



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114555632 A

(43) 申请公布日 2022. 05. 27

(21) 申请号 202080072706.2

M · 米拉

(22) 申请日 2020.08.21

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(30) 优先权数据

62/890,741 2019.08.23 US

62/931,663 2019.11.06 US

62/958,177 2020.01.07 US

(51) Int. Cl.

C07K 14/54 (2006.01)

C07K 1/107 (2006.01)

C12N 5/0783 (2010.01)

A61K 38/20 (2006.01)

A61K 47/60 (2017.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.04.15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/047389 2020.08.21

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/041206 EN 2021.03.04

(71) 申请人 新索思股份有限公司

地址 美国加利福尼亚

权利要求书24页 说明书219页

序列表70页 附图13页

(72) 发明人 C · E · 卡法雷尔 J · 普塔辛

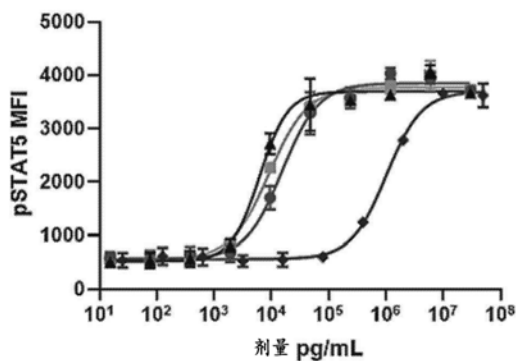
(54) 发明名称

IL-15缀合物及其用途

(57) 摘要

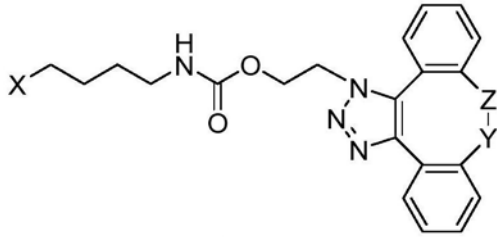
本文公开了白介素(IL)-15缀合物及其在治疗一种或多种适应症中的用途。本文还描述的包括包含一种或多种IL-15缀合物的药物组合物和试剂盒。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基由本文所述的式(I)的结构替代。

CD8 + T 细胞



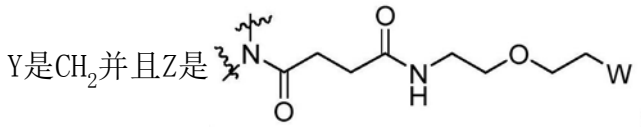
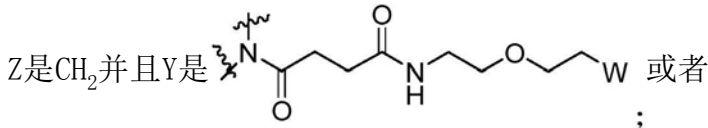
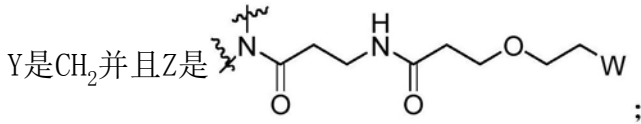
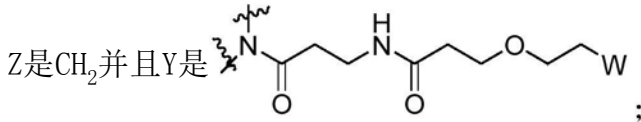
- ▲ 天然 IL-15
- IL-15_N78[AzK_PEG30]
- IL-15_L26[AzK_PEG30]
- ◆ IL-15_E54[AzK_PEG30]

1. 一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构替代:



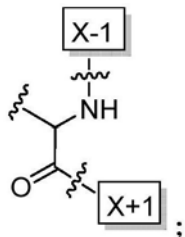
式 (I);

其中:



W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

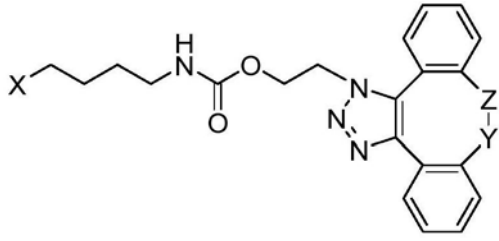
X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

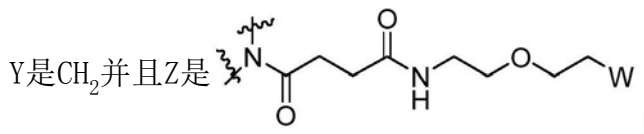
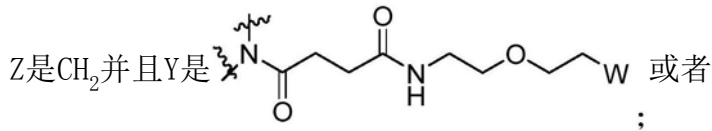
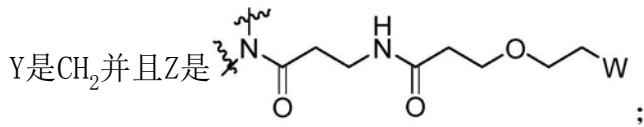
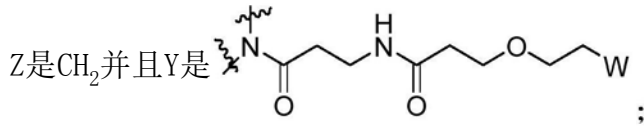
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

2. 一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构替代:



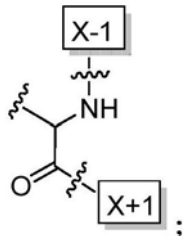
式 (I);

其中:



W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

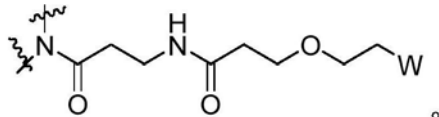
X具有以下结构:



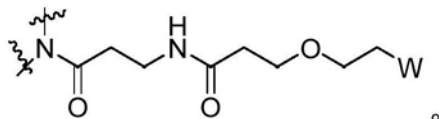
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

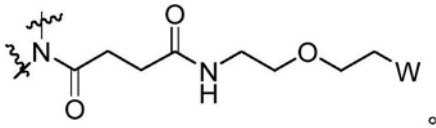
3. 根据权利要求1或2所述的IL-15缀合物,其中Z是CH₂并且Y是



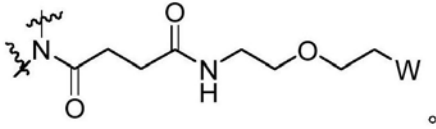
4. 根据权利要求1或2所述的IL-15缀合物,其中Y是CH₂并且Z是



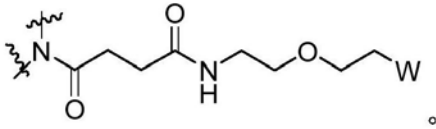
5. 根据权利要求1或2所述的IL-15缀合物,其中Z是CH₂并且Y是



6. 根据权利要求1或2所述的IL-15缀合物,其中Z是CH₂并且Y是



7. 根据权利要求1或2所述的IL-15缀合物,其中Y是CH₂并且Z是



8. 根据权利要求1至7中任一项所述的IL-15缀合物,其中所述PEG基团具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量。

9. 根据权利要求8所述的IL-15缀合物,其中所述PEG基团具有30kDa的平均分子量。

10. 根据权利要求1所述的IL-15缀合物,其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。

11. 根据权利要求10所述的IL-15缀合物,其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。

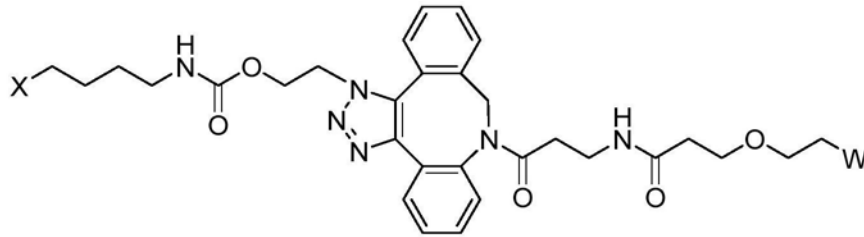
12. 根据权利要求2所述的IL-15缀合物,其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。

13. 根据权利要求12所述的IL-15缀合物,其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。

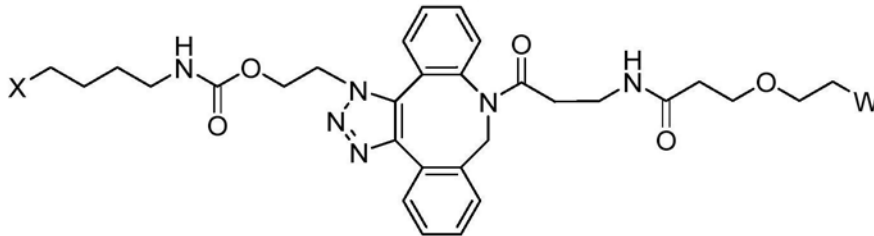
14. 根据权利要求12所述的IL-15缀合物,其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。

15. 根据权利要求12所述的IL-15缀合物,其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。

16. 一种包含SEQ ID NO:16-21中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)的结构,或者式(II)与式(III)的混合物:



式 (II);

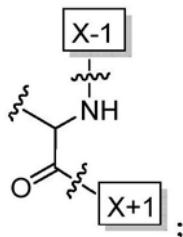


式 (III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

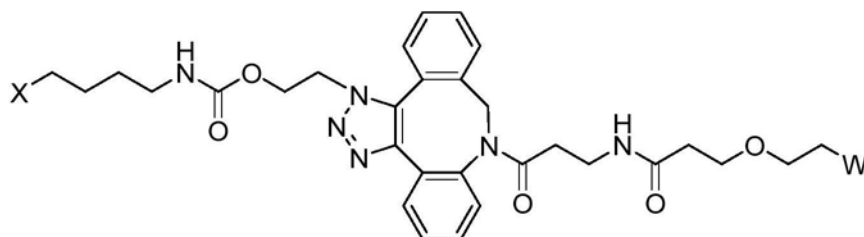
X具有以下结构:



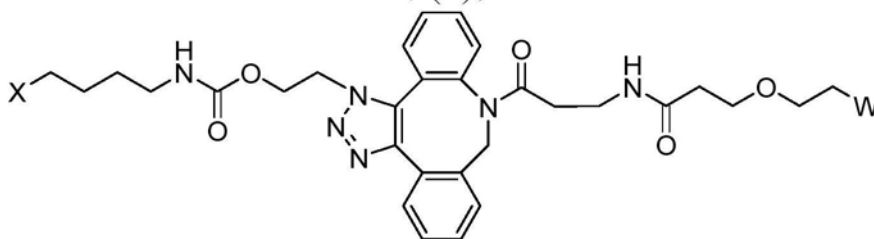
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

17. 一种包含SEQ ID NO:16-21中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);

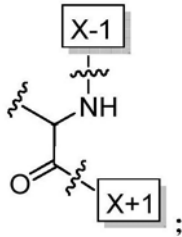


式 (III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

18. 根据权利要求17所述的IL-15缀合物，其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率为约1:1。

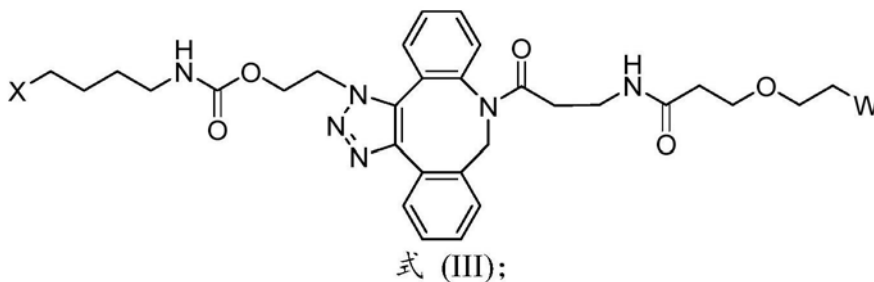
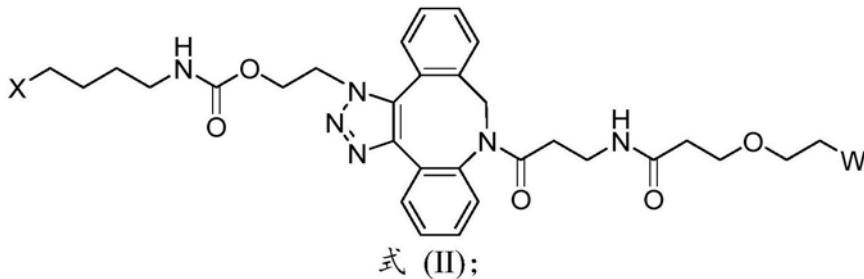
19. 根据权利要求17所述的IL-15缀合物，其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率大于1:1。

20. 根据权利要求17所述的IL-15缀合物，其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率小于1:1。

21. 根据权利要求1至20中任一项所述的IL-15缀合物，其中W是线性或分支PEG基团。

22. 根据权利要求1至20中任一项所述的IL-15缀合物，其中W是甲氧基PEG基团。

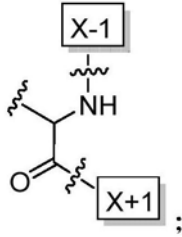
23. 一种包含SEQ ID NO:22-27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构，或者式(II)与式(III)的混合物：



其中：

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团；并且

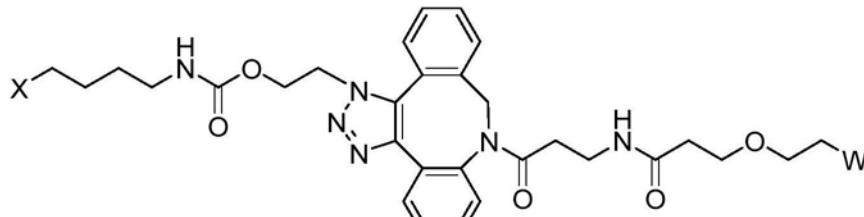
X具有以下结构：



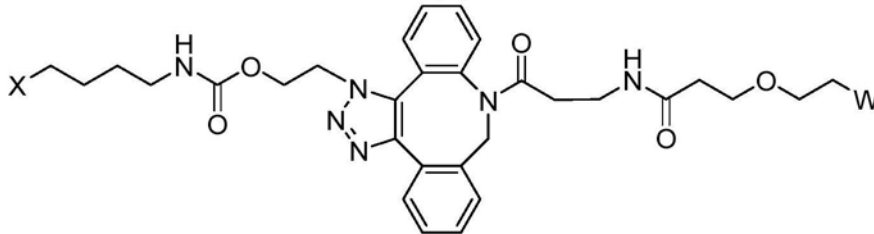
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

24.一种包含SEQ ID NO:22至27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG30]是式(II)与式(III)的结构混合物:



式 (II);

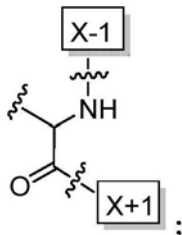


式 (III);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

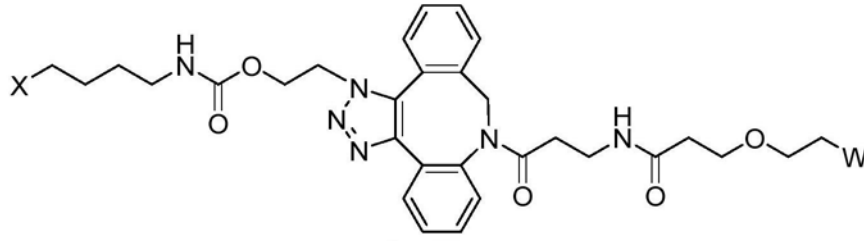
X具有以下结构:



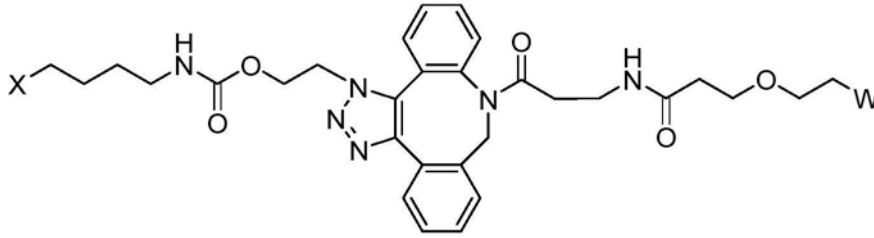
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

25.一种包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式(II)或式(III)的结构,或者是式(II)与式(III)的结构混合物:



式 (II);

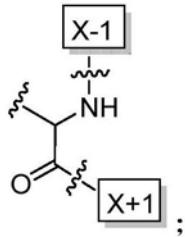


式 (III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

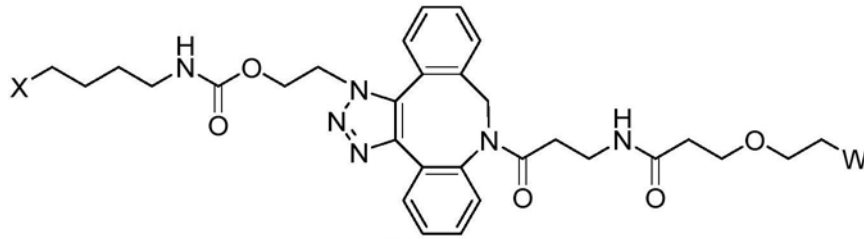
X具有以下结构:



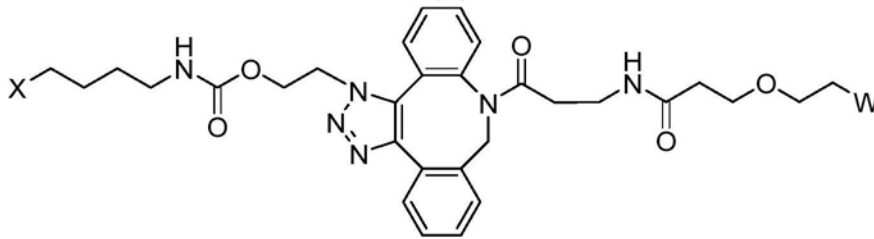
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

26. 一种包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);

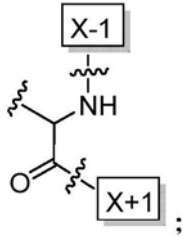


式 (III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

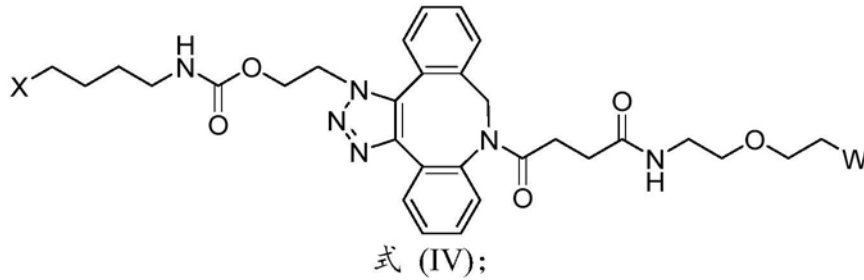
X具有以下结构：



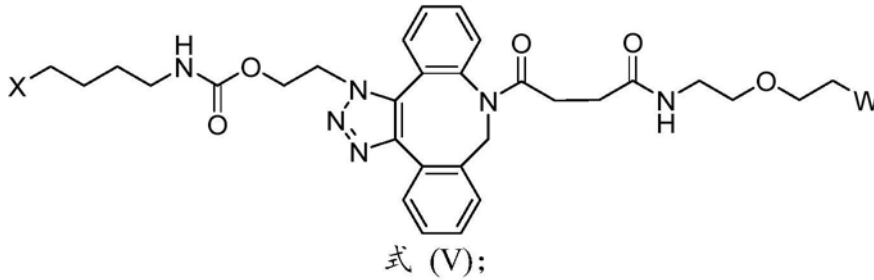
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

27. 一种包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构，或者式(IV)与式(V)的混合物：



式 (IV)；

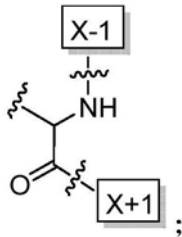


式 (V)；

其中：

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团；并且

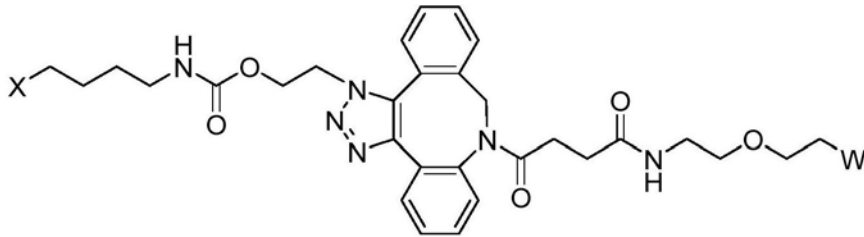
X具有以下结构：



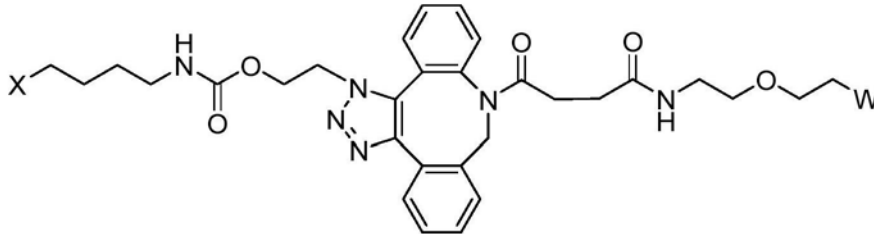
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

28. 一种包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构的混合物：



式 (IV);

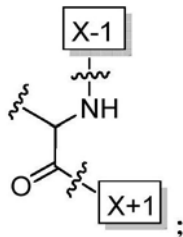


式 (V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

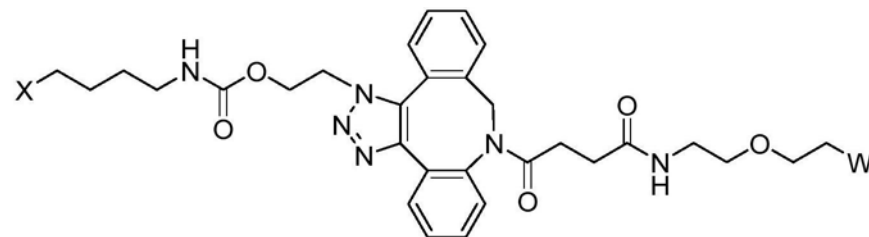
X具有以下结构:



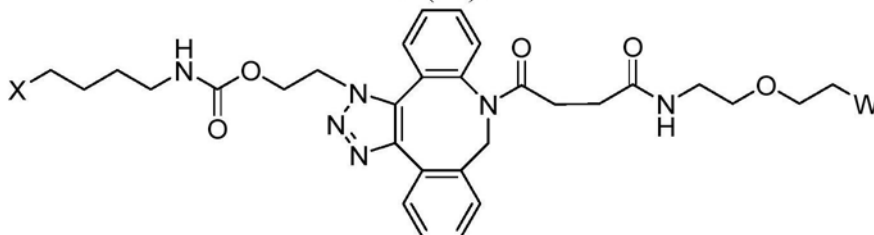
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

29. 一种包含SEQ ID NO:40-45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式 (IV);

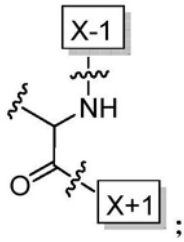


式 (V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

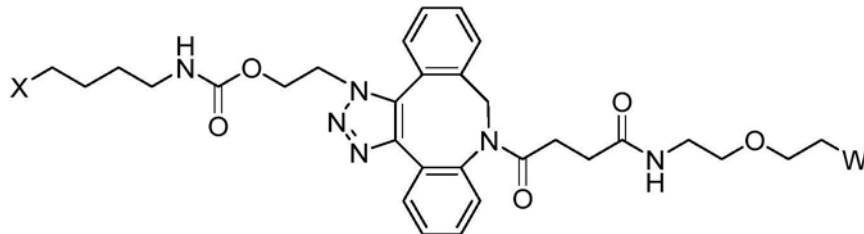


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

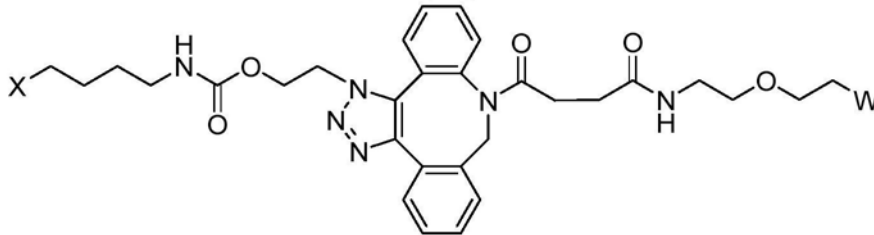
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

30. 根据权利要求29所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

31. 一种包含SEQ ID NO:40至45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



式 (IV);

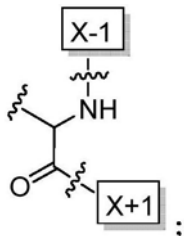


式 (V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

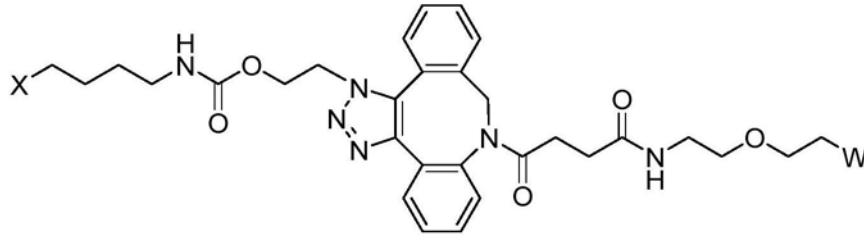
X具有以下结构:



