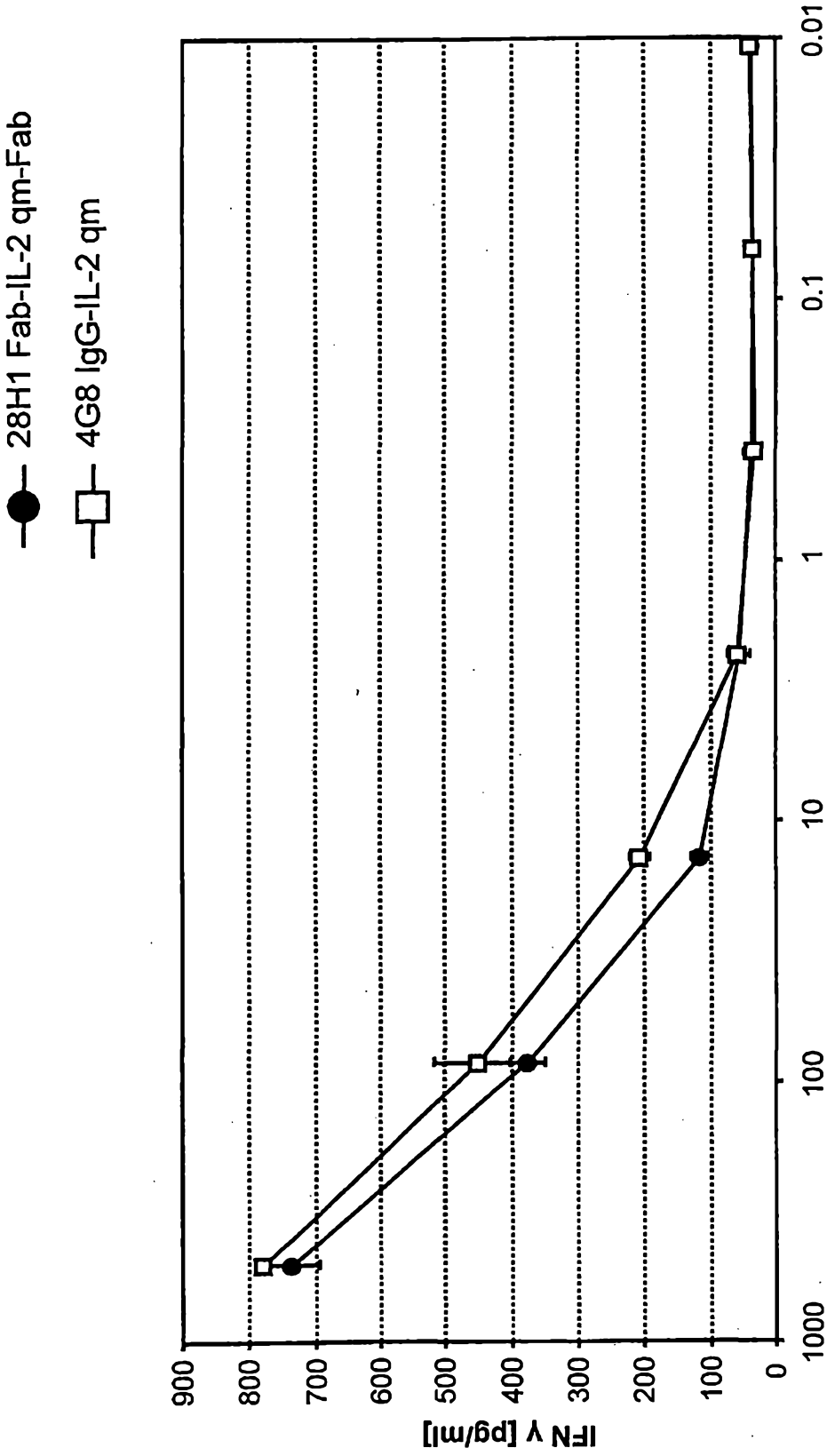

28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 IgG-IL-2 qm
IFN γ [pg/ml]
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
1000
100
10
1
0.1
0.01
IL-2 [nM]