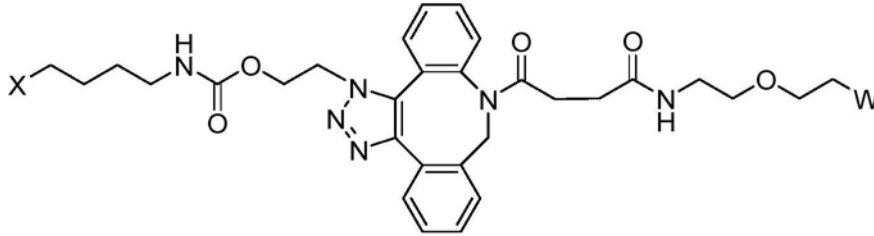
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

32. 一种包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)或式(V)的结构,或者是式(IV)与式(V)的结构混合物:



式 (IV);

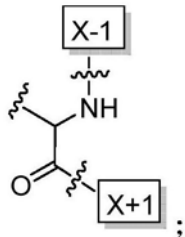


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

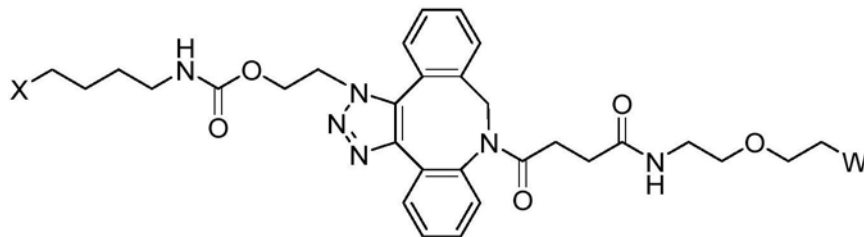
X具有以下结构:



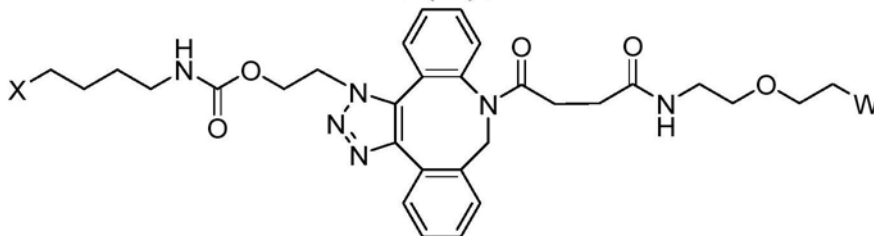
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

33. 一种包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

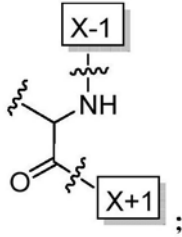


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

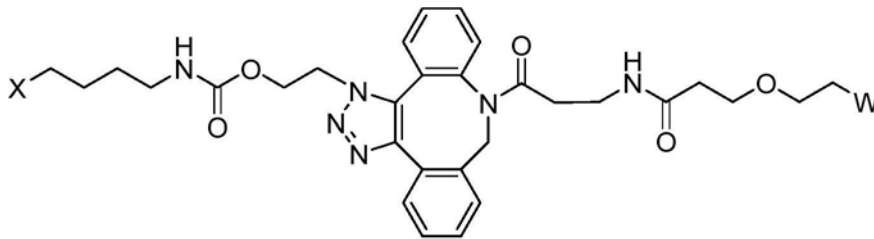
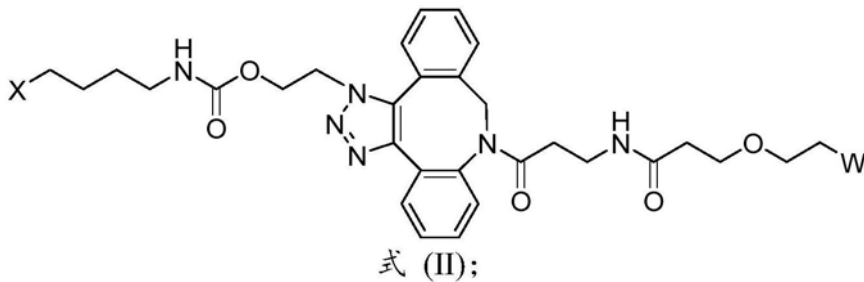
X具有以下结构：



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

34. 一种包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)的结构，或者式(II)与式(III)的混合物：

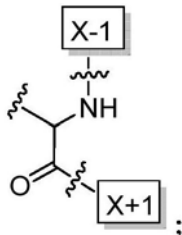


式(III)；

其中：

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团；并且

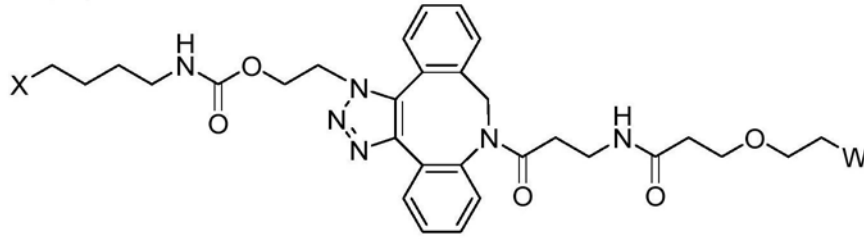
X具有以下结构：



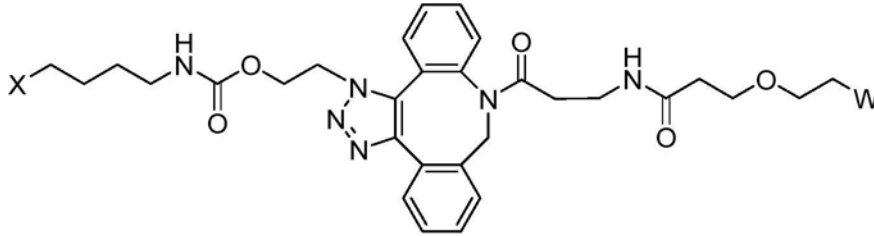
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

35. 一种包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物：



式 (II);

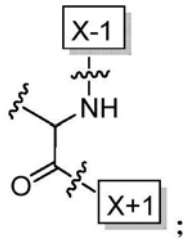


式 (III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

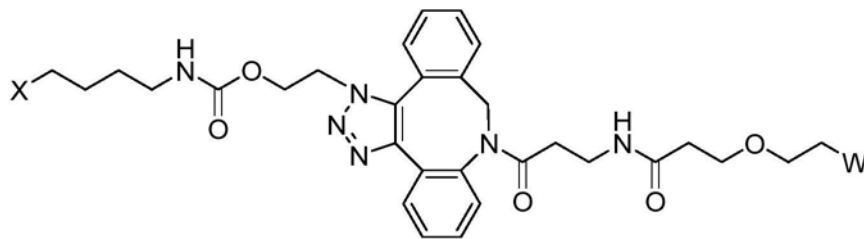
X具有以下结构:



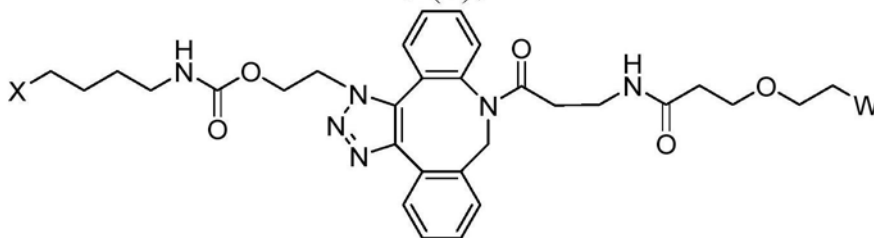
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

36.一种包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构,或者式(II)与式(III)的混合物:



式 (II);

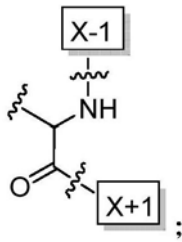


式 (III);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

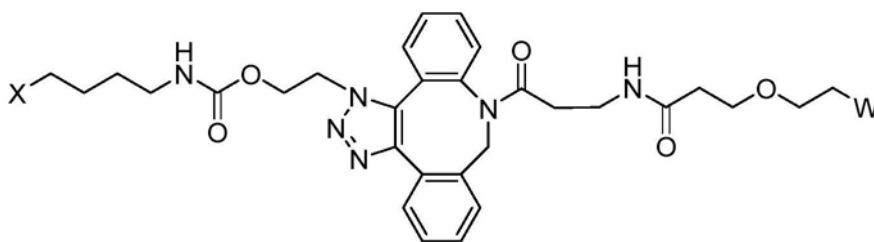
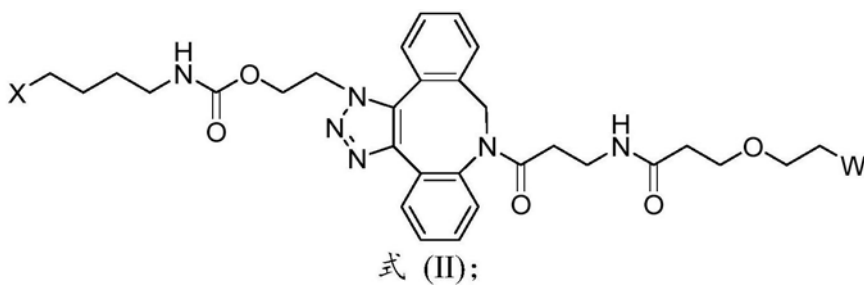
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

37. 根据权利要求36所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

38. 根据权利要求36所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。

39. 根据权利要求36所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

40. 一种包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK₁PEG30]是式(II)与式(III)的结构的混合物:

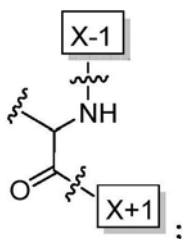


式 (III);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

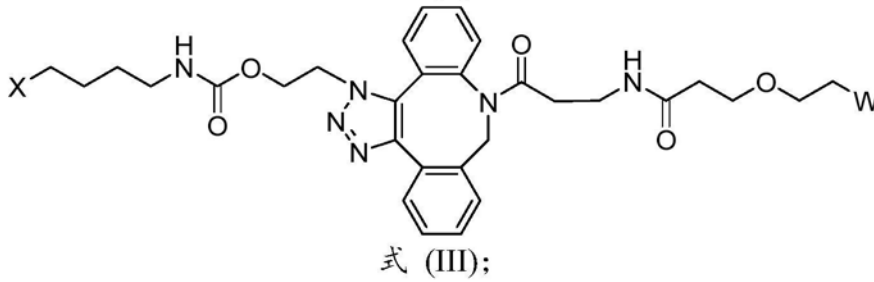
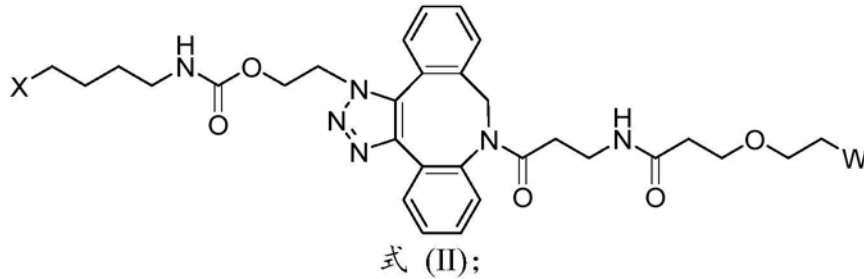
X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

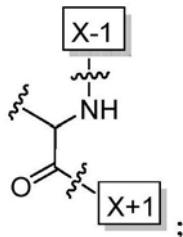
41.一种包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式(II)或式(III)的结构,或者是式(II)与式(III)的结构的混合物:



其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

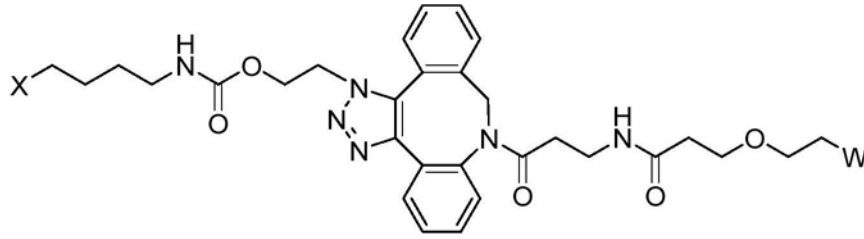
X具有以下结构:



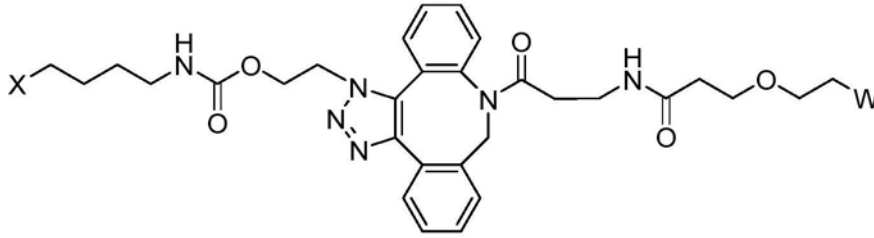
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

42.一种包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);

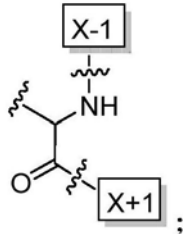


式 (III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

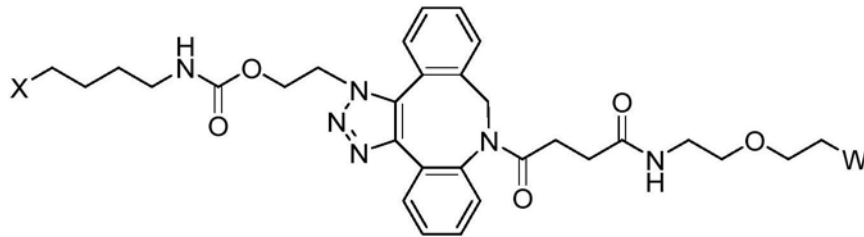
X具有以下结构:



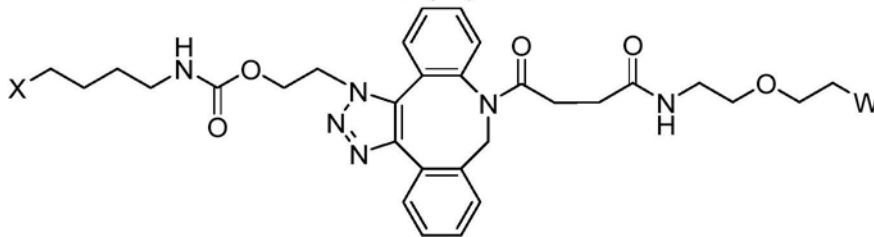
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

43. 一种包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式 (IV);



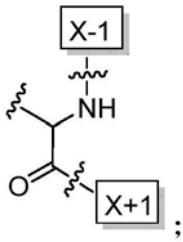
式 (V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和

60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

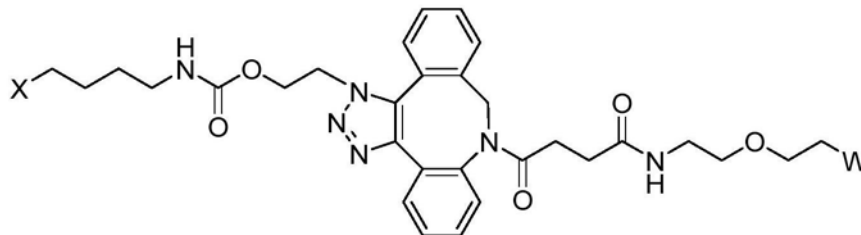
X具有以下结构:



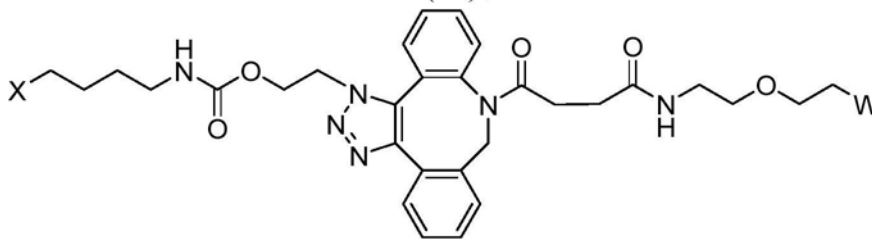
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

44.一种包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[Azk_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



式 (IV);

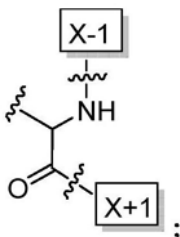


式 (V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

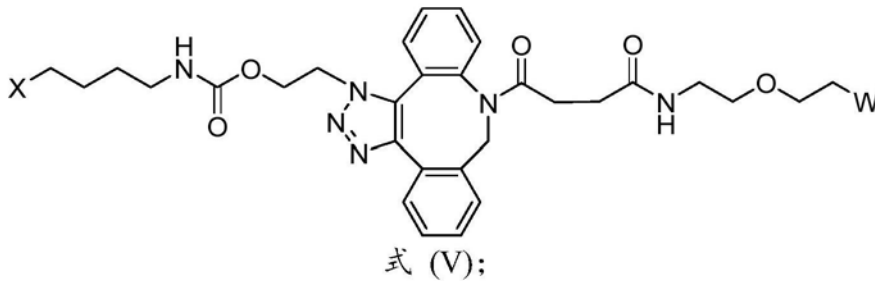
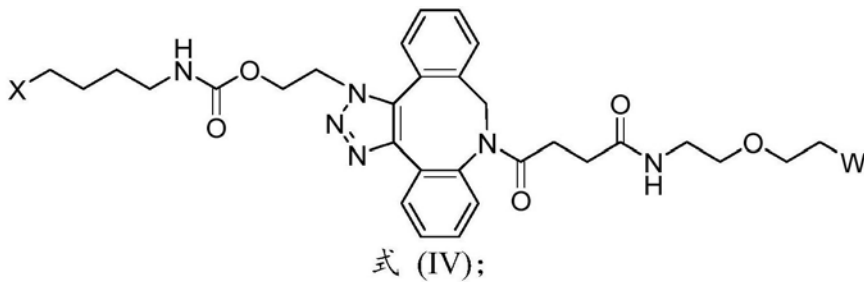
X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

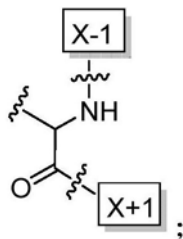
45.一种包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[Azk_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

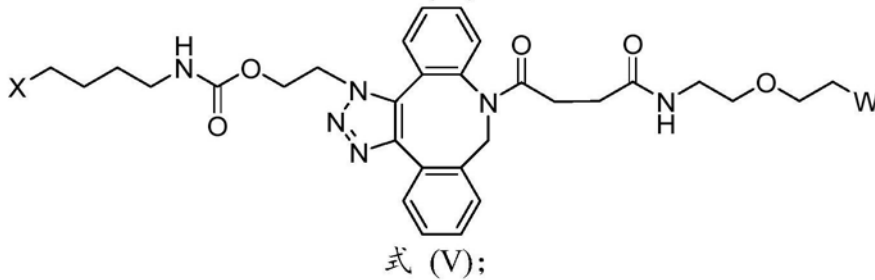
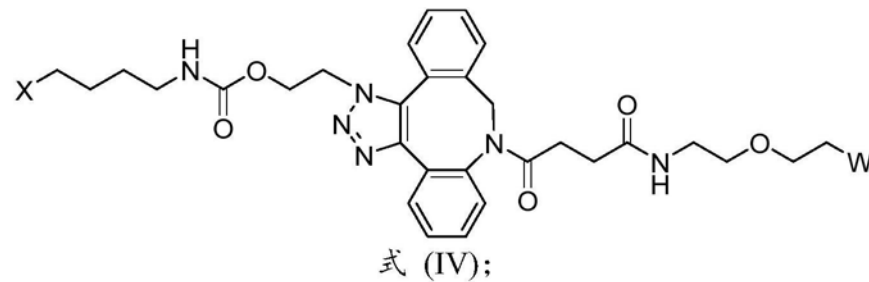
X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

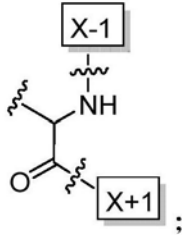
46. 一种包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

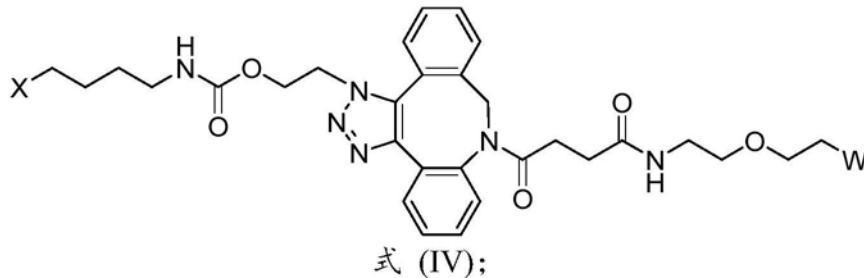
X具有以下结构：



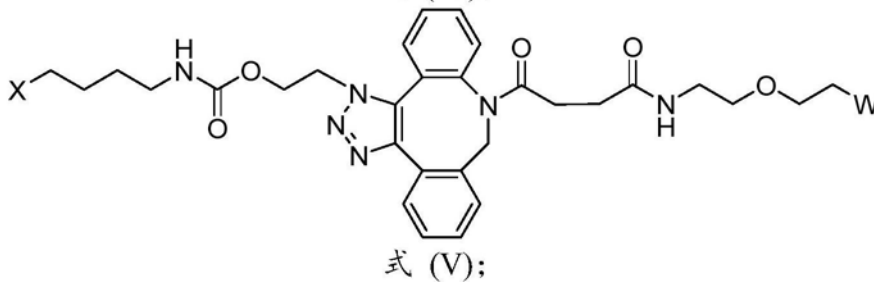
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

47. 一种包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)或式(V)的结构，或者是式(IV)与式(V)的结构的混合物：



式 (IV)；

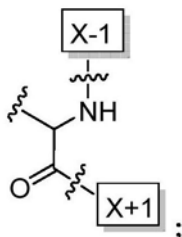


式 (V)；

其中：

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团；并且

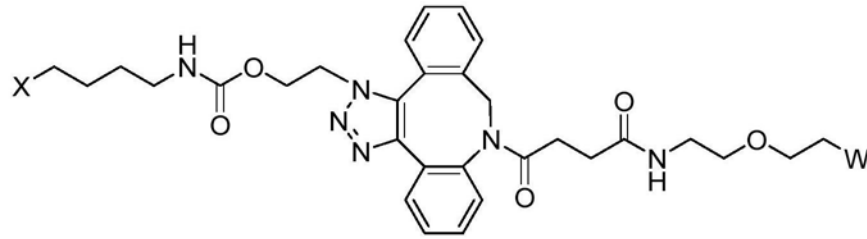
X具有以下结构：



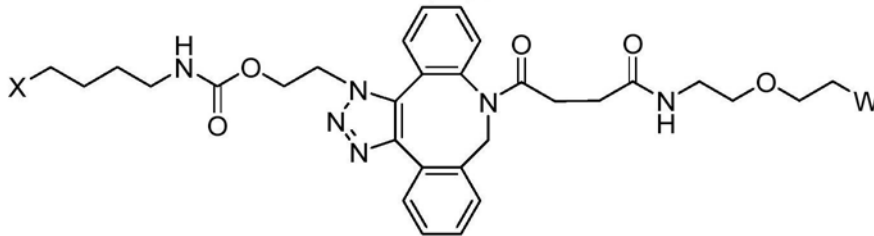
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

48. 一种包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_L1_PEG40]是式(IV)与式(V)的结构的混合物：



式 (IV);

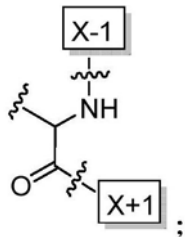


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

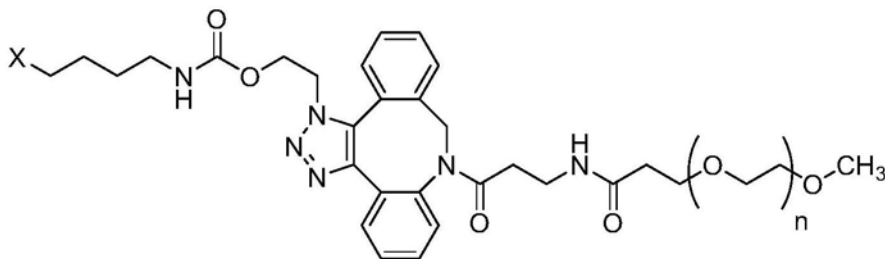
X具有以下结构:



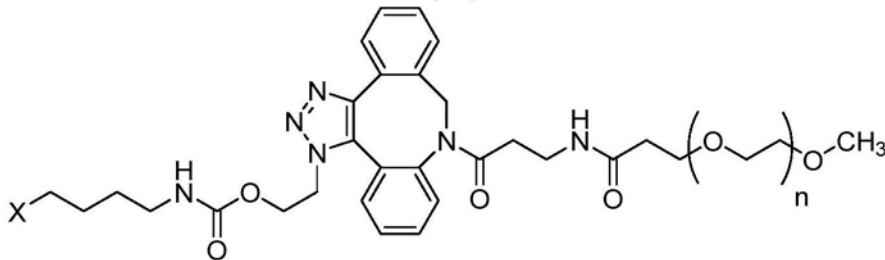
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

49. 一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或式(VI)与式(VII)的混合物替代:



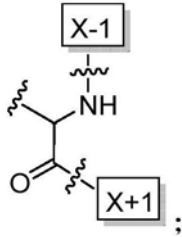
式 (VI);



(VII);

其中:

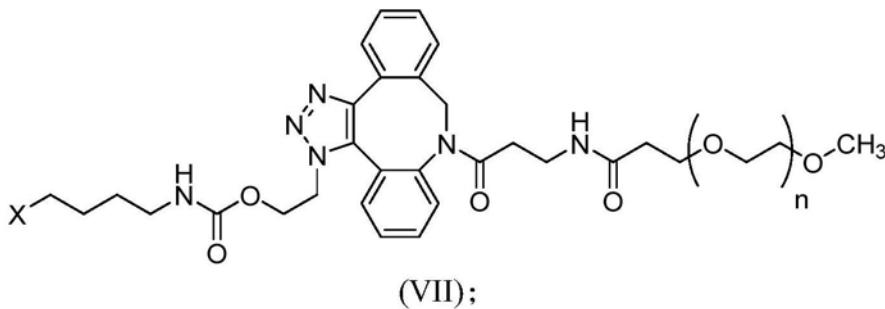
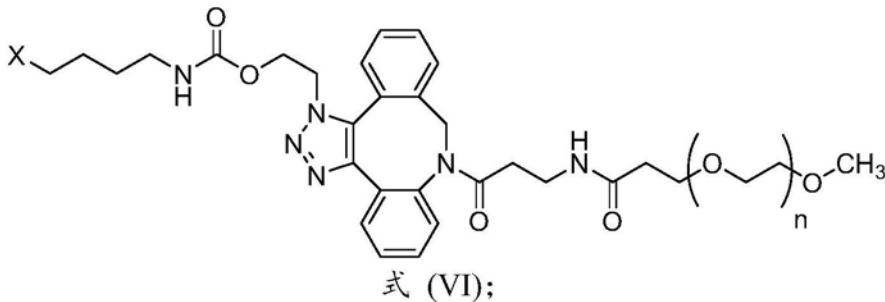
n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

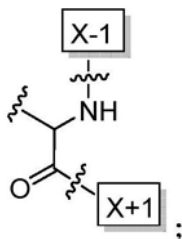
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

50.一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或式(VI)与式(VII)的混合物替代:



其中:

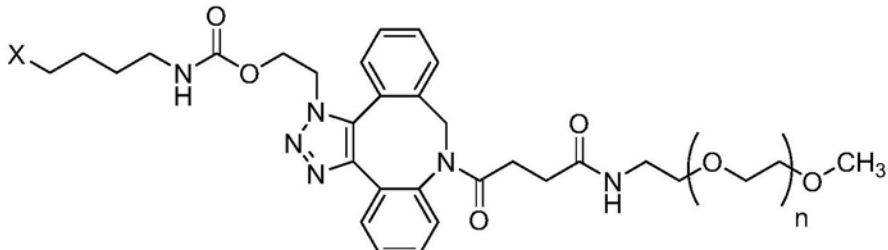
n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



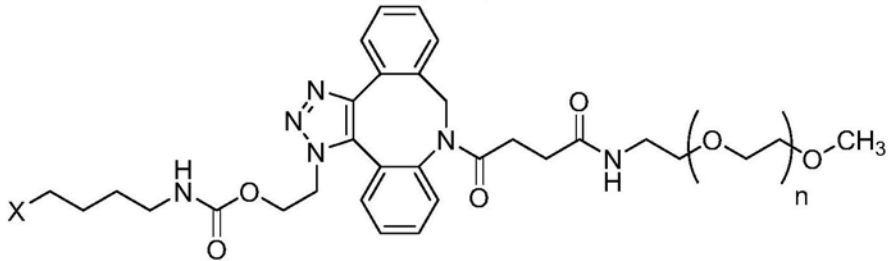
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

51.一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VIII)或(IX)的结构或式(VIII)与式(IX)的混合物替代:



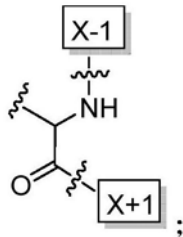
式 (VIII);



式 (IX);

其中:

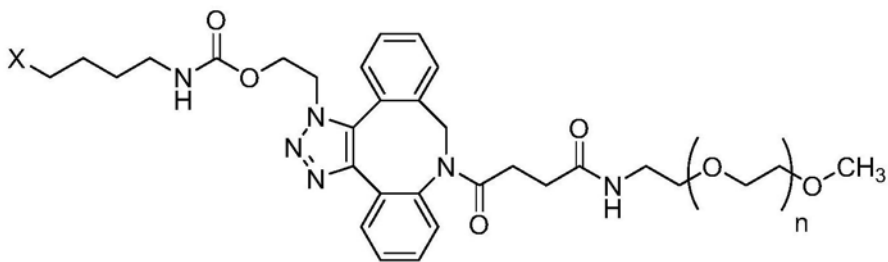
n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



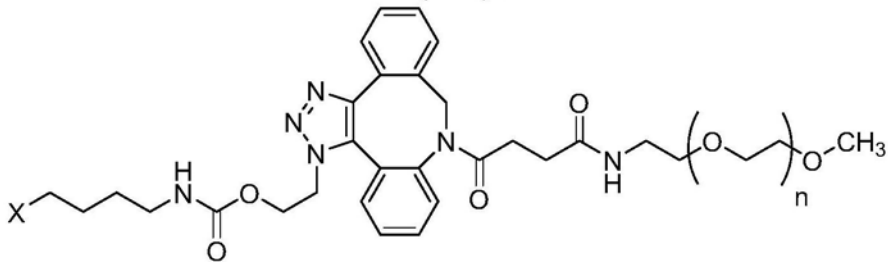
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

52. 一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式 (VIII) 或 (IX) 的结构或式 (VIII) 与式 (IX) 的混合物替代:



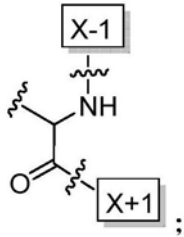
式 (VIII);



式 (IX);

其中:

n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

53. 根据权利要求1至52中任一项所述的IL-15缀合物,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

54. 一种治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的根据权利要求1至53中任一项所述的IL-15缀合物。

55. 根据权利要求1至53中任一项所述的IL-15缀合物,用于治疗癌症。

56. 根据权利要求1至53中任一项所述的IL-15缀合物用于制造治疗癌症的药物的用途。

57. 根据权利要求54所述的方法、用于所述用途的IL-15缀合物、或用途,其中所述癌症是恶性血液病。

58. 根据权利要求54所述的方法、用于所述用途的IL-15缀合物、或用途,其中所述受试者的癌症选自肾细胞癌(RCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、经典型霍奇金淋巴瘤(cHL)、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤(PMBCL)、尿路上皮癌、微卫星不稳定癌、微卫星稳定癌、胃癌、宫颈癌、肝细胞癌(HCC)、梅克尔细胞癌(MCC)、黑色素瘤、小细胞肺癌(SCLC)、食道癌、胶质母细胞瘤、间皮瘤、乳腺癌、三阴性乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低度突变负荷的肿瘤、皮肤鳞状细胞癌(CSCC)、鳞状细胞皮肤癌(SCSC)、低表达至不表达PD-L1的肿瘤、超出其原发解剖学起源部位全身性播散至肝脏和CNS的肿瘤、和弥漫性大B细胞淋巴瘤。

59. 一种扩增效应T(Teff)细胞、记忆T(Tmem)细胞和自然杀伤(NK)细胞群体中的一种或多种的方法,所述方法包括:

使细胞与根据权利要求1至53中任一项所述的IL-15缀合物接触;其中

所述IL-15缀合物与IL-15R β 和IL-15R γ 亚基相互作用以形成IL-15/IL-15R β γ 复合物,其中所述IL-15/IL-15R β γ 复合物刺激Teff、Tmem和NK细胞中的一种或多种的扩增。

60. 根据权利要求59所述的方法,其中所述IL-15缀合物具有降低的对IL-15R α 亚基的亲合力,任选地其中相对于野生型人IL-15所述亲合力降低。

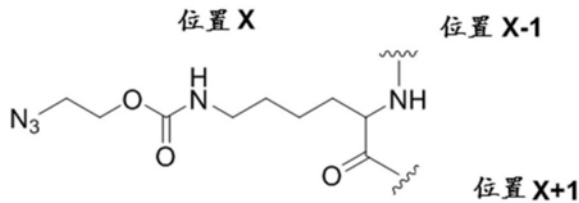
61. 根据权利要求59或60所述的方法,其中所述细胞是人细胞。

62. 根据权利要求59-61中任一项所述的方法,所述方法是体外方法。

63. 一种药物组合物,所述药物组合物包含有效量的根据权利要求1至53中任一项所述的IL-15缀合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

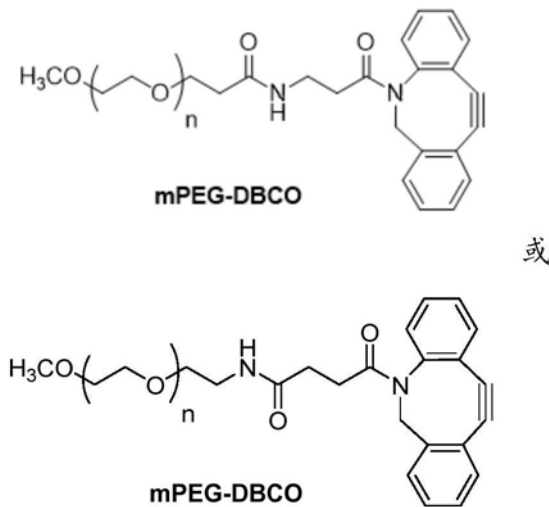
64. 一种制备IL-15缀合物的方法,所述方法包括:

使IL-15多肽与mPEG-DBCO反应,所述IL-15多肽包含下式的非天然氨基酸:



其中所述IL-15多肽包含SEQ ID NO:1或3的氨基酸序列,其中所述IL-15多肽中的至少一个氨基酸残基被非天然氨基酸替代,位置X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点,位置X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点,并且位置X表示所述非天然氨基酸所取代的氨基酸的位置,

所述mPEG-DBCO具有式



其中n使得所述mPEG-DBCO包含具有约5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa或50kDa的分子量的PEG,

从而产生所述IL-15缀合物。

65. 根据权利要求64所述的方法,其中参考SEQ ID NO:1内的氨基酸位置,位置X是S18、L25、E46、E53、N77或S83。

66. 根据权利要求64或65所述的方法,其中所述IL-15多肽包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,其中所述IL-15多肽中的至少一个氨基酸残基被所述非天然氨基酸替代。

67. 根据权利要求64所述的方法,其中参考SEQ ID NO:3内的氨基酸位置,位置X是S19、L26、E47、E54、N78或S84。

68. 根据权利要求64或67所述的方法,其中所述IL-15多肽包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,其中所述IL-15多肽中的至少一个氨基酸残基被所述非天然氨基酸替代。

69. 根据权利要求64-68中任一项所述的方法,其中所述PEG具有约30kDa的分子量。

70. 根据权利要求64-68中任一项所述的方法,其中所述PEG具有约40kDa的分子量。

71. 根据权利要求64所述的方法,其中所述IL-15缀合物是根据权利要求1-53中任一项所述的IL-15缀合物。

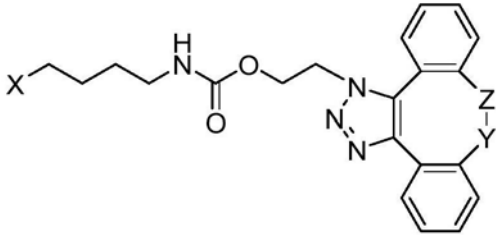
IL-15缀合物及其用途

[0001] 本申请要求2019年8月23日提交的美国临时申请号62/890,741、2019年11月6日提交的美国临时申请号62/931,663和2020年1月7日提交的美国临时申请号62/958,177的优先权权益,出于所有目的将其每一个的内容通过引用以其整体并入本文。

引言和发明内容

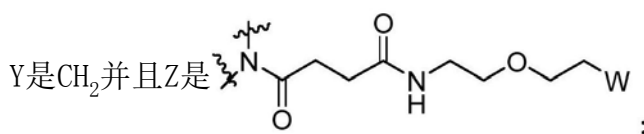
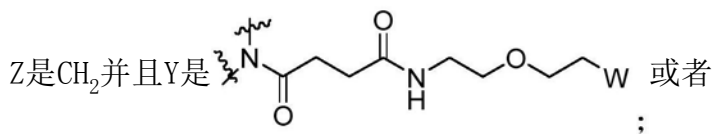
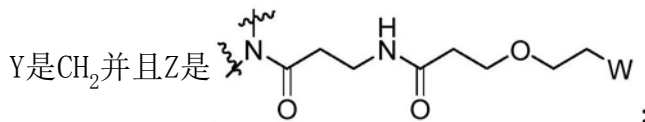
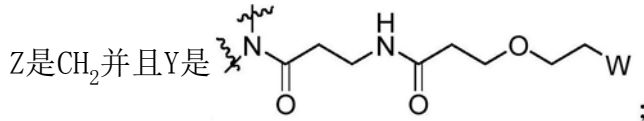
[0002] 不同的T细胞群调节免疫系统以维持免疫稳态和耐受性。例如,调节性T(Treg)细胞通过防止病理性自身反应性来防止免疫系统的不适当应答,而细胞毒性T细胞靶向并破坏感染的细胞和/或癌细胞。在一些实施方案中,不同T细胞群的调节为疾病或适应症的治疗提供选择。

[0003] 本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构替代:



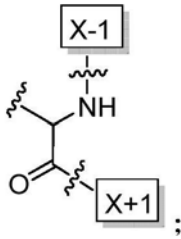
式(I);

其中:



W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

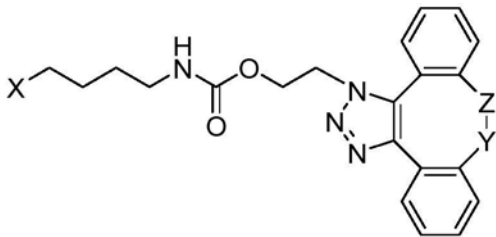


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

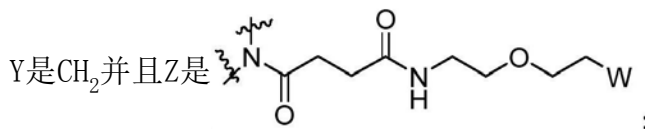
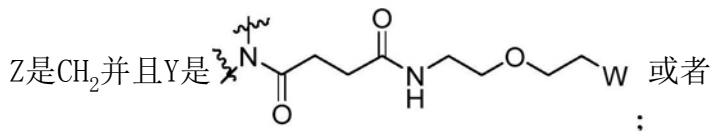
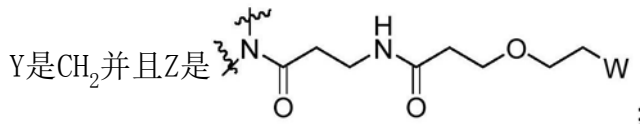
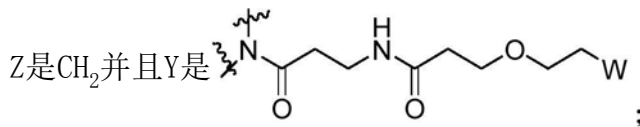
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

[0004] 本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构替代:



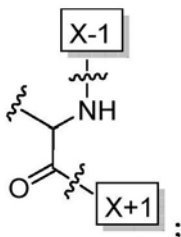
式(I);

其中:



W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

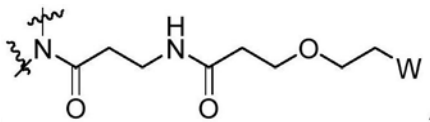
X具有以下结构:

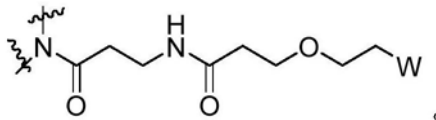


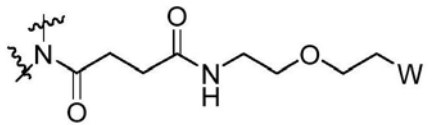
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

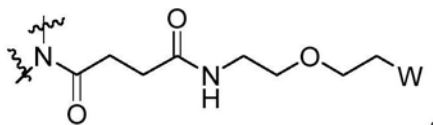
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,Z是CH₂并且Y是  在一些实施方案中,Y是

CH₂并且Z是  在一些实施方案中,Z是CH₂并且Y是

 在一些实施方案中,Y是CH₂并且Z是

 在这里和自始至终,Z和Y的实施方案还包括其药学上可接

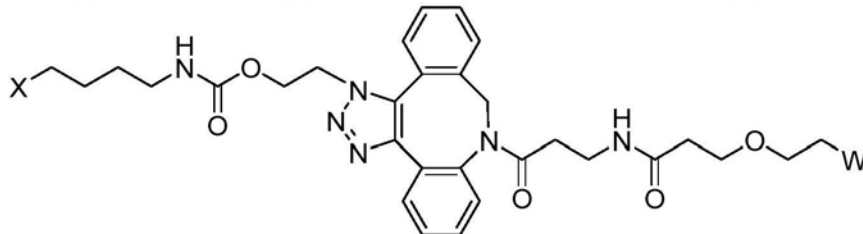
受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述PEG基团具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有5kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有10kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有15kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有20kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有25kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有30kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有35kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有40kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有45kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有50kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有55kDa的平均分子量。在一些实施方案中,所述PEG基团具有60kDa的平均分子量。

[0005] 在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。

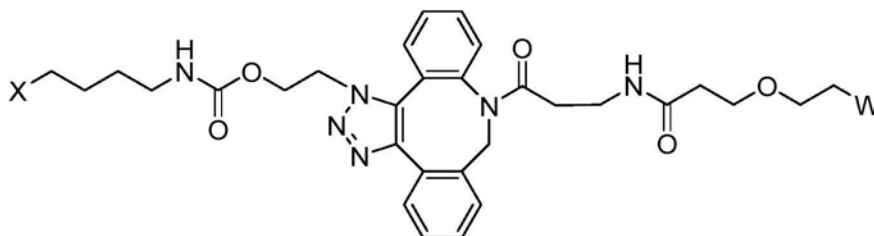
[0006] 在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L26、E54和N78。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S19。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。在一

些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。在一些实施方案中,式(I)的结构在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S84。

[0007] 本文描述了包含SEQ ID NO:16-21中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)的结构,或者式(II)与式(III)的混合物:



式 (II);

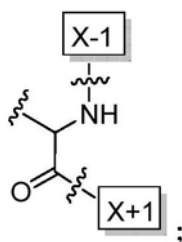


式 (III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

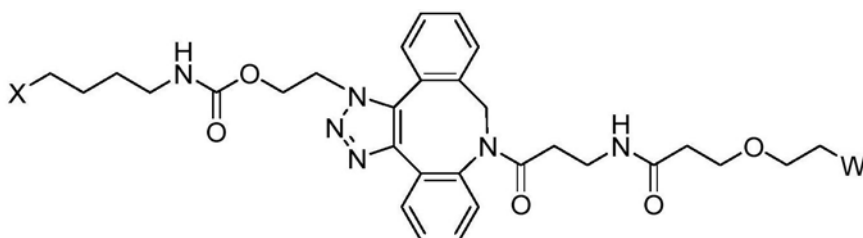
X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

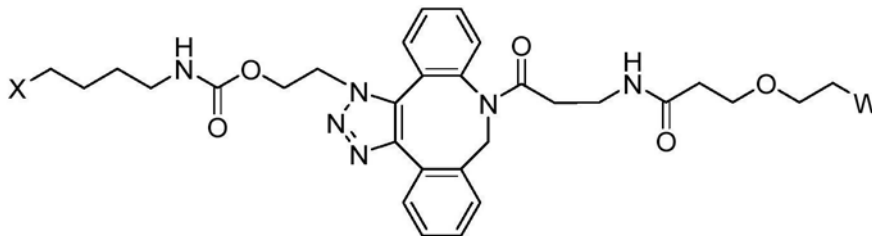
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

[0008] 在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的混合物。在一些实施方案中,所述[AzK_PEG]具有式(II)的结构:



式(II)。在这里和自始至终,式(II)的结构包括其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

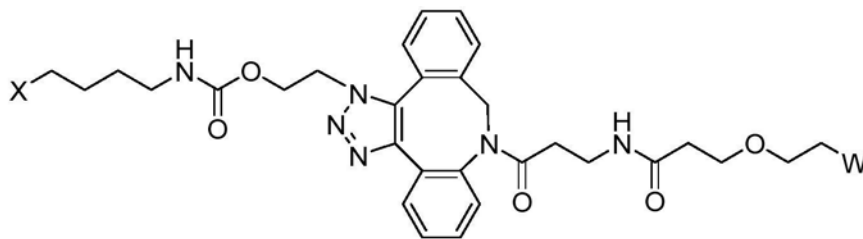
[0009] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG]具有式(III)的结构



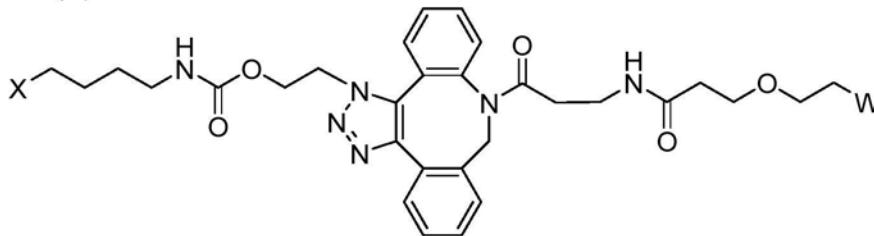
式(III)。在这里和自始至终,式(III)的结构包括其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

[0010] 本文描述了包含SEQ ID NO:16-21中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);



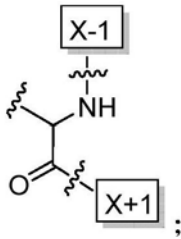
式 (III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa

和60kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：

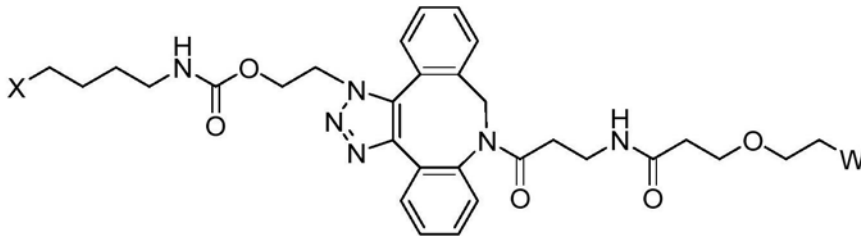


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

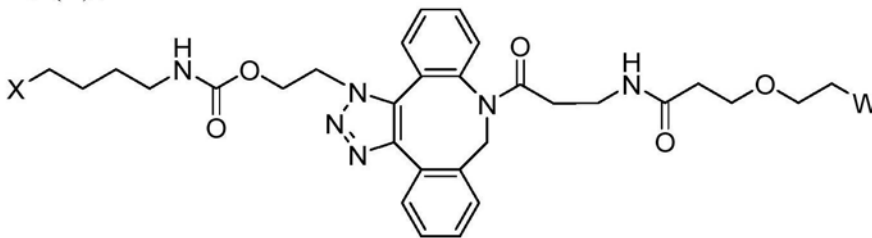
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中，所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中，W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中，W是线性PEG基团。在一些实施方案中，W是分支PEG基团。在一些实施方案中，W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0011] 本文描述了包含SEQ ID NO:22-27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构，或者式(II)与式(III)的混合物：



式 (II)；

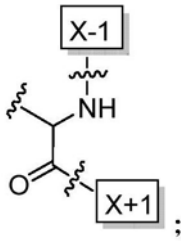


式 (III)；

其中：

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：

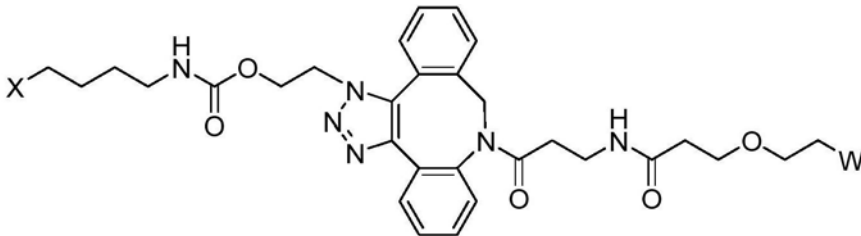


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

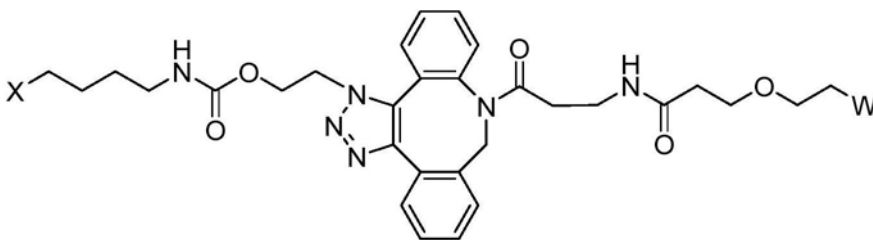
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0012] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG30]具有式(II)的结构