圖 49

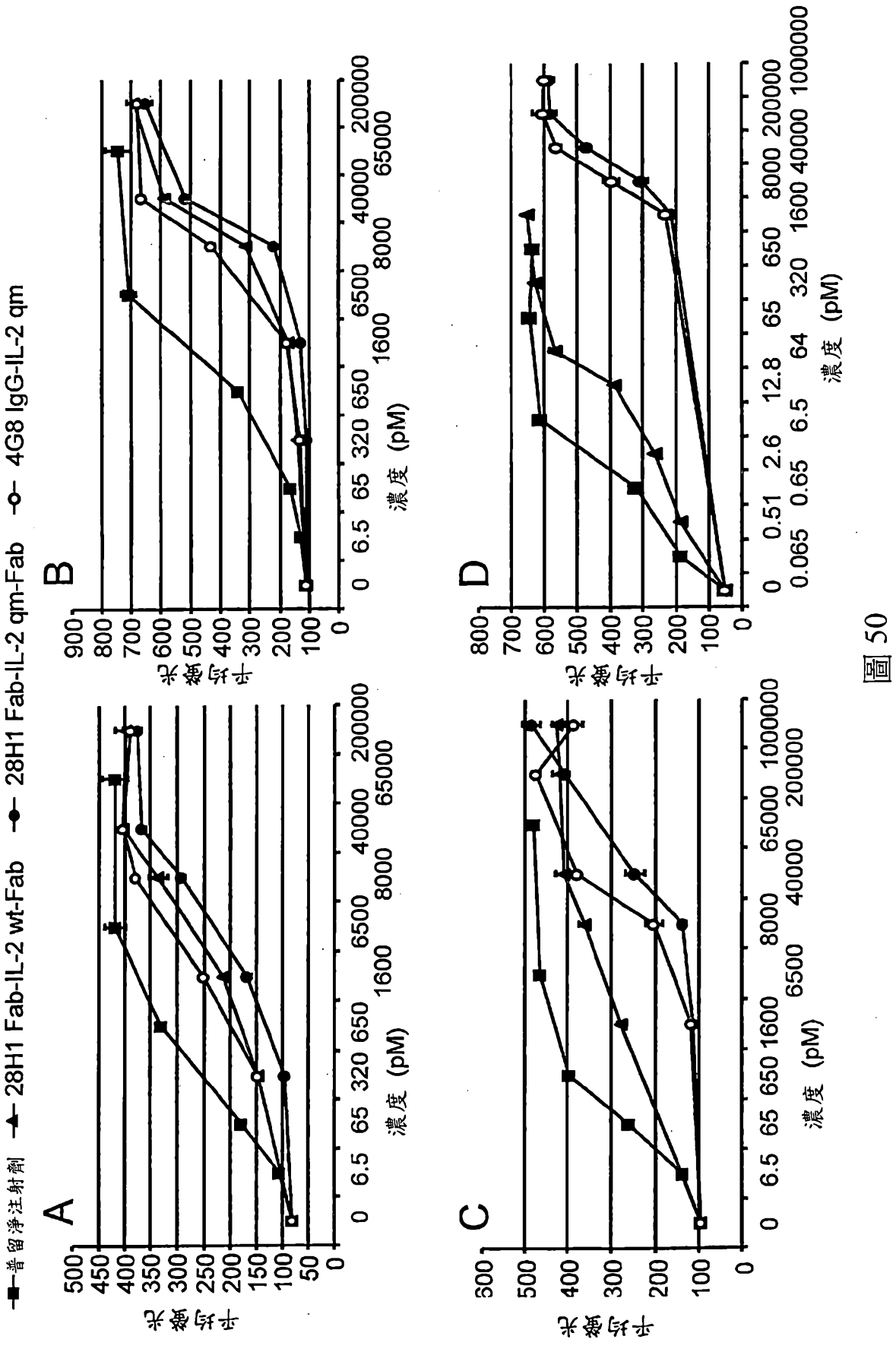

普留淨注射劑
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 IgG-IL-2 qm
A
B
C
D
平均螢光
濃度 (pM)
0 6.5 65 320 650 1600 8000 40000 200000
0 6.5 65 650 1600 6500 8000 65000 1000000
0 0.065 0.51 0.65 2.6 6.5 12.8 64 320 1600 8000 40000 200000 1000000

圖 50