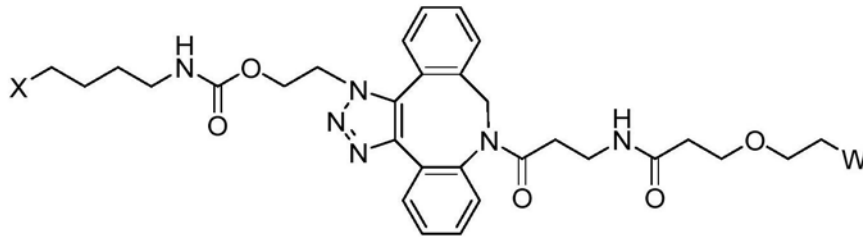
式(II)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0013] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG30]具有式(III)的结构

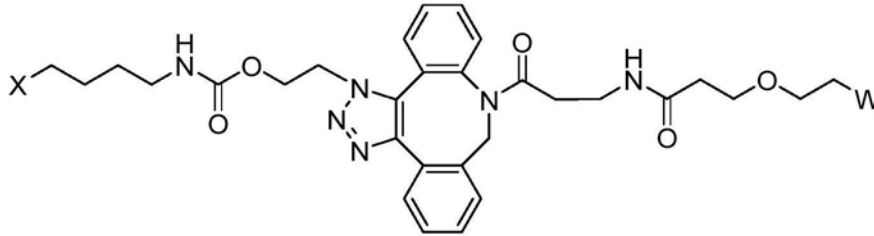


式(III)。在这里和自始至终,式(III)的结构包括其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0014] 本文描述了包含SEQ ID NO:22至27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG30]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);

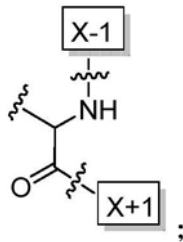


式 (III);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

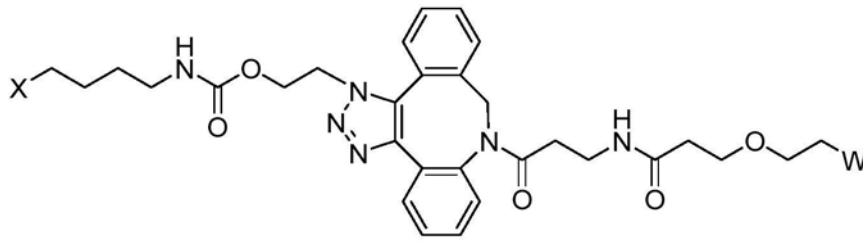
X具有以下结构:



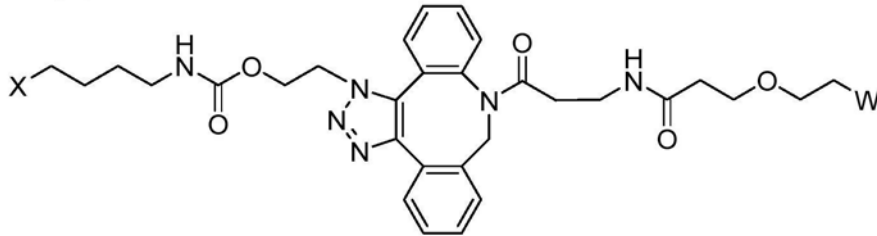
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0015] 本文描述了包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式(II)或式(III)的结构,或者是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);

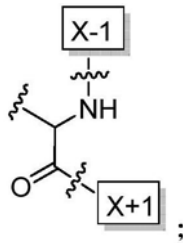


式 (III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在一些实施方案

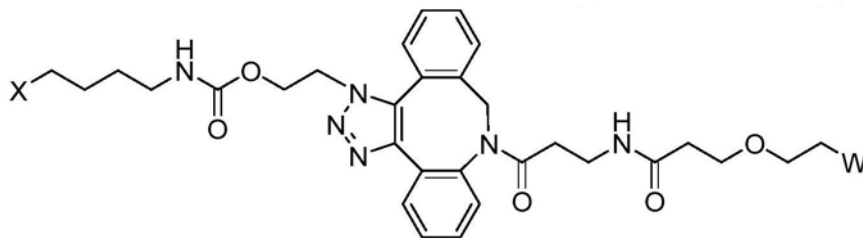
中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合

物具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:

31的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

[0016] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG40]具有式(II)的结构:



式 (II)。

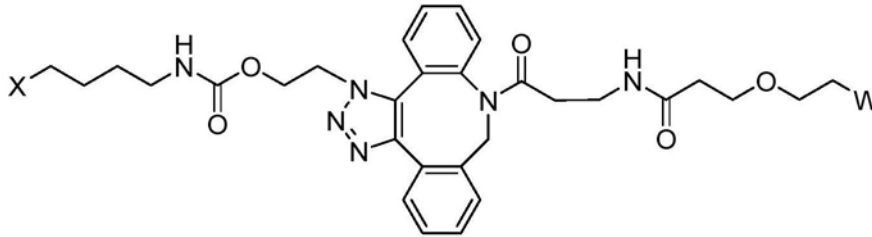
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在一些实

施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-

15缀合物具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ

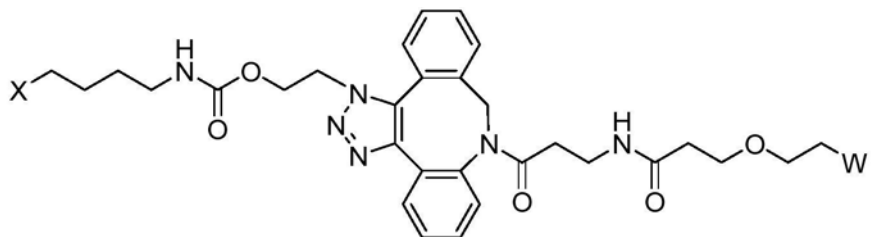
ID NO:31的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

[0017] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG40]具有式(III)的结构

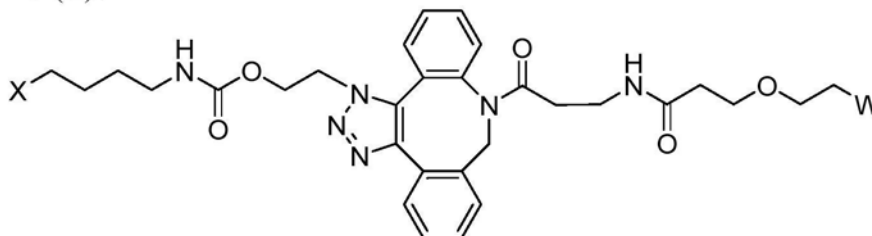


式(III)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

[0018] 本文描述了包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式(II);

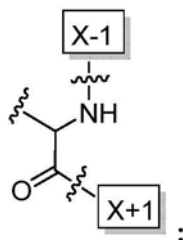


式(III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



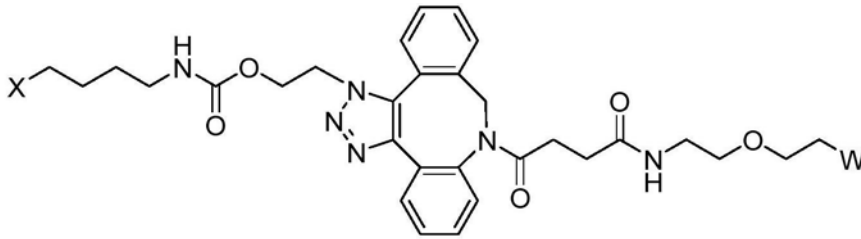
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

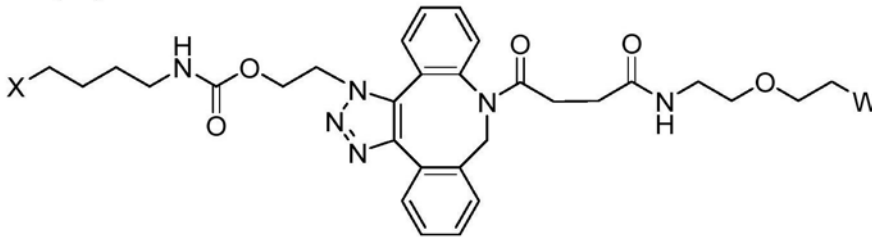
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构量与式(III)的结构量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构量与式(III)的结构量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构量与式(III)的结构量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0019] 本文描述了包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式(IV);

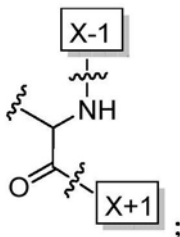


式(V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



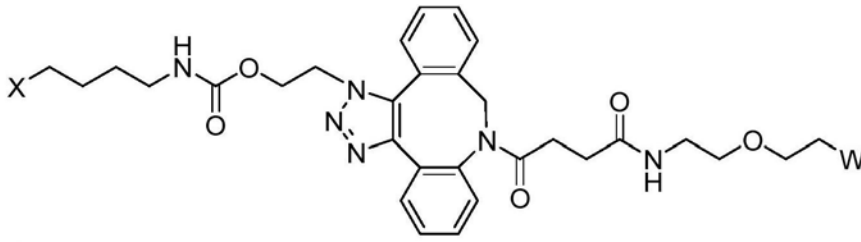
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的混合物。

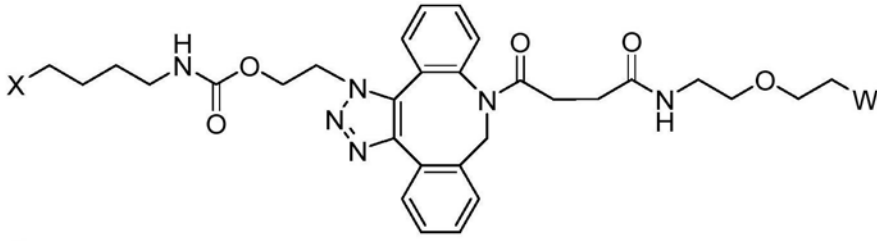
[0020] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG]具有式(IV)的结构:



式 (IV)。

在这里和自始至终,式 (IV) 的结构包括其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述 IL-15 缀合物具有 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列。在一些实施方案中,W 是具有选自 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa 和 45kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有选自 30kDa 和 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 30kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,所述 IL-15 缀合物具有 SEQ ID NO:35 的氨基酸序列。在一些实施方案中,W 是具有选自 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa 和 45kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有选自 30kDa 和 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 30kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,所述 IL-15 缀合物具有 SEQ ID NO:36 的氨基酸序列。在一些实施方案中,W 是具有选自 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa 和 45kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有选自 30kDa 和 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 30kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,所述 IL-15 缀合物具有 SEQ ID NO:37 的氨基酸序列。在一些实施方案中,W 是具有选自 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa 和 45kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有选自 30kDa 和 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 30kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,所述 IL-15 缀合物具有 SEQ ID NO:38 的氨基酸序列。在一些实施方案中,W 是具有选自 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa 和 45kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有选自 30kDa 和 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 30kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,所述 IL-15 缀合物具有 SEQ ID NO:39 的氨基酸序列。在一些实施方案中,W 是具有选自 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa 和 45kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有选自 30kDa 和 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 30kDa 的平均分子量的 PEG 基团。在一些实施方案中,W 是具有 40kDa 的平均分子量的 PEG 基团。

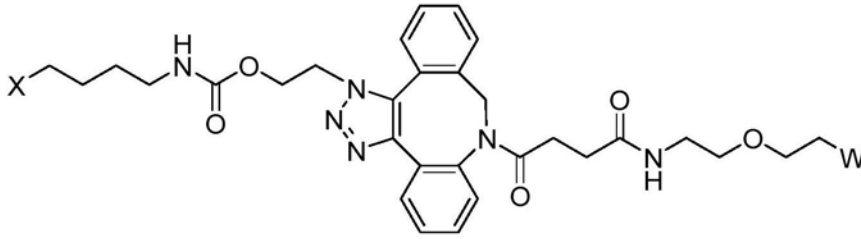
[0021] 在一些实施方案中,所述 [AzK_L1_PEG] 具有式 (V) 的结构



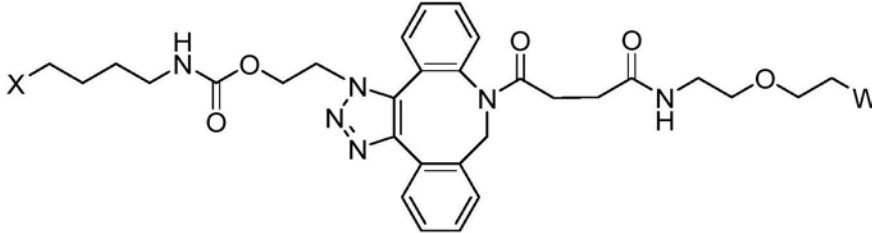
式 (V)。

在这里和自始至终,式(V)的结构包括其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

[0022] 本文描述了包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[Azk_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

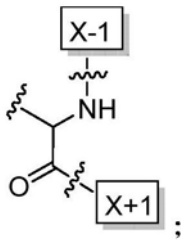


式 (V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



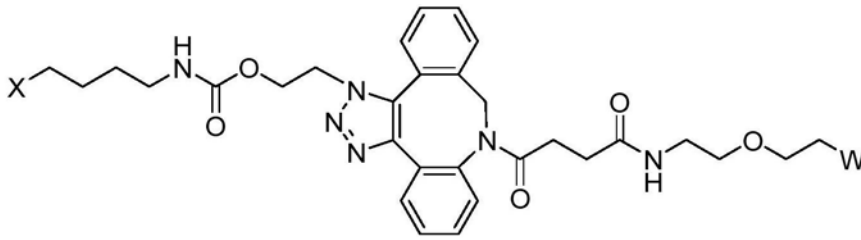
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

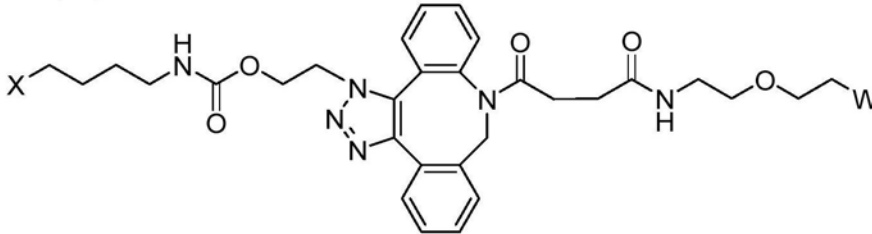
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构的量与式(V)的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构的量与式(V)的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构的量与式(V)的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0023] 本文描述了包含SEQ ID NO:40-45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式 (IV);

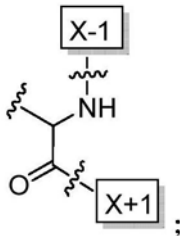


式 (V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

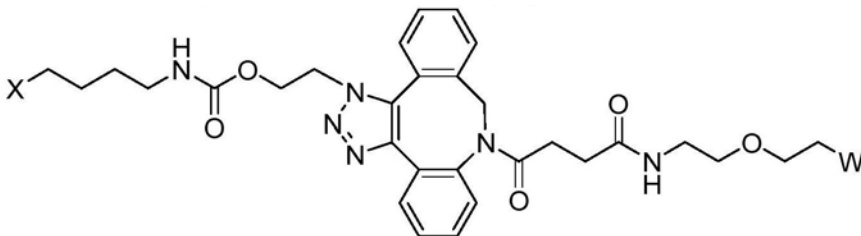


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

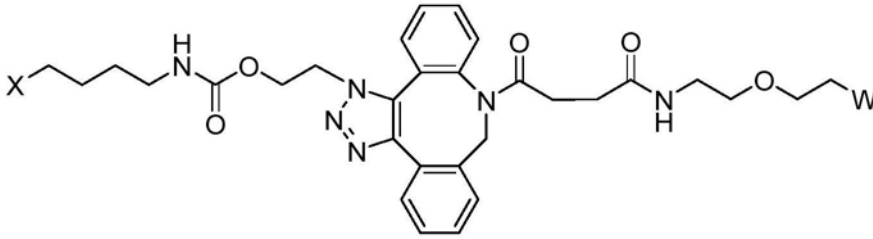
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)的结构



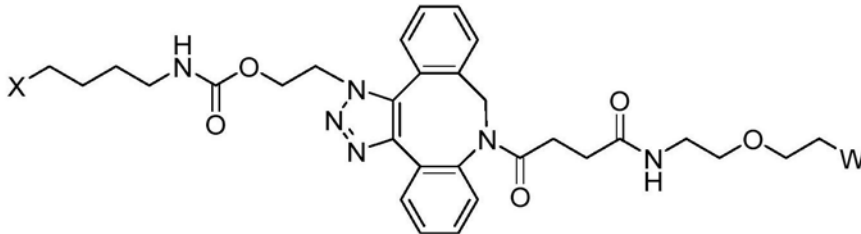
式(IV)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:

44的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG30]具有式(V)的结构

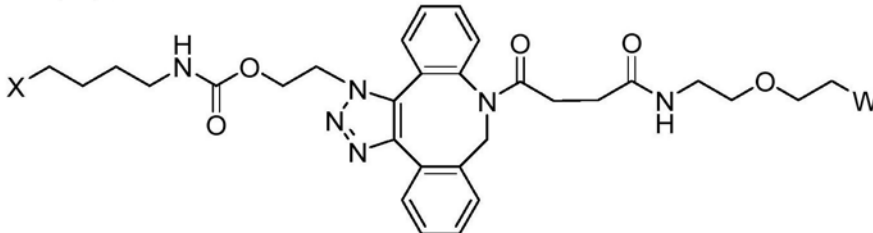


式(V)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

[0024] 本文描述了包含SEQ ID NO:40至45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式(IV);

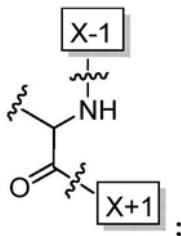


式(V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



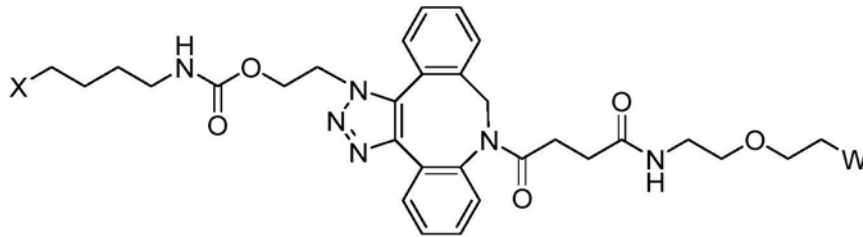
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

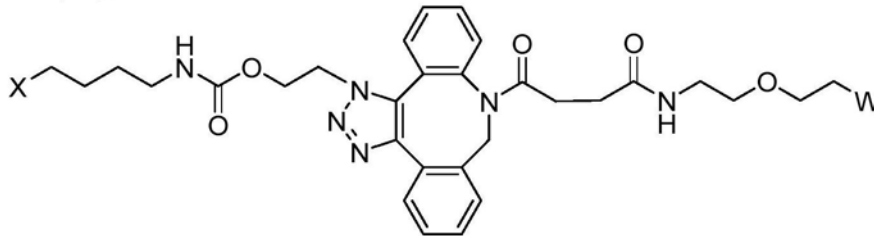
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构的

量与式 (V) 的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式 (IV) 的结构的量与式 (V) 的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式 (IV) 的结构的量与式 (V) 的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0025] 本文描述了包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]具有式 (IV) 或式 (V) 的结构,或者是式 (IV) 与式 (V) 的结构的混合物:



式 (IV);

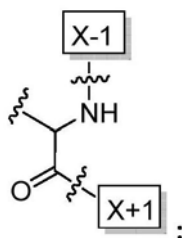


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

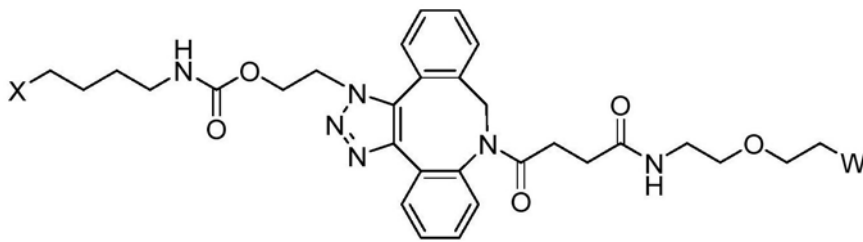


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

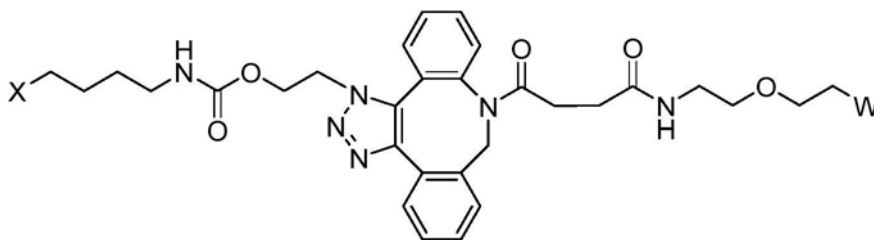
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

[0026] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG40]具有式 (IV) 的结构:



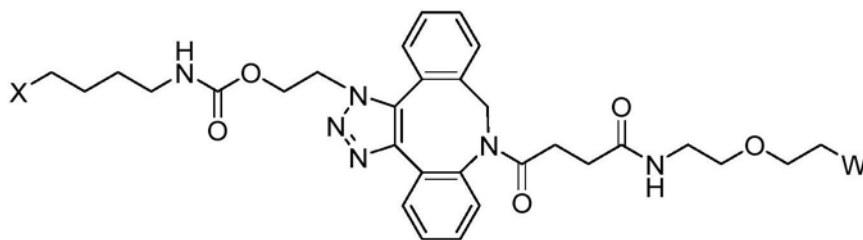
式(IV)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

[0027] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG40]具有式(V)的结构

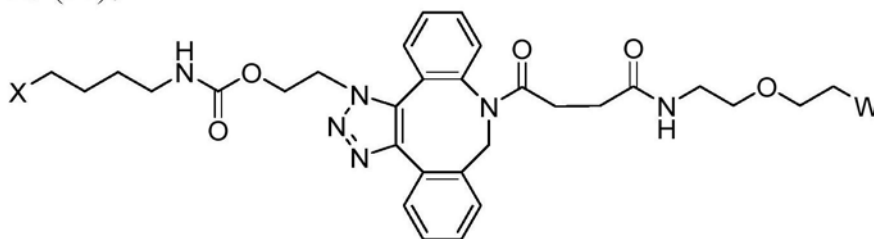


式(V)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

[0028] 本文描述了包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式(IV);

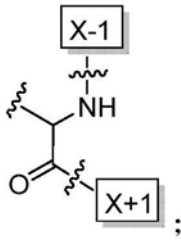


式(V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



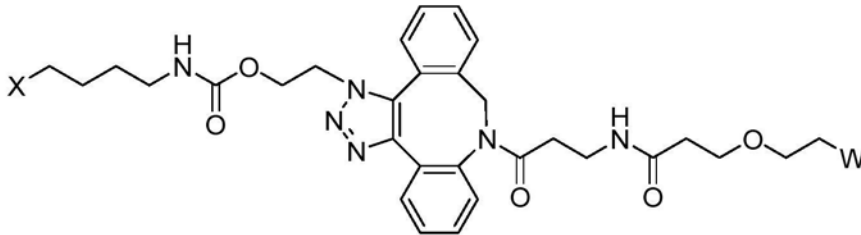
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

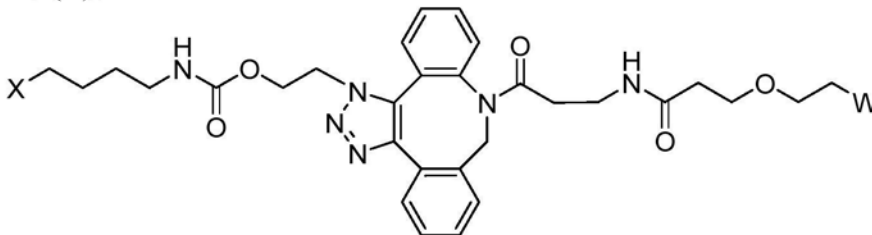
在一些实施方案中，所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率为约1:1。在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率大于1:1。在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率小于1:1。在一些实施方案中，W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中，W是线性PEG基团。在一些实施方案中，W是分支PEG基团。在一些实施方案中，W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0029] 本文描述了包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)的结构，或者式(II)与式(III)的混合物：



式 (II)；

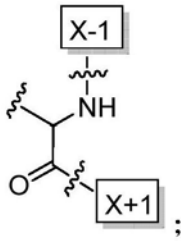


式 (III)；

其中：

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



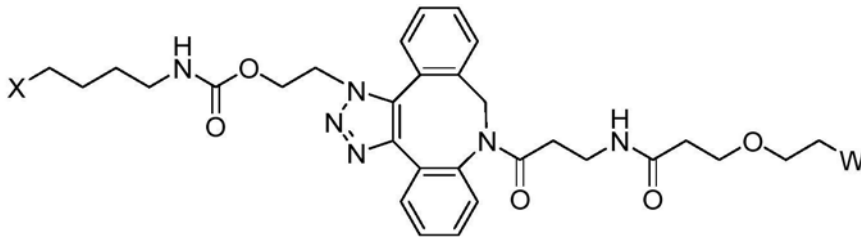
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中，所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中，所述[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的混合物。

[0030] 在一些实施方案中，所述[AzK_PEG]具有式(II)的结构：

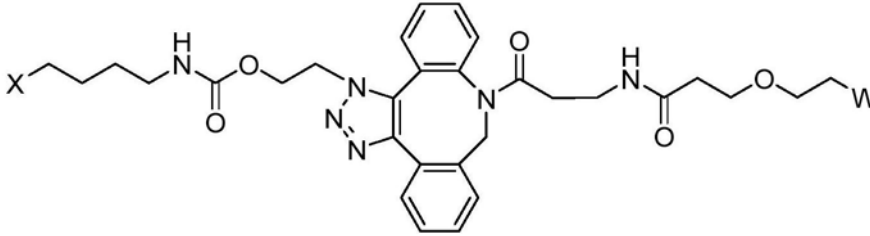


式(II)。

在一些实施方案中，所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列。在一些实施方案中，W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列。在一些实施方案中，W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列。在一些实施方案中，W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列。在一些实施方案中，W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列。在一些实施方案中，W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，所述

IL-15缀合物具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

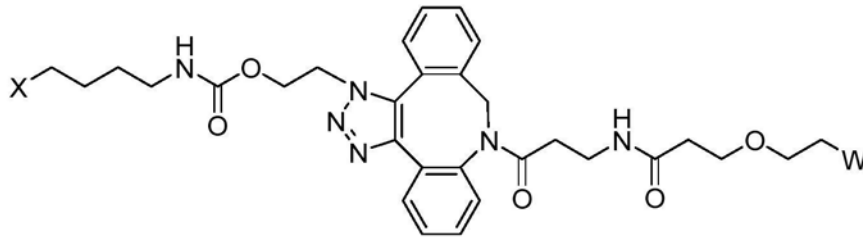
[0031] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG]具有式(III)的结构



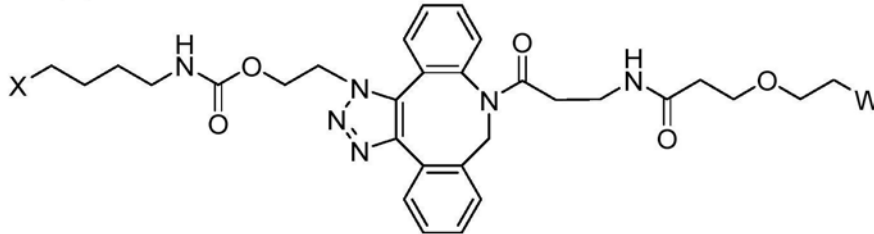
式(III)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

[0032] 本文描述了包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中

[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式(II);

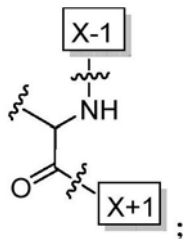


式(III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



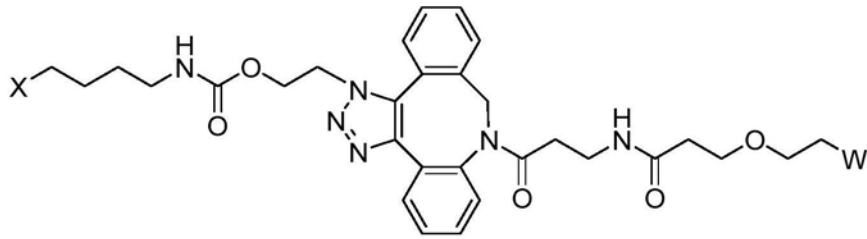
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

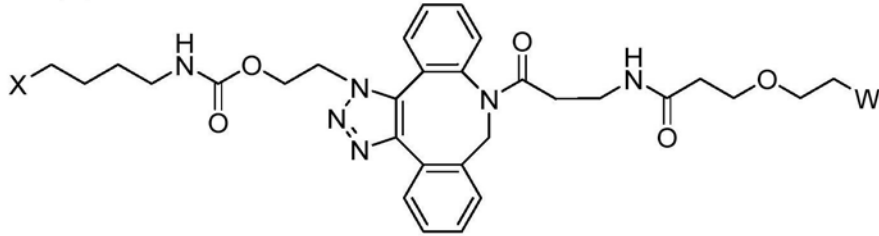
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(IV)的结构的量与式(V)的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0033] 本文描述了包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构,或者式(II)与式(III)的混合物:



式 (II);

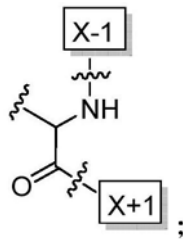


式 (III);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



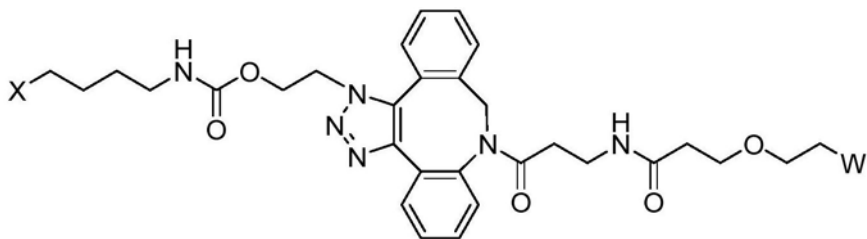
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列。

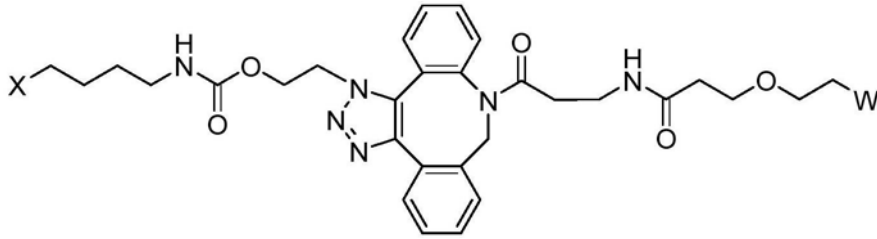
[0034] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG30]具有式 (II) 的结构



式 (II)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:

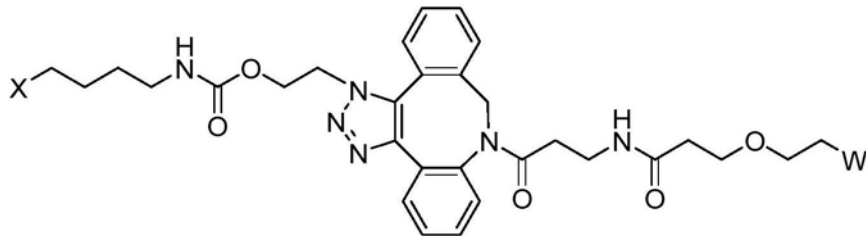
74的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列。

[0035] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG30]具有式(III)的结构

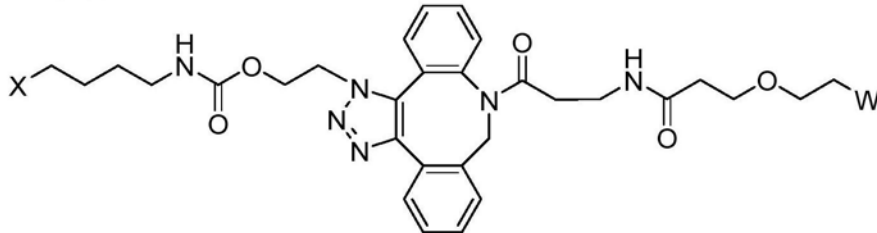


式(III)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列。

[0036] 本文描述了包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG30]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式(II);

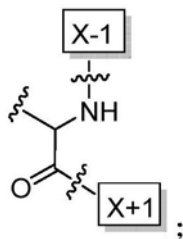


式(III);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



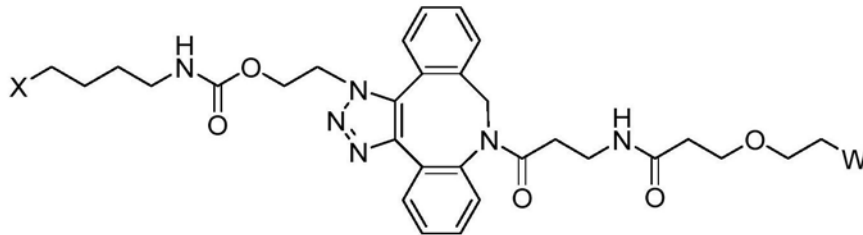
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

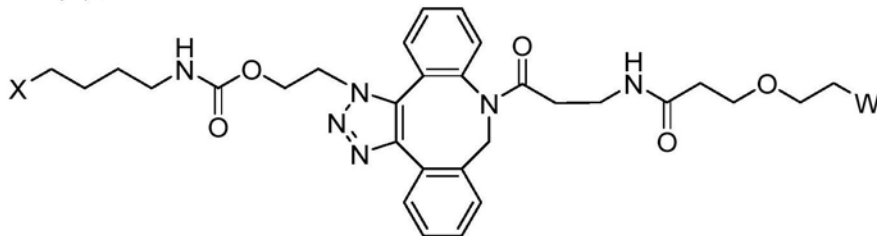
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构的量与

式 (III) 的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式 (II) 的结构的量与式 (III) 的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式 (II) 的结构的量与式 (III) 的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0037] 本文描述了包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式 (II) 或式 (III) 的结构,或者是式 (II) 与式 (III) 的结构的混合物:



式 (II);

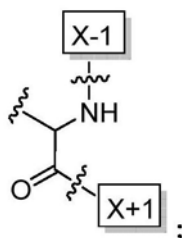


式 (III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

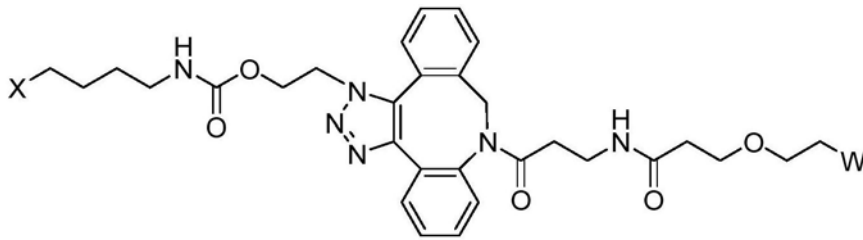


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

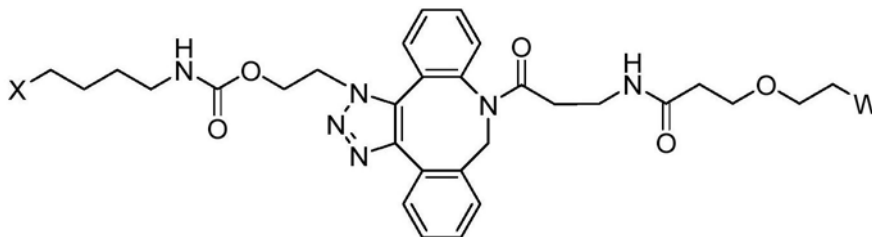
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

[0038] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG40]具有式 (II) 的结构:



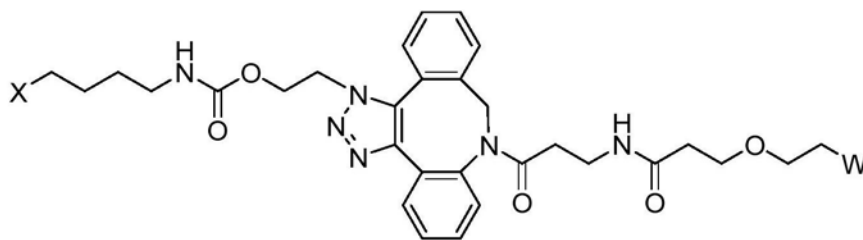
式(II)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

[0039] 在一些实施方案中,所述[AzK_PEG40]具有式(III)的结构

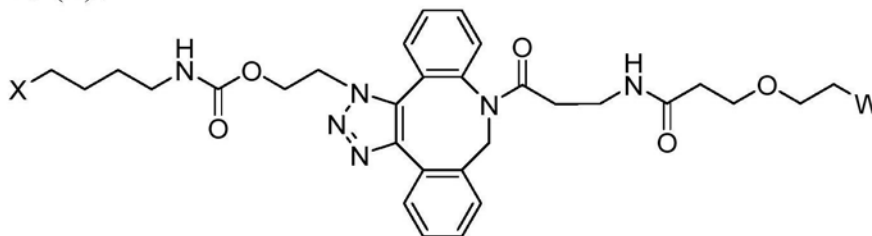


式(III)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

[0040] 本文描述了包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式(II);

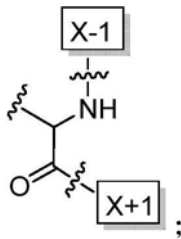


式(III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



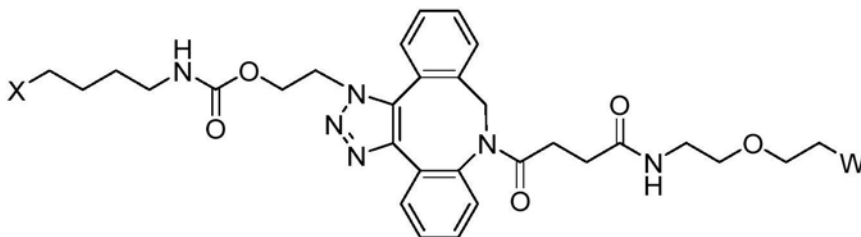
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

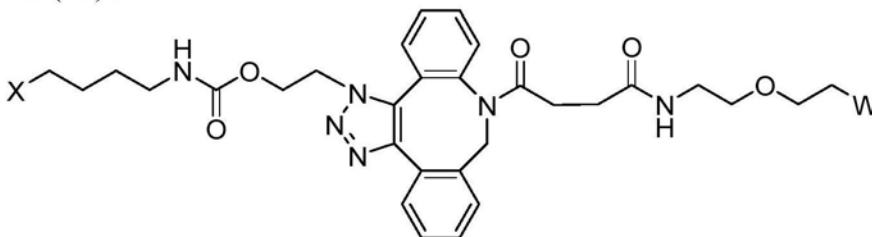
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0041] 本文描述了包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式(IV);



式(V);

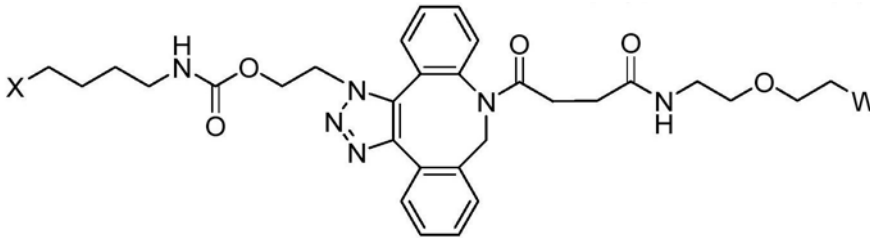
其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

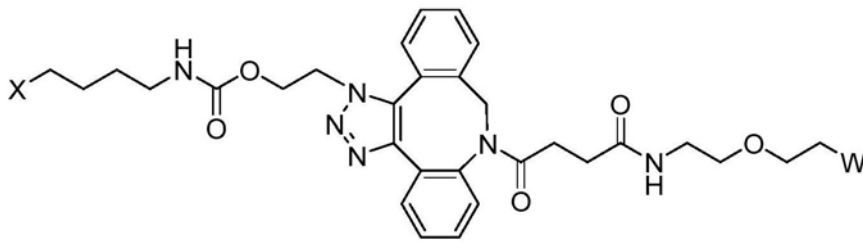
IL-15缀合物具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

[0043] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG]具有式(V)的结构

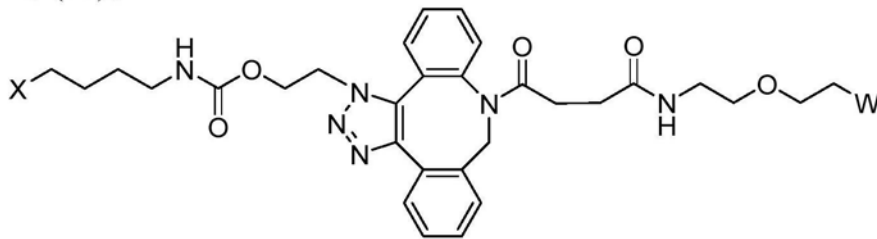


式(V)。在这里和自始至终,式(V)的结构包括其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:83的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:84的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列。在一些实施方案中,W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中,W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

[0044] 本文描述了包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[Azk_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

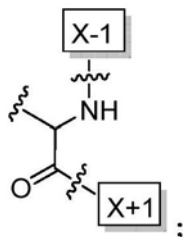


式 (V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

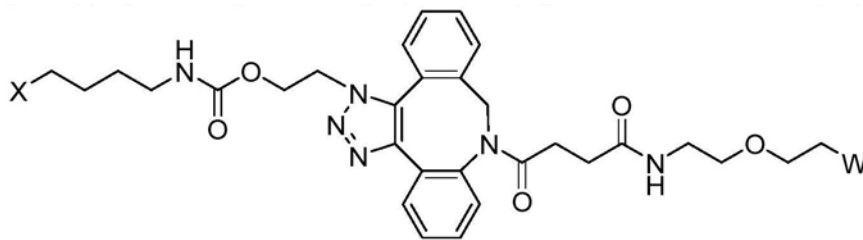


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

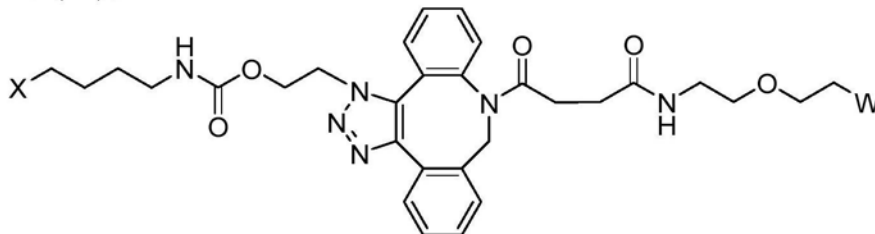
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构的量与式(V)的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构的量与式(V)的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构的量与式(V)的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0045] 本文描述了包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式 (IV);

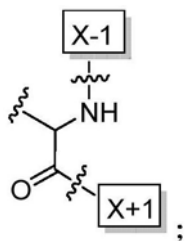


式 (V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列。在一些实施方案

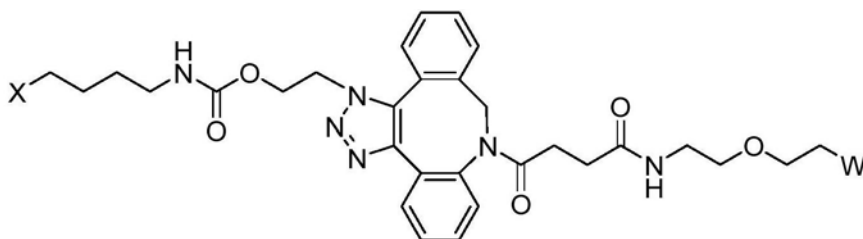
中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合

物具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:

91的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。

[0046] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)的结构



式(IV)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列。

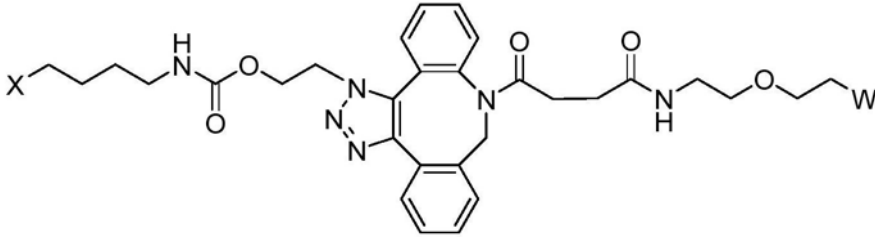
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。在一些实施方案

中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合

物具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:

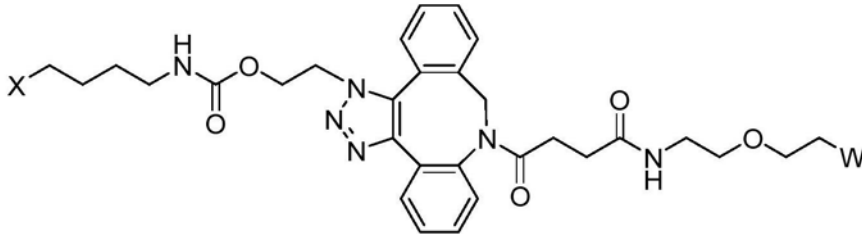
92的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。

[0047] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG30]具有式(V)的结构

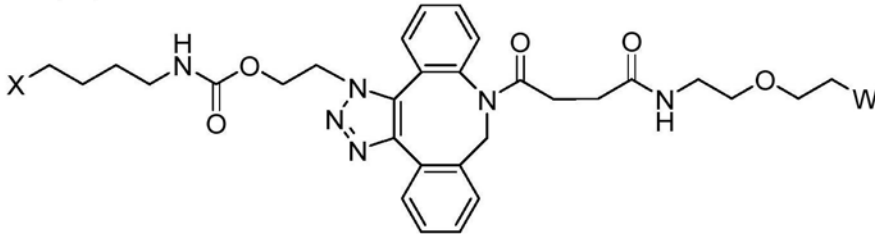


式(V)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。

[0048] 本文描述了包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式(IV);

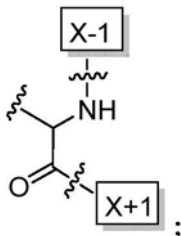


式(V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

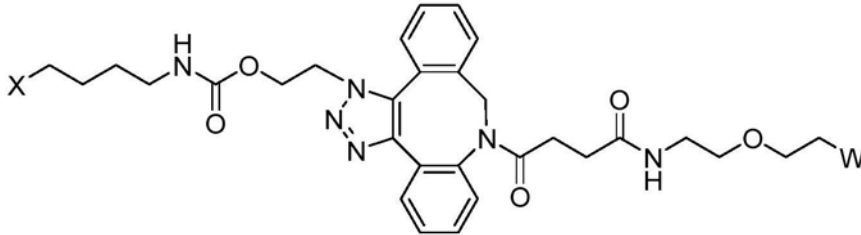
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

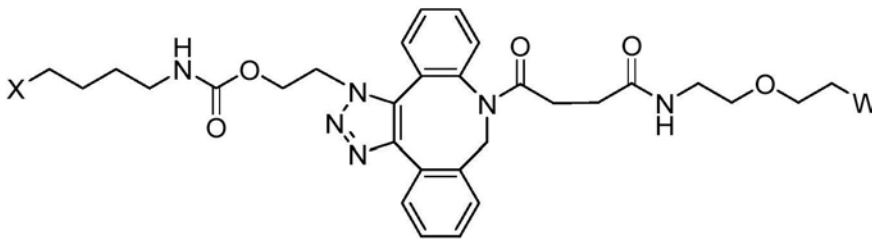
在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构的

量与式 (V) 的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式 (IV) 的结构的量与式 (V) 的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中,在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式 (IV) 的结构的量与式 (V) 的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中,W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,W是线性PEG基团。在一些实施方案中,W是分支PEG基团。在一些实施方案中,W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中,所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0049] 本文描述了包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]具有式 (IV) 或式 (V) 的结构,或者是式 (IV) 与式 (V) 的结构的混合物:



式 (IV);

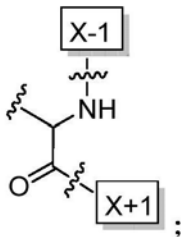


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



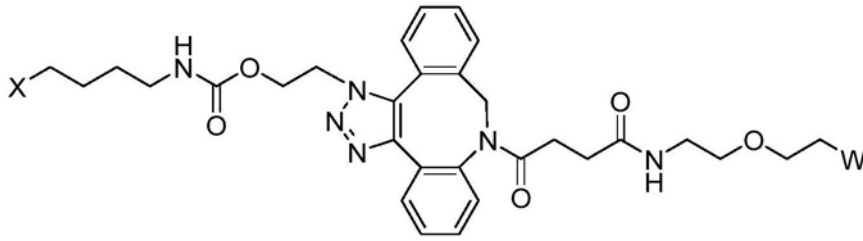
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

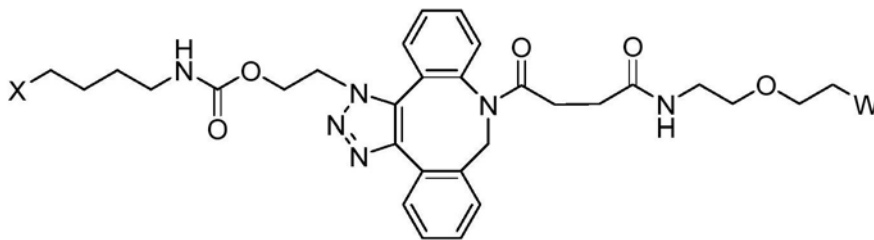
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列。

[0050] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG40]具有式 (IV) 的结构:



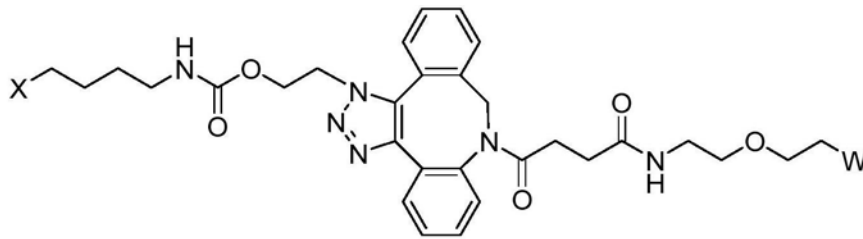
式 (IV)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列。

[0051] 在一些实施方案中,所述[AzK_L1_PEG40]具有式 (V) 的结构

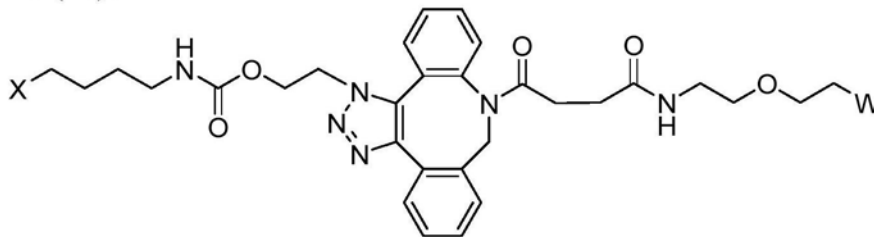


式 (V)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列。

[0052] 本文描述了包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]是式 (IV) 与式 (V) 的结构的混合物:



式 (IV);

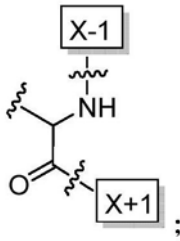


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



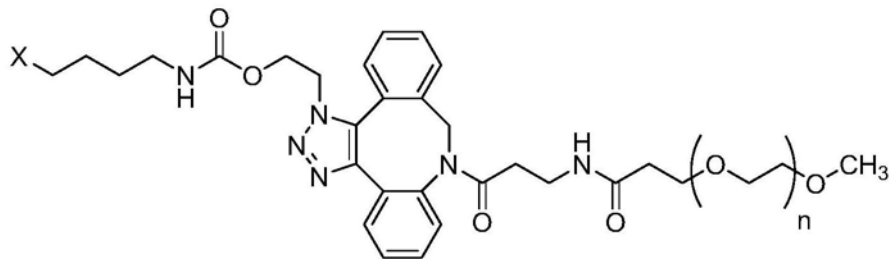
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

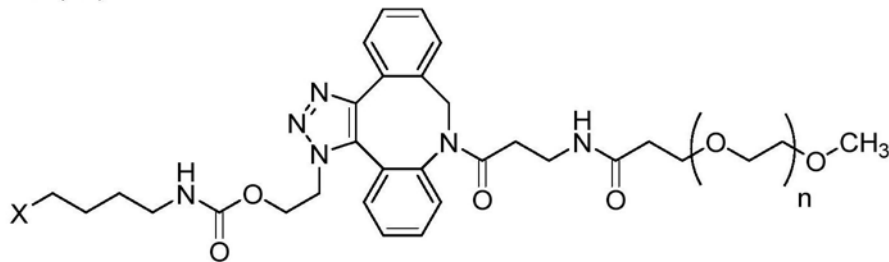
在一些实施方案中，所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率为约1:1。在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率大于1:1。在一些实施方案中，在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率小于1:1。在一些实施方案中，W是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中，W是线性PEG基团。在一些实施方案中，W是分支PEG基团。在一些实施方案中，W是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是线性的。在一些实施方案中，所述甲氧基PEG基团是分支的。

[0053] 本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物替代：



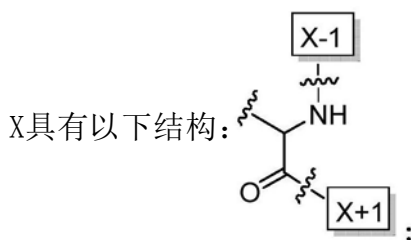
式(VI)；



(VII)；

其中：

n是在从约2至约5000范围内的整数；并且

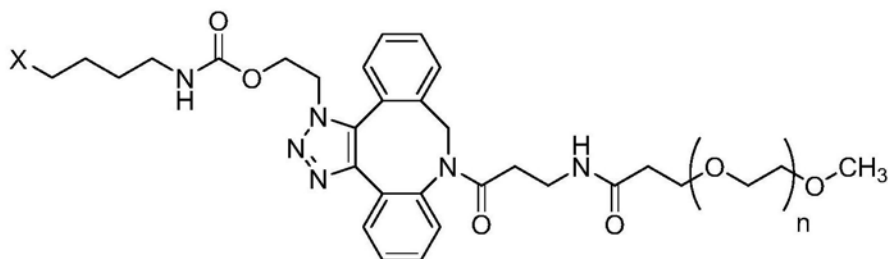


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

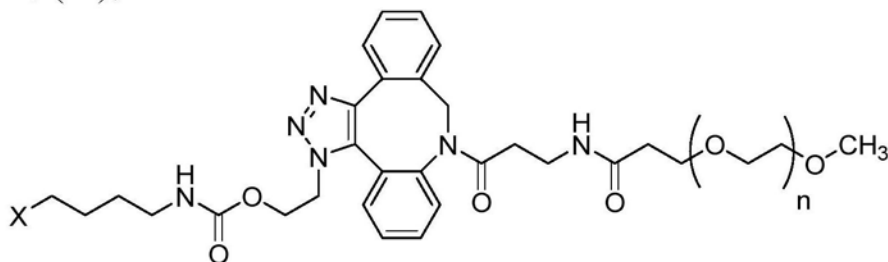
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。在一些实施方案中,式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。在一些实施方案中,n是约75至约1000。在一些实施方案中,n是约100至约1000。在一些实施方案中,n是约200至约5000。在一些实施方案中,n是约500至约1000。在一些实施方案中,n是约400至约800。在本文所述的一些实施方案中,n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在一些实施方案中,n是选自454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910的整数。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约795。在一些实施方案中,n是约909。在一些实施方案中,n是约1022。在一些实施方案中,n是约1136。

[0054] 本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物替代:



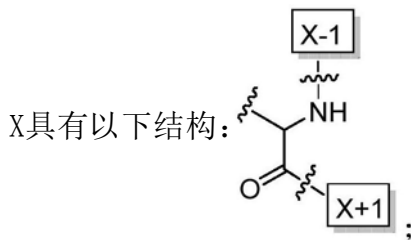
式 (VI);



(VII);

其中：

n是在从约2至约5000范围内的整数；并且



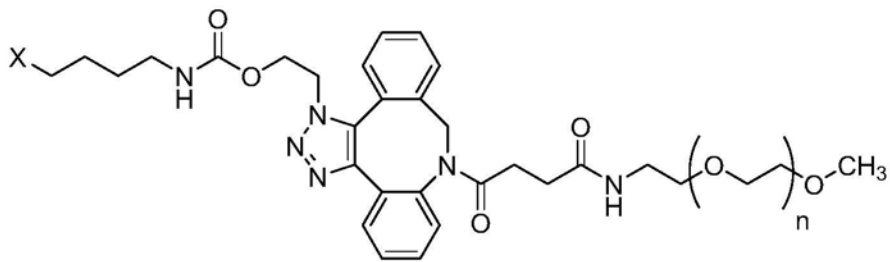
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

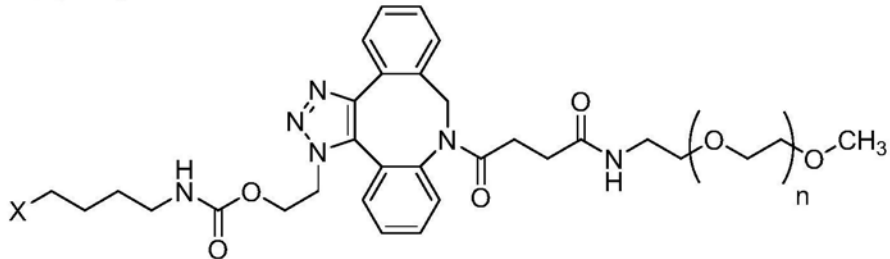
在一些实施方案中，所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L26、E54和N78。在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S19。在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。在一些实施方案中，式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S84。在一些实施方案中，n是约75至约1000。在一些实施方案中，n是约100至约1000。在一些实施方案中，n是约200至约5000。在一些实施方案中，n是约500至约1000。在一些实施方案中，n是约400至约800。在本文所述的一些实施方案中，n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在一些实施方案中，n是选自454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910的整数。在一些实施方案中，n是从约500至约1000。在一些实施方案中，n是从约550至约800。在一些实施方案中，n是约681。在一些实施方案中，n是约795。在一些实施方案中，n是约909。在一些实施方案中，n是约1022。在一些实施方案中，n是约1136。

[0055] 本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物替代：

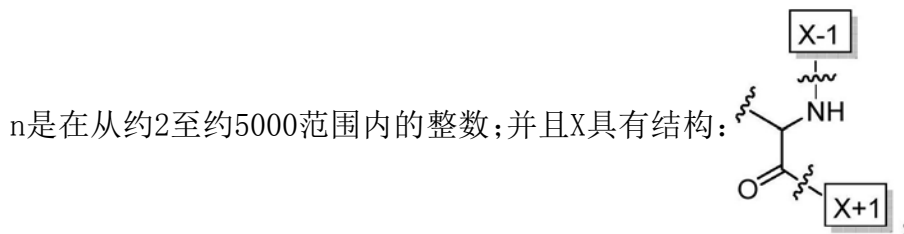


式 (VIII);



式 (IX);

其中:



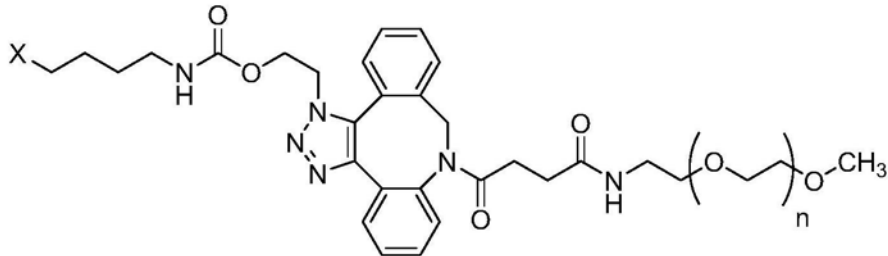
$X-1$ 表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

$X+1$ 表示与后一个氨基酸残基的附接点。

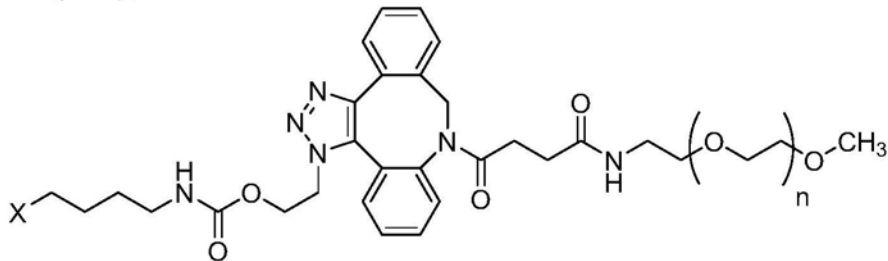
在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。在一些实施方案中,式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。在一些实施方案中, n 是约75至约1000。在一些实施方案中, n 是约100至约1000。在一些实施方案中, n 是约200至约5000。在一些实施方案中, n 是约500至约1000。在一些实施方案中, n 是约400至约800。在本文所述的一些实施方案中, n 是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或

从约568至约909的整数。在一些实施方案中，n是选自454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910的整数。在一些实施方案中，n是从约500至约1000。在一些实施方案中，n是从约550至约800。在一些实施方案中，n是约681。在一些实施方案中，n是约795。在一些实施方案中，n是约909。在一些实施方案中，n是约1022。在一些实施方案中，n是约1136。

[0056] 本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物替代：



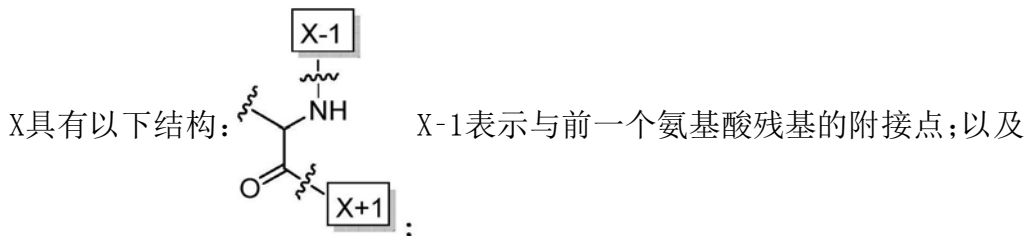
式 (VIII)；



式 (IX)；

其中：

n是在从约2至约5000范围内的整数；并且

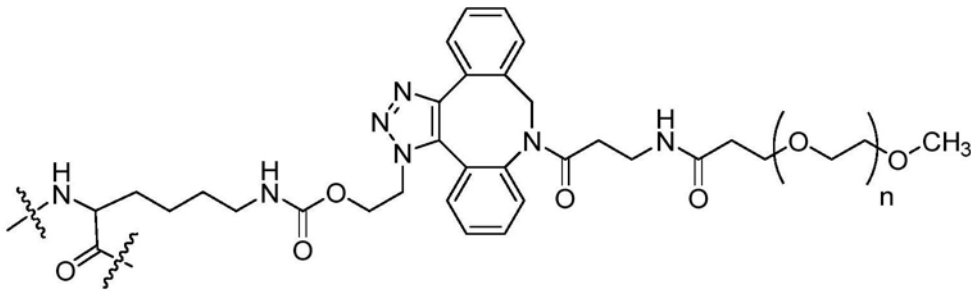


X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

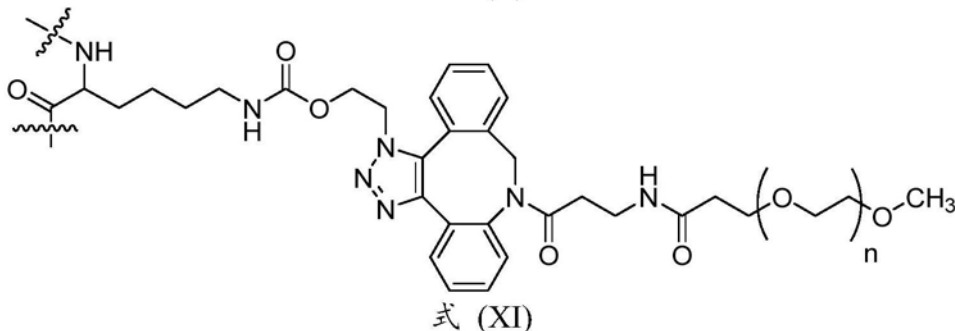
在一些实施方案中，所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中，式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。在一些实施方案中，式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L26、E54和N78。在一些实施方案中，式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S19。在一些实施方案中，式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。在一些实施方案中，式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。在一些实施方案中，式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。在一些实施方案中，式(VIII)或

(IX) 的结构或者 (VIII) 与 (IX) 的混合物在包含 SEQ ID NO:3 的 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 N78。在一些实施方案中,式 (VIII) 或 (IX) 的结构或者 (VIII) 与 (IX) 的混合物在包含 SEQ ID NO:3 的 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 S84。在一些实施方案中,n 是约 75 至约 1000。在一些实施方案中,n 是约 100 至约 1000。在一些实施方案中,n 是约 200 至约 5000。在一些实施方案中,n 是约 500 至约 1000。在一些实施方案中,n 是约 400 至约 800。在本文所述的一些实施方案中,n 是从约 450 至约 800、或从约 454 至约 796、或从约 454 至约 682、或从约 568 至约 909 的整数。在一些实施方案中,n 是选自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 和 910 的整数。在一些实施方案中,n 是从约 500 至约 1000。在一些实施方案中,n 是从约 550 至约 800。在一些实施方案中,n 是约 681。在一些实施方案中,n 是约 795。在一些实施方案中,n 是约 909。在一些实施方案中,n 是约 1022。在一些实施方案中,n 是约 1136。

[0057] 本文描述了包含 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列的 IL-15 缀合物,其中所述 IL-15 缀合物中的至少一个氨基酸残基被式 (X) 或 (XI) 的结构或者 (X) 与 (XI) 的混合物替代:



式 (X)



式 (XI)

其中:

n 是在从约 2 至约 5000 范围内的整数; 并且

波浪线指示与 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:3 内未被替代的氨基酸残基的共价键。在一些实施方案中,所述 IL-15 缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

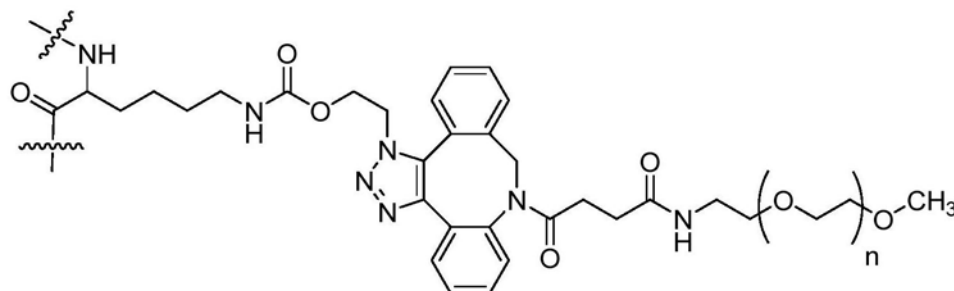
[0058] 在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学是外消旋的,是富含 (R) 的,是富含 (S) 的,基本上是 (R),基本上是 (S),是 (R) 或者是 (S)。在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学是外消旋的。在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学是富含 (R) 的。在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学是富含 (S) 的。在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学基本上是 (R)。在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学基本上是 (S)。在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学是 (R)。在一些实施方案中,式 (X) 和式 (XI) 内手性中心的立体化学是 (S)。

[0059] 在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。在一些实施方案中,n是约75至约1000。在一些实施方案中,n是约100至约1000。在一些实施方案中,n是约200至约5000。在一些实施方案中,n是约500至约1000。在一些实施方案中,n是约400至约800。在本文所述的一些实施方案中,n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在一些实施方案中,n是选自454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910的整数。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约795。在一些实施方案中,n是约909。在一些实施方案中,n是约1022。在一些实施方案中,n是约1136。

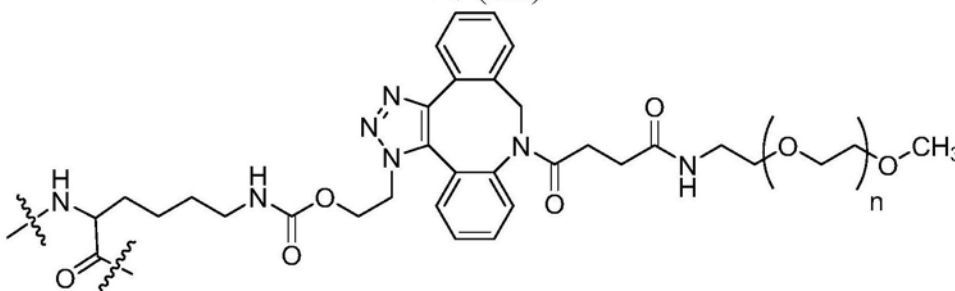
[0060] 在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L26、E54和N78。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S19。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。在一些实施方案中,式(X)或(XI)的结构或者(X)与(XI)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S84。在一些实施方案中,n是约75至约1000。在一些实施方案中,n是约100至约1000。在一些实施方案中,n是约200至约5000。在一些实施方案中,n是约500至约1000。在一些实施方案中,n是约400至约800。在本文所述的一些实施方案中,n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在一些实施方案中,n是选自454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910的整数。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约795。在一些实施方案中,n是约909。在一些实施方案中,n

是约1022。在一些实施方案中,n是约1136。

[0061] 本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物替代:



式 (XII)



式 (XIII)

其中:

n是在从约2至约5000范围内的整数;并且

波浪线指示与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3内未被替代的氨基酸残基的共价键。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

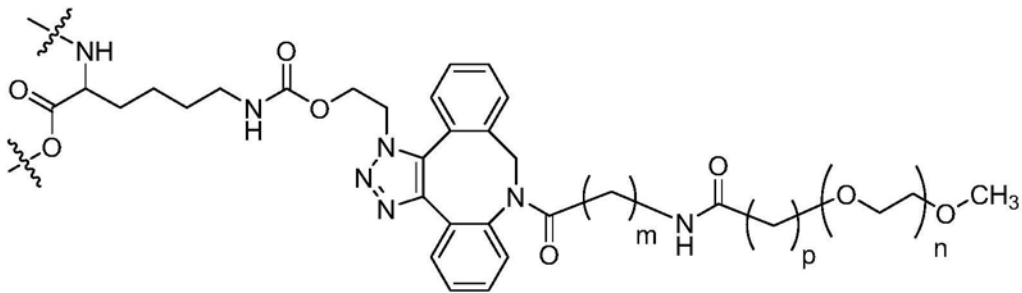
[0062] 在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学是外消旋的,是富含(R)的,是富含(S)的,基本上是(R),基本上是(S),是(R)或者是(S)。在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学是外消旋的。在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学是富含(R)的。在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学是富含(S)的。在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学基本上是(R)。在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学基本上是(S)。在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学是(R)。在一些实施方案中,式(XII)和式(XIII)内手性中心的立体化学是(S)。

[0063] 在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的

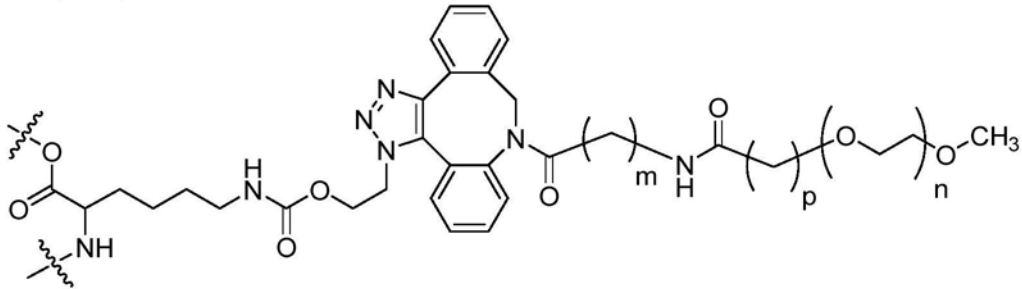
氨基酸序列中的位置是E46。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。在一些实施方案中,n是约75至约1000。在一些实施方案中,n是约100至约1000。在一些实施方案中,n是约200至约5000。在一些实施方案中,n是约500至约1000。在一些实施方案中,n是约400至约800。在本文所述的一些实施方案中,n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在一些实施方案中,n是选自454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910的整数。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约795。在一些实施方案中,n是约909。在一些实施方案中,n是约1022。在一些实施方案中,n是约1136。

[0064] 在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L26、E54和N78。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S19。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。在一些实施方案中,式(XII)或(XIII)的结构或者(XII)与(XIII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S84。在一些实施方案中,n是约75至约1000。在一些实施方案中,n是约100至约1000。在一些实施方案中,n是约200至约5000。在一些实施方案中,n是约500至约1000。在一些实施方案中,n是约400至约800。在本文所述的一些实施方案中,n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在一些实施方案中,n是选自454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910的整数。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约795。在一些实施方案中,n是约909。在一些实施方案中,n是约1022。在一些实施方案中,n是约1136。

[0065] 本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代:



式 (XIV)



式 (XV)

其中：

m是0至20的整数；

p是0至20的整数；

n是在从约2至约5000范围内的整数；并且

波浪线指示与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3内未被替代的氨基酸残基的共价键。在一些实施方案中，所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中，本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物替代，其中m、p、n和波浪线含义如上文所述。在一些实施方案中，本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物替代，其中m、p、n和波浪线含义如上文所述。

[0066] 在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学是外消旋的，是富含(R)的，是富含(S)的，基本上是(R)，基本上是(S)，是(R)或者是(S)。在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学是外消旋的。在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学是富含(R)的。在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学是富含(S)的。在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学基本上是(R)。在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学基本上是(S)。在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学是(R)。在一些实施方案中，式 (XIV) 和式 (XV) 内手性中心的立体化学是(S)。

[0067] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中，式 (XIV) 和 (XV) 的化合物中的m是从0至20、或从1至18、或从1至16、或从1至14、或从1至12、或从1至10、或从1至9、或从1至8、或从1至7、或从1至6、或从1至5、或从1至4、或从1至3、或从1至2。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中，式 (XIV) 和 (XV) 的化合物中的m是1。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中，式 (XIV) 和 (XV) 的化合物中的m是2。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方

从约5至约4600、或从约10至约4000、或从约20至约3000、或从约100至约3000、或从约100至约2900、或从约150至约2900、或从约125至约2900、或从约100至约2500、或从约100至约2000、或从约100至约1900、或从约100至约1850、或从约100至约1750、或从约100至约1650、或从约100至约1500、或从约100至约1400、或从约100至约1300、或从约100至约1250、或从约100至约1150、或从约100至约1100、或从约100至约1000、或从约100至约900、或从约100至约750、或从约100至约700、或从约100至约600、或从约100至约575、或从约100至约500、或从约100至约450、或从约100至约350、或从约100至约275、或从约100至约230、或从约150至约475、或从约150至约340、或从约113至约340、或从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约340至约795、或从约341至约682、或从约568至约909、或从约227至约1500、或从约225至约2280、或从约460至约2160、或从约460至约2050、或从约341至约1820、或从约341至约1710、或从约341至约1250、或从约225至约1250、或从约341至约1250、或从约341至约1136、或从约341至约1023、或从约341至约910、或从约341至约796、或从约341至约682、或从约341至约568、或从约114至约1000、或从约114至约950、或从约114至约910、或从约114至约800、或从约114至约690、或从约114至约575的范围内。

[0070] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是1至6的整数,p是1至6的整数,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2至6的整数,p是2至6的整数,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2至4的整数,p是2至4的整数,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是1,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是3,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是4,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是5,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是6,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、

1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是7,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是8,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是9,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是10,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是11,p是2,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。

[0071] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XIV)和(XV)的化合物中的n是选自以下的整数:2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545和4546。

[0072] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,当所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:1时,式(XIV)和(XV)的结构或者式(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25和E46。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自E53、N77和S83。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中

式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 S83。在本文所述的 IL-15 缀合物的一些实施方案中, 构成所述 IL-15 缀合物的总量的式 (XIV) 的结构与式 (XV) 的结构的量的比率为约 1:1。在本文所述的 IL-15 缀合物的一些实施方案中, 构成所述 IL-15 缀合物的总量的式 (XIV) 的结构与式 (XV) 的结构的量的比率大于 1:1。在本文所述的 IL-15 缀合物的一些实施方案中, 构成所述 IL-15 缀合物的总量的式 (XIV) 的结构与式 (XV) 的结构的量的比率小于 1:1。

[0073] 在本文所述的 IL-15 缀合物的一些实施方案中, 当所述 IL-15 缀合物包含 SEQ ID NO:3 时, 式 (XIV) 和 (XV) 的结构或者式 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置选自 S19、L26、E47、E54、N78 和 S84。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置选自 S19、L26、E47。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置选自 E54、N78 和 S84。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 S19。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 L26。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 E47。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 E54。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 N78。本文进一步描述了 IL-15 缀合物, 其中式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物在所述 IL-15 缀合物的氨基酸序列中的位置是 S84。在本文所述的 IL-15 缀合物的一些实施方案中, 构成所述 IL-15 缀合物的总量的式 (XIV) 的结构与式 (XV) 的结构的量的比率为约 1:1。在本文所述的 IL-15 缀合物的一些实施方案中, 构成所述 IL-15 缀合物的总量的式 (XIV) 的结构与式 (XV) 的结构的量的比率大于 1:1。在本文所述的 IL-15 缀合物的一些实施方案中, 构成所述 IL-15 缀合物的总量的式 (XIV) 的结构与式 (XV) 的结构的量的比率小于 1:1。

[0074] 在一些实施方案中, 本文描述了包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的 IL-15 缀合物, 其中所述 IL-15 缀合物中的至少一个氨基酸残基被式 (XIV) 或 (XV) 的结构或者 (XIV) 与 (XV) 的混合物替代, 其中在 SEQ ID NO:1 中被替代的氨基酸残基选自 S18、L25、E46、E53、N77 和 S83, 其中 n 是从 100 至约 1150、或从约 100 至约 1100、或从约 100 至约 1000、或从约 100 至约 900、或从约 100 至约 750、或从约 100 至约 700、或从约 100 至约 600、或从约 100 至约 575、或从约 100 至约 500、或从约 100 至约 450、或从约 100 至约 350、或从约 100 至约 275、或从约 100 至约 230、或从约 150 至约 475、或从约 150 至约 340、或从约 113 至约 340、或从约 450 至约 800、或从约 454 至约 796、或从约 454 至约 682、或从约 340 至约 795、或从约 341 至约 682、或从约 568 至约 909、或从约 227 至约 1500、或从约 225 至约 2280、或从约 460 至约 2160、或从约 460 至约 2050、或从约 341 至约 1820、或从约 341 至约 1710、或从约 341 至约 1250、或从约 225 至约 1250、或从约 341 至约 1250、或从约 341 至约 1136、或从约 341 至约 1023、或从约 341 至约 910、或从约 341 至约 796、或从约 341 至约 682、或从约 341 至约 568、或从约 114 至约 1000、或从约 114 至约 950、或从约 114 至约 910、或从约 114 至约 800、或从约 114 至约 690、或从约 114 至约 575 的整数。在

本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XIV)和(XV)的化合物中的n是选自以下的整数:2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545和4546。

[0075] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中在SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基选自S19、L26、E47、E54、N78和S84,并且其中n是从100至约1150、或从约100至约1100、或从约100至约1000、或从约100至约900、或从约100至约750、或从约100至约700、或从约100至约600、或从约100至约575、或从约100至约500、或从约100至约450、或从约100至约350、或从约100至约275、或从约100至约230、或从约150至约475、或从约150至约340、或从约113至约340、或从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约340至约795、或从约341至约682、或从约568至约909、或从约227至约1500、或从约225至约2280、或从约460至约2160、或从约460至约2050、或从约341至约1820、或从约341至约1710、或从约341至约1250、或从约225至约1250、或从约341至约1250、或从约341至约1136、或从约341至约1023、或从约341至约910、或从约341至约796、或从约341至约682、或从约341至约568、或从约114至约1000、或从约114至约950、或从约114至约910、或从约114至约800、或从约114至约690、或从约114至约575的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XIV)和(XV)的化合物中的n是选自以下的整数:2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545和4546。

[0076] 本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中n是使得PEG部分的分子量在从约1,000道尔顿至约200,000道尔顿、或从约2,000道尔顿至约150,000道尔顿、或从约3,000道尔顿至约125,000道尔顿、或从约4,000道尔顿至约100,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约100,000道尔顿、或从约6,000道尔顿至约90,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约80,000道尔顿、或从约8,000道尔顿至约70,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约70,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约65,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约60,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约6,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约8,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约8,500道尔顿至约40,000道尔顿、或从约8,500道尔顿至约35,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约30,000道尔顿、或从约9,500道尔顿至约35,000道尔顿、或从约9,500道尔顿至约30,000

道尔顿、或从约10,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约30,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约30,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约30,000道尔顿范围内的整数。本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中n是使得PEG部分的分子量为约5,000道尔顿、约7,500道尔顿、约10,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿、约50,000道尔顿、约60,000道尔顿、约70,000道尔顿、约80,000道尔顿、约90,000道尔顿、约100,000道尔顿、约125,000道尔顿、约150,000道尔顿、约175,000道尔顿或约200,000道尔顿的整数。本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中n是使得PEG部分的分子量为约5,000道尔顿、约7,500道尔顿、约10,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿或约50,000道尔顿的整数。

[0077] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是L25,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0078] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是L25,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0079] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是L25,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)

的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0080] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是E53,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0081] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是E53,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0082] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是N77,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0083] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是N77,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0084] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是L26,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0085] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是L26,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0086] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是E54,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

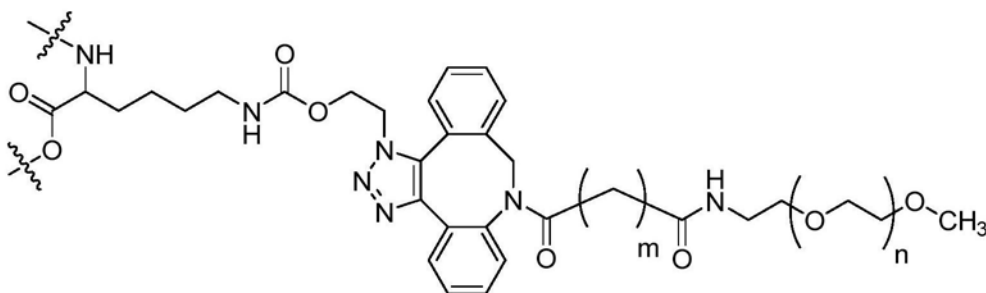
[0087] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是E54,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0088] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是N78,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

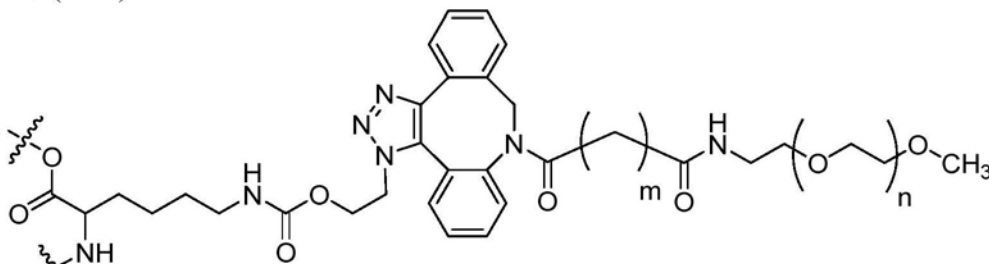
[0089] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XIV)或(XV)的结构或者(XIV)与(XV)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是N78,并且其中m是从1至6的整数,p是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XIV)和(XV)的化合物中,m是2,p是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0090] 本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中

所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代:



式 (XVI)



式 (XVII)

其中:

m 是0至20的整数;

n 是在从约2至约5000范围内的整数;并且

波浪线指示与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3内未被替代的氨基酸残基的共价键。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物是药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中 m 、 p 、 n 和波浪线含义如上文所述。在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中 m 、 p 、 n 和波浪线含义如上文所述。

[0091] 在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学是外消旋的,是富含(R)的,是富含(S)的,基本上是(R),基本上是(S),是(R)或者是(S)。在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学是外消旋的。在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学是富含(R)的。在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学是富含(S)的。在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学基本上是(R)。在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学基本上是(S)。在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学是(R)。在一些实施方案中,式(XVI)和式(XVII)内手性中心的立体化学是(S)。

[0092] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的 m 是从1至20、或从1至18、或从1至16、或从1至14、或从1至12、或从1至10、或从1至9、或从1至8、或从1至7、或从1至6、或从1至5、或从1至4、或从1至3、或从1至2。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的 m 是1。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的 m 是2。在本文所述的IL-15缀合物的一些

实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是3。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是4。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是5。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是6。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是7。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是8。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是9。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是10。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是11。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是12。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是13。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是14。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是15。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是16。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是17。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是18。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是19。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的m是20。

[0093] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的n在从约5至约4600、或从约10至约4000、或从约20至约3000、或从约100至约3000、或从约100至约2900、或从约150至约2900、或从约125至约2900、或从约100至约2500、或从约100至约2000、或从约100至约1900、或从约100至约1850、或从约100至约1750、或从约100至约1650、或从约100至约1500、或从约100至约1400、或从约100至约1300、或从约100至约1250、或从约100至约1150、或从约100至约1100、或从约100至约1000、或从约100至约900、或从约100至约750、或从约100至约700、或从约100至约600、或从约100至约575、或从约100至约500、或从约100至约450、或从约100至约350、或从约100至约275、或从约100至约230、或从约150至约475、或从约150至约340、或从约113至约340、或从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约340至约795、或从约341至约682、或从约568至约909、或从约227至约1500、或从约225至约2280、或从约460至约2160、或从约460至约2050、或从约341至约1820、或从约341至约1710、或从约341至约1250、或从约225至约1250、或从约341至约1250、或从约341至约1136、或从约341至约1023、或从约341至约910、或从约341至约796、或从约341至约682、或从约341至约568、或从约114至约1000、或从约114至约950、或从约114至约910、或从约114至约800、或从约114至约690、或从约114至约575的范围内。

[0094] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是1至6的整数,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是2至6的整数,并且n是选自以下的整数:113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136和1137。在本文所述的IL-15缀合物的一些

681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545和4546。

[0096] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的结构或者式(XVI)与(XVII)的混合物在包含SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的结构或者式(XVI)与(XVII)的混合物在SEQ ID NO:1的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25和E46。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自E53、N77和S83。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,构成所述IL-15缀合物的总量的式(XVI)的结构的量与式(XVII)的结构的量的比率为约1:1。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,构成所述IL-15缀合物的总量的式(XVI)的结构的量与式(XVII)的结构的量的比率大于1:1。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,构成所述IL-15缀合物的总量的式(XVI)的结构的量与式(XVII)的结构的量的比率小于1:1。

[0097] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中在SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基选自S18、L25、E46、E53、N77和S83,并且其中n是从100至约1150、或从约100至约1100、或从约100至约1000、或从约100至约900、或从约100至约750、或从约100至约700、或从约100至约600、或从约100至约575、或从约100至约500、或从约100至约450、或从约100至约350、或从约100至约275、或从约100至约230、或从约150至约475、或从约150至约340、或从约113至约340、或从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约340至约795、或从约341至约682、或从约568至约909、或从约227至约1500、或从约225至约2280、或从约460至约2160、或从约460至约2050、或从约341至约1820、或从约341至约1710、或从约341至约1250、或从约225至约1250、或从约341至约1250、或从约341至约1136、或从约341至约1023、或从约341至约910、或从约341至约796、或从约341至约682、或从约341至约568、或从约114至约1000、或从约114至约950、或从约114至约910、或从约114至约800、或从约114至约690、或从约114至约575的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的

n是选自以下的整数:2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545和4546。

[0098] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基选自L25,并且其中n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137和1249。

[0099] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基选自L25,并且其中n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0100] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:1中被替代的氨基酸残基是L25,并且其中n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的化合物中的n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0101] 在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,式(XVI)和(XVII)的结构或者式(XVI)与(XVII)的混合物在包含SEQ ID NO:3的IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自K95、L26、E47。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自E54、N78、S84。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是K95。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与

(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。本文进一步描述了IL-15缀合物,其中式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S84。

[0102] 本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中n是使得PEG部分的分子量在从约1,000道尔顿至约200,000道尔顿、或从约2,000道尔顿至约150,000道尔顿、或从约3,000道尔顿至约125,000道尔顿、或从约4,000道尔顿至约100,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约100,000道尔顿、或从约6,000道尔顿至约90,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约80,000道尔顿、或从约8,000道尔顿至约70,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约70,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约65,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约60,000道尔顿、或从约5,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约6,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约7,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约8,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约8,500道尔顿至约40,000道尔顿、或从约8,500道尔顿至约35,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约9,000道尔顿至约30,000道尔顿、或从约9,500道尔顿至约35,000道尔顿、或从约9,500道尔顿至约30,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约10,000道尔顿至约30,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约15,000道尔顿至约30,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约50,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约45,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约40,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约35,000道尔顿、或从约20,000道尔顿至约30,000道尔顿范围内的整数。本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中n是使得PEG部分的分子量为约5,000道尔顿、约7,500道尔顿、约10,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿、约50,000道尔顿、约60,000道尔顿、约70,000道尔顿、约80,000道尔顿、约90,000道尔顿、约100,000道尔顿、约125,000道尔顿、约150,000道尔顿、约175,000道尔顿或约200,000道尔顿的整数。本文描述了包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中n是使得PEG部分的分子量为约5,000道尔顿、约7,500道尔顿、约10,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿或约50,000道尔顿的整数。

[0103] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中的氨基酸残基是L26,m是1至6的整数,并且n是从

约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137和1249。

[0104] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是L26,并且其中m是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0105] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是L26,并且其中m是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中,n是从约500至约1000。在一些实施方案中,n是从约550至约800。在一些实施方案中,n是约681。在一些实施方案中,n是约909。

[0106] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中的氨基酸残基是E54,m是1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137和1249。

[0107] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是E54,并且其中m是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0108] 在一些实施方案中,本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代,其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是E54,并且其中m是从1至6的整数,并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中,在式(XVI)和(XVII)的化合物中,m是2,并且n是选自以下的整数:454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909

和910。在一些实施方案中，n是从约500至约1000。在一些实施方案中，n是从约550至约800。在一些实施方案中，n是约681。在一些实施方案中，n是约909。

[0109] 在一些实施方案中，本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或(XVI)与(XVII)的混合物替代，其中SEQ ID NO:3中的氨基酸残基是N78，m是1至6的整数，并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中，在式(XVI)和(XVII)的化合物中，m是2，并且n是选自以下的整数：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137和1249。

[0110] 在一些实施方案中，本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代，其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是N78，并且其中m是从1至6的整数，并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中，在式(XVI)和(XVII)的化合物中，m是2，并且n是选自以下的整数：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。

[0111] 在一些实施方案中，本文描述了包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(XVI)或(XVII)的结构或者(XVI)与(XVII)的混合物替代，其中SEQ ID NO:3中被替代的氨基酸残基是N78，并且其中m是从1至6的整数，并且n是从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约568至约909的整数。在本文所述的IL-15缀合物的一些实施方案中，在式(XVI)和(XVII)的化合物中，m是2，并且n是选自以下的整数：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909和910。在一些实施方案中，n是从约500至约1000。在一些实施方案中，n是从约550至约800。在一些实施方案中，n是约681。在一些实施方案中，n是约909。

[0112] 本文描述了治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的本文所述的IL-15缀合物。在一些实施方案中，所述癌症是实体瘤癌症。在一些实施方案中，所述实体瘤癌症是膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、结直肠癌、食道癌、眼癌、头颈癌、肾癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌或前列腺癌。在一些实施方案中，所述癌症是恶性血液病。在一些实施方案中，所述恶性血液病是慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、多发性骨髓瘤、结外边缘区B细胞淋巴瘤、结边缘区B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、非伯基特高级B细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤(PMBL)、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞淋巴瘤、B细胞前淋巴细胞性白血病、淋巴浆细胞性淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、浆细胞瘤、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤或淋巴瘤样肉芽肿病。在一些实施方案中，所述受试者的癌症选自肾细胞癌(RCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、经典型霍奇金淋巴瘤(cHL)、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤(PMBCL)、尿路上皮癌、微卫星不稳定癌、微卫星稳定癌、胃癌、宫颈癌、肝细胞癌(HCC)、梅克尔细胞癌(MCC)、黑色素瘤、小细胞肺癌(SCLC)、食道癌、胶质母细胞瘤、间皮瘤、乳腺癌、三阴性乳腺癌、前列腺

癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低度突变负荷的肿瘤、皮肤鳞状细胞癌 (CSCC)、鳞状细胞皮肤癌 (SCSC)、低表达至不表达PD-L1的肿瘤、超出其原发解剖学起源部位全身性播散至肝脏和 CNS 的肿瘤、和弥漫性大B细胞淋巴瘤。在一些实施方案中,所述受试者的癌症选自肾细胞癌 (RCC)、非小细胞肺癌 (NSCLC)、尿路上皮癌和黑色素瘤。

在一些实施方案中,所述受试者的癌症是非霍奇金淋巴瘤 (NHL)。在一些实施方案中,所述受试者的癌症是多发性骨髓瘤。

[0113] 在一些实施方案中,每周一次、每两周、每三周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每七周一次或每八周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。在一些实施方案中,每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。在一些实施方案中,每周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。在一些实施方案中,每两周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。在一些实施方案中,每三周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。在一些实施方案中,每四周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。

[0114] 在一些实施方案中,对应于这种量的给定药剂的量根据多种因素而变化,所述因素如特定化合物、疾病的严重程度、需要治疗的受试者或宿主的特性(例如,体重),然而根据围绕病例的特定情况(包括例如所施用的具体药剂、施用途径和所治疗的受试者或宿主)以本领域已知的方式常规地确定。在一些情况下,所需剂量方便地以单一剂量或作为分开的剂量呈现,所述分开的剂量是同时(或在短时间段内)或以适当的间隔(例如每天两个、三个、四个或更多个子剂量)施用。

[0115] 在一些实施方案中,所述方法包括向有需要的受试者给予在以下范围内的剂量的IL-15缀合物:从1 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约2 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约4 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约6 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约8 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约10 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约12 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约14 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约16 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约18 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约20 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约22 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约24 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约26 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约28 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约32 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约34 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约36 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约40 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约45 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约50 μ g IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μ g IL-15缀

合物/kg受试者体重、或从约55 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约60 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约65 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约70 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约75 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约80 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约85 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约90 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约95 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约100 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约110 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约120 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约130 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约140 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约150 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约160 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约170 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约180 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或从约190 μg IL-15缀合物/kg受试者体重至约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重。前述范围仅仅是提示性的,因为关于单一治疗方案的变量数量很大,并且相对于这些推荐值的显著偏差并不罕见。此类剂量根据许多变量而改变,不限于所使用化合物的活性、待治疗的疾病或病症、施用方式、个体受试者的需求、所治疗疾病或病症的严重程度以及执业医师的判断。在一些实施方案中,通过细胞培养物或实验动物中的标准制药学程序来确定此类治疗方案的毒性和治疗功效,所述标准制药学程序包括但不限于LD50(对50%的群体致死的剂量)和ED50(对50%的群体具有治疗效果的剂量)的确定。毒性与治疗效果之间的剂量比是治疗指数,并且其表示为LD50与ED50之间的比率。展现出高治疗指数的化合物是优选的。将从细胞培养测定和动物研究获得的数据用于制定用于人的剂量范围。此类化合物的剂量优选地在循环浓度的范围内,所述循环浓度包括具有最小毒性的ED50。剂量根据所采用的剂型和所利用的施用途径而在此范围内变化。

[0116] 在一些实施方案中,所述方法包括向有需要的受试者给予以下剂量的IL-15缀合物:约1 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或约2 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约4 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约6 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约8 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约10 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约12 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约14 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约16 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约18 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约20 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约22 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约24 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约26 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约28 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约30 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约32 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约34 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约36 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约38 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约40 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约42 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约44 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约46 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、

约48 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约50 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约55 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约60 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约65 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约70 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约75 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约80 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约85 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约90 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约95 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约100 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约110 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约120 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约130 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约140 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约150 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约160 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约170 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约180 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、约190 μg IL-15缀合物/kg受试者体重、或约200 μg IL-15缀合物/kg受试者体重。前述量仅仅是提示性的,因为关于单一治疗方案的变量数量很大,并且相对于这些推荐值的显著偏差并不罕见。此类剂量根据许多变量而改变,不限于所使用化合物的活性、待治疗的疾病或病症、施用方式、个体受试者的需求、所治疗疾病或病症的严重程度以及执业医师的判断。在一些实施方案中,通过细胞培养物或实验动物中的标准制药学程序来确定此类治疗方案的毒性和治疗功效,所述标准制药学程序包括但不限于LD50(对50%的群体致死的剂量)和ED50(对50%的群体具有治疗效果的剂量)的确定。毒性与治疗效果之间的剂量比是治疗指数,并且其表示为LD50与ED50之间的比率。展现出高治疗指数的化合物是优选的。将从细胞培养测定和动物研究获得的数据用于制定用于人的剂量范围。此类化合物的剂量优选地在循环浓度的范围内,所述循环浓度包括具有最小毒性的ED50。剂量根据所采用的剂型和所利用的施用途径而在此范围内变化。

[0117] 一旦患者病症得到改善,必要时施用维持剂量。随后,可以根据症状将剂量或施用频率或两者降低至保留改善的疾病、障碍或病症的水平。

[0118] 在一些实施方案中,对应于这种量的给定药剂的量根据多种因素而变化,所述因素如特定化合物、疾病的严重程度、需要治疗的受试者或宿主的特性(例如,体重),然而根据围绕病例的特定情况(包括例如所施用的具体药剂、施用途径和所治疗的受试者或宿主)以本领域已知的方式常规地确定。在一些情况下,所需剂量方便地以单一剂量或作为分开的剂量呈现,所述分开的剂量是同时(或在短时间段内)或以适当的间隔(例如每天两个、三个、四个或更多个子剂量)施用。

[0119] 本文描述了扩增效应T(Teff)细胞、记忆T(Tmem)细胞和自然杀伤(NK)细胞群体的方法,所述方法包括:(a)使细胞与本文所述的IL-15缀合物接触;以及(b)使所述IL-15与IL-15R β 和IL-15R γ 亚基相互作用以形成IL-15/IL-15R β γ 复合物,其中所述IL-15缀合物具有降低的对IL-15R α 亚基的亲合力,并且其中所述IL-15/IL-15R β γ 复合物刺激Teff、Tmem和NK细胞的扩增。在一些实施方案中,所述细胞是真核细胞。在一些实施方案中,所述细胞是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,所述细胞是人细胞。

[0120] 本文描述了药物组合物,其包含有效量的本文所述的IL-15缀合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

附图说明

[0121] 本公开文本的不同方面在随附权利要求中具体阐述。将通过参考阐述了利用本公开文本的原理的说明性实施方案的以下具体实施方式和附图获得对本公开文本的特征和

优点的更好的理解,在所述附图中:

[0122] 图1A和图1B示出了来自实施例2的用天然IL-15或IL-15缀合物处理的食蟹猴全血中STAT5信号传导的剂量反应(EC50)。图1A示出了CD8⁺ T细胞中的剂量反应。图1B示出了NK细胞中的剂量反应。(天然IL-15=实心三角形;IL-15_N78[AzK_PEG30]=实心圆圈;IL-15_L26[AzK_PEG30]=实心菱形;IL-15_E54[AzK_PEG30]=实心正方形。)

[0123] 图2展示了实施例3中被施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]的第2、3和4组小鼠的血浆浓度与时间关系的曲线(第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0124] 图3展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的NK细胞群中的pSTAT5% (第1组(媒介物)=空心圆圈);第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0125] 图4展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的CD8 T细胞群中的pSTAT5% (第1组(媒介物)=空心圆圈);第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0126] 图5展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的Treg细胞群中的pSTAT5% (第1组(媒介物)=空心圆圈;第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0127] 图6展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的NK细胞群中的Ki67% (第1组(媒介物)=空心圆圈;第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0128] 图7展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的CD8 T细胞群中的Ki67% (第1组(媒介物)=空心圆圈;第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0129] 图8展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的Treg细胞群中的Ki67% (第1组(媒介物)=空心圆圈;第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0130] 图9展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的NK细胞扩增%与给药后天数的关系(第1组(媒介物)=空心圆圈;第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0131] 图10展示了根据实施例3施用测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]后小鼠的记忆CD8⁺ T细胞扩增%与给药后天数的关系(第1组(媒介物)=空心圆圈;第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。

[0132] 图11A-图11B示出了流式细胞术图,其示出了根据实施例3在C57BL/6小鼠中给予媒介物(图11A)和1mg/kg测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30](图11B)后5天的NK细胞群(从所有外周细胞中门控选出)。

[0133] 图12A-图12B示出了流式细胞术图,其示出了根据实施例3在C57BL/6小鼠中给予媒介物(图12A)和1mg/kg测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30](图12B)后5天的记忆CD8⁺ T群体(从CD3⁺ T细胞中门控选出)。

具体实施方式

[0134] 癌症是一类复杂的疾病,涉及异常细胞生长,并且具有侵入或扩散至身体的其他部分的可能性。针对癌症驱动器和途径的癌症疗法(如放射疗法和化学疗法)可能是成功的。在一些情况下,癌细胞能够适应这些疗法,从而限制了此类疗法的功效。与手术、化学疗法或放射疗法不同,免疫疗法刺激免疫系统以识别并杀死肿瘤细胞。

[0135] 若干种细胞因子因其触发免疫应答的能力而被用于免疫疗法。然而,当前利用细胞因子的免疫疗法导致几种不良反应,包括毒性和不受控制的细胞增殖。本文提供了用于治疗癌症的经修饰的细胞因子或细胞因子缀合物,其具有刺激或扩增特定T细胞和NK群体的能力,从而导致改善的治疗和减少的不良事件。

[0136] 细胞因子包括细胞信号传导蛋白家族(如趋化因子、干扰素、白介素、淋巴因子和肿瘤坏死因子)。细胞因子是由免疫细胞(如巨噬细胞、B淋巴细胞、T淋巴细胞和肥大细胞、内皮细胞、成纤维细胞和不同的基质细胞)产生的。在一些情况下,细胞因子调节体液免疫应答与基于细胞的免疫应答之间的平衡。

[0137] 白介素是信号传导蛋白,其调节T和B淋巴细胞和造血细胞的发育和分化。白介素是由辅助CD4⁺ T淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞和内皮细胞产生的。在一些情形下,存在约15种白介素:白介素1-13、白介素15和白介素17。

[0138] 白介素15(IL-15)是一种多效性细胞因子,其结构是14-15kDa糖蛋白。IL-15的转录、翻译和分泌是通过多种复杂机制调节的。IL-15和IL-15受体 α (IL-15R α , CD215)蛋白主要由激活的单核细胞和树突细胞(DC)共表达。在单核细胞/DC与1型或2型干扰素(IFN)或CD40连接或通过激活NF- κ B的Toll样受体(TLR)起作用的药剂相互作用后,发生异二聚体IL-15/IL-15R α 的转录。此外,IL-15/IL-15R α 蛋白的表达主要受翻译和分泌水平的控制。

[0139] IL-15通过异三聚体受体发出信号,所述异三聚体受体包含独特的 α 链(IL-15R α)、与IL-2(CD122)共享的 β 亚基(IL-15R β , CD132)和与若干种细胞因子共享的共同 γ 亚基(CD132; IL-15R γ)。IL-15R α 对IL-15具有高亲和力,其 K_d 为约 10^{-11} M。

[0140] 在一些实施方案中,将IL-15信号传导用于调节T细胞应答,并随后用于治疗癌症。在一些实施方案中,将IL-15信号传导用于模拟激活的CD4⁻CD8⁻、CD4⁺CD8⁺、CD4⁺和CD8⁺ T细胞的增殖及其在限定的效应T细胞亚组中的分化。在一些实施方案中,将IL-15信号传导用于模拟自然杀伤(NK)细胞的产生和增殖。在一些实施方案中,将IL-15信号传导用于促进记忆CD8⁺ T细胞、幼稚CD8⁺ T细胞和NK细胞的维持和存活。在一些实施方案中,将IL-15信号传导用于诱导记忆CD8⁺ T细胞的形成。在一些实施方案中,将IL-15信号传导用于引发NK细胞靶标特异性激活。在一些实施方案中,IL-15信号传导不会导致Treg扩增。

[0141] 在一些实施方案中,本文描述了经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物,用于调节T细胞应答并随后用于治疗癌症。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽包含与白介素15受体 α (IL-15R α)的结合的减少。在一些实施方案中,结合亲和力的降低是相对于野生型IL-15多肽与IL-15R α 之间的结合亲和力。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽对经修饰的IL-15多肽与白介素2/白介素15受体 $\beta\gamma$ (IL-2/IL-15R $\beta\gamma$)的相互作用具有很少或没有影响。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽包含一种或多种修饰,所述一种或多种修饰对经修饰的IL-15多肽与IL-15R α 和IL-15R $\beta\gamma$ 的结合亲和力具有很少或没有影响。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽包含与IL-2/IL-15R $\beta\gamma$ 的结合的减少,且IL-15R α 相互作用不受影

响。

[0142] 本文描述了具有改善的刺激抗肿瘤反应的能力的经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物具有改善的安全特性。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物包含用于增加半衰期的位点特异性聚乙二醇化。在一些实施方案中,位点特异性聚乙二醇化增加半衰期并且对生物活性具有很少或没有影响。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物的信号传导偏向IL-15R β γ 。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物包含用于增加半衰期并降低毒性的位点特异性聚乙二醇化。在一些实施方案中,位点特异性聚乙二醇化导致经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物的更少给药。在一些实施方案中,通过阻断IL-15R α 相互作用的经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物降低了毒性。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物的活性限于肿瘤部位。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物包含位点特异性聚乙二醇化,使得自然杀伤(NK)和效应细胞增殖和功能不需要IL-15的反式呈递。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物包含位点特异性聚乙二醇化,使得清除被抑制或禁止。

经修饰的IL-15多肽和IL-15缀合物

[0143] 在一些实施方案中,本文描述了经修饰的IL-15多肽。在一些情况下,所述修饰是针对天然氨基酸。在一些情况下,所述修饰是针对非天然氨基酸。在一些情况下,本文描述了包含至少一种非天然氨基酸的分离且经修饰的IL-15多肽。在一些情况下,IL-15多肽是经分离和纯化的哺乳动物IL-15,例如人IL-15蛋白。在一些情形下,IL-15多肽是人IL-15蛋白。在一些情形下,IL-15多肽包含与SEQ ID NO:1、2或3约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。在一些情形下,IL-15多肽包含SEQ ID NO:1或2的序列或由其组成。在一些情形下,IL-15多肽包含SEQ ID NO:2或3的序列或由其组成。

[0144] 在一些情况下,经修饰的IL-15多肽是截短的变体。在一些情况下,所述截短是N末端缺失。在其他情况下,所述截短是C末端缺失。在另外的情况下,所述截短包括N末端和C末端缺失两者。例如,所述截短可以是N末端或C末端或两个末端起缺失至少或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20或更多个残基。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20或更多个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约2个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约3个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约4个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约5个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约6个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约7个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约8个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约9个残基的N末端缺失。在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少或约10个残基的N末端缺失。

[0145] 在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽是功能活性片段。在一些情形下,所述功能活性片段包含IL-15区域5-114、10-114、15-114、20-114、1-110、5-110、10-110、15-110、20-110、1-105、5-105、10-105、15-105、20-105、1-100、5-100、10-100、15-100或20-100,其

中残基位置参考SEQ ID NO:1中的位置。在一些情况下,功能活性片段包含IL-15区域5-114、10-114、15-114或20-114,其中残基位置参考SEQ ID NO:1中的位置。在一些情况下,功能活性片段包含IL-15区域1-110、5-110、10-110、15-110或20-110,其中残基位置参考SEQ ID NO:1中的位置。在一些情况下,功能活性片段包含IL-15区域1-105、5-105、10-105、15-105或20-105,其中残基位置参考SEQ ID NO:1中的位置。在一些情况下,功能活性片段包含IL-15区域1-100、5-100、10-100、15-100或20-100,其中残基位置参考SEQ ID NO:1中的位置。

[0146] 在一些实施方案中,功能活性IL-15片段包含内部缺失。在一些情形下,内部缺失包括环区。在一些情形下,内部缺失包括2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多个残基的缺失。

[0147] 在一些实施方案中,本文所述的IL-15多肽包含至少一种非天然氨基酸。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、T27、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、A39、K41、L44、L45、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、S51、L52、S54、G55、D56、A57、S58、H60、V63、I67、N71、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、L91、E92、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101和F110。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自D14、Q17、S18、K41、S51、L52、G55、D56、A57、S58、S75、S76、N77、N79、V80、T81、S83、G84、E92、K94、N95、K97和E98。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N1、N4、S7、D8、K11、D61、T62、E64、N65、I68、L69和N72。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自V3、I6、K10、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S102、V104、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自D22、A23、T24、L25、Y26、L44、E46、Q48、V49、E53、E89、E90和E93。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自Y26、E46、V49、E53和L25。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自V3、K10、S29、D30、H32、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N4、S7、K11和D61。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自L25、E53、N77和S83。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自L25和E53。

在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E46、Y26、V49、E53、T24、N4、K11、N65、L69、S18、H20和S83。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E46、Y26、V49、E53和T24。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E46、V49、E53和T24。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自Y26、V49、E53和T24。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自V49、E53和T24。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E46和Y26。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是E46。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是L25。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是Y26。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是V49。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是E53。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是T24。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是N77。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N4、K11、N65、L69、S18、H20和S83。下表1中示出了IL-15的示例性氨基酸序列。

表1

名称	序列	SEQ ID NO.
IL-15 (成熟形式)	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	1
IL-15 GenBank: CAA71044.1 (前体)	MDFQVQIFSFL LISASVIMSRANWVNVISDLKKIEDLIQ SMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESG DASIHDTVENLILANNSLSSNGNVVTESGCKECELEEK NIKEFLQSFVHIVQMFINTS	2
Met-IL-15 (具有N末端甲硫氨酸 的成熟形式)	MNVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	3
IL-15_S18X	NWVNVISDLKKIEDLIQXMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	4
IL-15_L25X	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATXYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN	5

	GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	
IL-15_E46X	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLXLQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	6
IL-15_E53X	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLXSGDASIHDTVENLILANNSLSSN GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	7
IL-15_N77X	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSX GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	8
IL-15_S83X	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN GNVTEXGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	9
IL-15_S18[AzK]	NWVNVISDLKKIEDLIQ[AzK]MHIDATLYTESDVHPSCK KVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSL SSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINT S	10
IL-15_L25[AzK]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK]YTESDVHPSCK KVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSL SSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINT S	11
IL-15_E46[AzK]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLL[AzK]LQVISLESGDASIHDTVENLILANNSL SSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINT S	12
IL-15_E53[AzK]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISL[AzK]SGDASIHDTVENLILANNSL SSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINT S	13
IL-15_N77[AzK]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSS[A zK]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	14
IL-15_S83[AzK]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN GNVTE[AzK]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINT S	15
IL-15_S18[AzK_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQ[AzK_PEG]MHIDATLYTESDV HPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILA NNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	16
IL-15_L25[AzK_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_PEG]YTESDV HPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILA NNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	17
IL-15_E46[AzK_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLL[AzK_PEG]LQVISLESGDASIHDTVENLILA NNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	18
IL-15_E53[AzK_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISL[AzK_PEG]SGDASIHDTVENLILA NNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	19
IL-15_N77[AzK_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSS[A zK_PEG]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	20
IL-15_S83[AzK_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSN	21

	GNVTE[AzK_PEG]GCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	
IL-15_S18[AzK_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQ[AzK_PEG30]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	22
IL-15_L25[AzK_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_PEG30]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	23
IL-15_E46[AzK_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL[AzK_PEG30]LQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	24
IL-15_E53[AzK_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISL[AzK_PEG30]SGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	25
IL-15_N77[AzK_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSS[AzK_PEG30]GNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	26
IL-15_S83[AzK_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTE[AzK_PEG30]GCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	27
IL-15_S18[AzK_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQ[AzK_PEG40]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	28
IL-15_L25[AzK_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_PEG40]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	29
IL-15_E46[AzK_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL[AzK_PEG40]LQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	30
IL-15_E53[AzK_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISL[AzK_PEG40]SGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	31
IL-15_N77[AzK_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSS[AzK_PEG40]GNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	32
IL-15_S83[AzK_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTE[AzK_PEG40]GCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	33
IL-15_S18[AzK_L1_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQ[AzK_L1_PEG]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	34
IL-15_L25[AzK_L1_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_L1_PEG]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	35
IL-15_E46[AzK]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT	36

L1_PEG]	AMKCFL[AzK_L1_PEG]LQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	
IL-15_E53[AzK_L1_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISL[AzK_L1_PEG]SGDASIHDTVENLII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	37
IL-15_N77[AzK_L1_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSS[A zK_L1_PEG]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	38
IL-15_S83[AzK_L1_PEG]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSSN GNVTE[AzK_L1_PEG]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHI VQMFINTS	39
IL-15_S18[AzK_L1_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQ[AzK_L1_PEG30]MHIDATLYT ESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	40
IL-15_L25[AzK_L1_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_L1_PEG30]YT ESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	41
IL-15_E46[AzK_L1_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFL[AzK_L1_PEG30]LQVISLESGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	42
IL-15_E53[AzK_L1_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISL[AzK_L1_PEG30]SGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	43
IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSS[A zK_L1_PEG30]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVH IVQMFINTS	44
IL-15_S83[AzK_L1_PEG30]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSSN GNVTE[AzK_L1_PEG30]GCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	45
IL-15_S18[AzK_L1_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQ[AzK_L1_PEG40]MHIDATLYT ESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	46
IL-15_L25[AzK_L1_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_L1_PEG40]YT ESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	47
IL-15_E46[AzK_L1_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFL[AzK_L1_PEG40]LQVISLESGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	48
IL-15_E53[AzK_L1_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISL[AzK_L1_PEG40]SGDASIHDTVEN LII LANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	49
IL-15_N77[AzK_L1_PEG40]	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSS[A zK_L1_PEG40]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVH IVQMFINTS	50

IL-15_S83[AzK_L1_PEG40]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTE[AzK_L1_PEG40]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	51
IL-15_S19X	MNWNVISDLKKIEDLIQXMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	52
IL-15_L26X	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATXYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	53
IL-15_E47X	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLXLQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	54
IL-15_E54X	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLXSGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	55
IL-15_N78X	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSXGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	56
IL-15_S84X	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	57
IL-15_S19[AzK]	MNWNVISDLKKIEDLIQ[AzK]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	58
IL-15_L26[AzK]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	59
IL-15_E47[AzK]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL[AzK]LQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	60
IL-15_E54[AzK]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISL[AzK]SGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	61
IL-15_N78[AzK]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSS[AzK]GNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	62
IL-15_S84[AzK]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTE[AzK]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	63
IL-15_S19[AzK_PEG]	MNWNVISDLKKIEDLIQ[AzK_PEG]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	64
IL-15_L26[AzK_PEG]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_PEG]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	65
IL-15_E47[AzK_PEG]	MNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL[AzK_PEG]LQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	66

IL-15_E54[AzK_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISL[AzK_PEG]SGDASIHDTVENLIL ANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	67
IL-15_N78[AzK_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSLSS[AzK_PEG]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	68
IL-15_S84[AzK_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSLSSN GNVTE[AzK_PEG]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS	69
IL-15_S19[AzK_PEG3 0]	MNWWNVISDLKKIEDLIQ[AzK_PEG30]MHIDATLYTE SDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLI ILANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHI VQMFINTS	70
IL-15_L26[AzK_PEG 30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_PEG30]YTES DVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	71
IL-15_E47[AzK_PEG 30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLL[AzK_PEG30]LQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	72
IL-15_E54[AzK_PEG 30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISL[AzK_PEG30]SGDASIHDTVENLII LANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	73
IL-15_N78[AzK_PEG 30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSLSS[AzK_PEG30]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	74
IL-15_S84[AzK_PEG3 0]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSLSSN GNVTE[AzK_PEG30]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	75
IL-15_S19[AzK_PEG4 0]	MNWWNVISDLKKIEDLIQ[AzK_PEG40]MHIDATLYTE SDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLI ILANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHI VQMFINTS	76
IL-15_L26[AzK_PEG 40]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_PEG40]YTES DVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	77
IL-15_E47[AzK_PEG 40]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLL[AzK_PEG40]LQVISLESGDASIHDTVENLII LANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	78
IL-15_E54[AzK_PEG 40]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISL[AzK_PEG40]SGDASIHDTVENLII LANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	79
IL-15_N78[AzK_PEG 40]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSLSS[AzK_PEG40]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS	80
IL-15_S84[AzK_PEG4 0]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSLSSN GNVTE[AzK_PEG40]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV	81

	QMFINTS	
IL-15_S19[AzK_L1_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQ[AzK_L1_PEG]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	82
IL-15_L26[AzK_L1_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_L1_PEG]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	83
IL-15_E47[AzK_L1_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL[AzK_L1_PEG]LQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	84
IL-15_E54[AzK_L1_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISL[AzK_L1_PEG]SGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	85
IL-15_N78[AzK_L1_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSS[AzK_L1_PEG]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	86
IL-15_S84[AzK_L1_PEG]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVT[EzK_L1_PEG]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	87
IL-15_S19[AzK_L1_PEG30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQ[AzK_L1_PEG30]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	88
IL-15_L26[AzK_L1_PEG30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_L1_PEG30]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	89
IL-15_E47[AzK_L1_PEG30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL[AzK_L1_PEG30]LQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	90
IL-15_E54[AzK_L1_PEG30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISL[AzK_L1_PEG30]SGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	91
IL-15_N78[AzK_L1_PEG30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSS[AzK_L1_PEG30]GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	92
IL-15_S84[AzK_L1_PEG30]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVT[EzK_L1_PEG30]GCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	93
IL-15_S19[AzK_L1_PEG40]	MNWWNVISDLKKIEDLIQ[AzK_L1_PEG40]MHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	94
IL-15_L26[AzK_L1_PEG40]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT[AzK_L1_PEG40]YTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	95
IL-15_E47[AzK_L1_PEG40]	MNWWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL[AzK_L1_PEG40]LQVISLESGDASIHTVE	96

	NLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSF VHIVQMFINTS	
IL-15_E54[AzK_L1_PEG40]	MNWNVNISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISL[AzK_L1_PEG40]SGDASIHDTVE NLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSF VHIVQMFINTS	97
IL-15_N78[AzK_L1_PEG40]	MNWNVNISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSS[AzK_L1_PEG40]GNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	98
IL-15_S84[AzK_L1_PEG40]	MNWNVNISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSN GNVTE[AzK_L1_PEG40]GCKECEEELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	99

X=包含非天然氨基酸的位点。

[AzK]=N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸。所述化合物具有化学文摘社登记号1167421-25-1。

[AzK_PEG]=经由DBCO介导的点击化学稳定缀合至PEG的N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸,以形成包含式(II)或式(III)的结构的化合物。例如,如果指定,PEG30指示用甲氧基封端的线性聚乙二醇链,其平均分子量为30千道尔顿。例如,如果指定,PEG40指示用甲氧基封端的分支聚乙二醇链,其平均分子量为40千道尔顿。从点击反应生成的位置异构体的比率为约1:1或大于1:1。术语“DBCO”意指包含二苯并环辛炔基团的化学部分,如包括实施例1的方案1中说明的mPEG-DBCO化合物。甲氧基PEG基团的示例性结构说明于实施例1的方案1和2中的mPEG-DBCO结构中。

[AzK_L1_PEG]=经由DBCO介导的点击化学稳定缀合至PEG的N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸,以形成包含式(IV)或式(V)的结构的化合物。例如,如果指定,PEG30指示用甲氧基封端的线性聚乙二醇链,其平均分子量为30千道尔顿。从点击反应生成的位置异构体的比率为约1:1或大于1:1。术语“DBCO”意指包含二苯并环辛炔基团的化学部分,如包括实施例1的方案1或2中说明的mPEG-DBCO化合物。

在一些情况下,表1中的序列包含N末端甲硫氨酸(Met)。在一些情况下,表1中的序列包含N末端甲硫氨酸,其中所述N末端甲硫氨酸是N-甲酰甲硫氨酸(fMet)。在一些情况下,本文所述的IL-15缀合物包含肽混合物,其中所述混合物包含具有和不具有N末端甲硫氨酸残基的序列二者。在一些情况下,本文所述的IL-15缀合物包含肽混合物,其中所述混合物包含具有N末端甲硫氨酸残基和N-甲酰甲硫氨酸残基的序列二者。在一些情况下,本文所述的IL-15缀合物包含肽混合物,其中所述混合物包含具有和不具有N末端N-甲酰甲硫氨酸残基的序列二者。

[0148] 在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸位于N末端的近端。如本文所用,近端是指位于距N末端残基至少1个残基且直到距N末端残基约50个残基处的残基。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸位于从N末端残基起的前10、20、30、40或50个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从N末端残基起的前10个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从N末端残基起的前20个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从N末端残基起的前30个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从N末端残基起的前40个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从N末端残基起的前50个残基内。

[0149] 在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸是N末端残基。

[0150] 在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸位于C末端的近端。如本文所用,近端是指位于距C末端残基至少1个残基且直到距C末端残基约50个残基处的残基。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸位于从C末端残基起的前10、20、30、40或50个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从C末端残基起的前10个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从C末端残基起的前20个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从C末端残基起的前30个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从C末端残基起的前40个残基内。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸位于从C末端残基起的前50个残基内。

[0151] 在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸是C末端残基。

[0152] 在一些实施方案中,本文描述了治疗有需要的受试者的增殖性疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的细胞因子缀合物(例如,IL-15缀合物)。

[0153] 本文描述了药物组合物,其包含有效量的本文所述的IL-15缀合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0154] 在一些实施方案中,本文描述一种治疗有需要的受试者的增殖性疾病或病症的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的表1所述的细胞因子缀合物(例如,IL-15缀合物)。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO.:1-99。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO.:4-99。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO.:4-9。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO.:10-15。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO.:16-21。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO.:22-27。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO.:28-33。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(I)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(II)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(III)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(IV)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(V)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(VI)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(VII)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(VIII)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(IX)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(X)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(XI)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(XII)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含式(XIII)的结构。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:1。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:2。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:3。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:4。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:5。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:6。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:7。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:8。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:9。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:10。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:11。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:12。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:13。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:

NO:70。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:71。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:72。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:73。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:74。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:75。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:76。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:77。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:78。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:79。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:80。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:81。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:82。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:83。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:84。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:85。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:86。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:87。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:88。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:89。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:90。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:91。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:92。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:93。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:94。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:95。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:96。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:97。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:98。在一些实施方案中,所述IL-15缀合物包含SEQ ID NO:99。

[0155] 在一些实施方案中,本文描述了在氨基酸位置被修饰的IL-15缀合物。在一些情况下,所述修饰是针对天然氨基酸。在一些情况下,所述修饰是针对非天然氨基酸。在一些情况下,本文描述了包含至少一种非天然氨基酸的分离且经修饰的IL-15多肽。在一些情形下,所述IL-15多肽与SEQ ID NO:4至99中的任一个具有约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。

[0156] 在一些情形下,所述PEG基团并不限于特定结构。在一些情形下,所述PEG是线性的(例如,封端的,例如,烷氧基PEG或双官能PEG)、分支的或多臂的(例如,叉状PEG或附接至多元醇核心的PEG)、树枝状(或星形)架构,其各自具有或不具有一个或多个可降解的连接。此外,所述水溶性聚合物的内部结构可以以任何数量的不同重复模式来组织,并且可以选自均聚物、交替共聚物、无规共聚物、嵌段共聚物、交替三聚物、无规三聚物和嵌段三聚物。

[0157] PEG通常将包含许多(OCH₂CH₂)单体[或(CH₂CH₂O)单体,这取决于如何定义PEG]。如本文所用,重复单元的数目由“(OCH₂CH₂)_n”中的下标“n”标识。因此,(n)的值通常落入以下范围中的一个或多个:2至约3400、约100至约2300、约100至约2270、约136至约2050、约225至约1930、约450至约1930、约1200至约1930、约568至约2727、约660至约2730、约795至约2730、约795至约2730、约909至约2730、以及约1,200至约1,900。对于分子量已知的任何给定聚合物,可以通过用聚合物的总重均分子量除以重复单体的分子量来确定重复单元的数量(即,“n”)。

[0158] 在一些情况下,PEG是封端聚合物,即至少一个末端用相对惰性的基团(如低级C₁₋₆烷氧基或羟基)封端的聚合物。当所述聚合物是PEG时,例如,可以使用甲氧基-PEG(通常称为mPEG),其是PEG的线性形式,其中聚合物的一个末端是甲氧基(-OCH₃)基团,而另一个末

端是羟基或可以被任选地化学修饰的其他官能团。

[0159] 在一些实施方案中,构成本文公开的IL-15缀合物的PEG基团是线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,PEG基团是线性PEG基团。在一些实施方案中,PEG基团是分支PEG基团。在一些实施方案中,PEG基团是甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,PEG基团是线性或分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,PEG基团是线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,PEG基团是分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有从约100道尔顿至约150,000道尔顿的平均分子量的线性或分支PEG基团。示范性范围包括例如在大于5,000道尔顿至约100,000道尔顿范围内、在从约6,000道尔顿至约90,000道尔顿范围内、在从约10,000道尔顿至约85,000道尔顿范围内、在大于10,000道尔顿至约85,000道尔顿范围内、在从约20,000道尔顿至约85,000道尔顿范围内、在从约53,000道尔顿至约85,000道尔顿范围内、在从约25,000道尔顿至约120,000道尔顿范围内、在从约29,000道尔顿至约120,000道尔顿范围内、在从约35,000道尔顿至约120,000道尔顿范围内和在从约40,000道尔顿至约120,000道尔顿范围内的重均分子量。所述PEG基团的示范性重均分子量包括约100道尔顿、约200道尔顿、约300道尔顿、约400道尔顿、约500道尔顿、约600道尔顿、约700道尔顿、约750道尔顿、约800道尔顿、约900道尔顿、约1,000道尔顿、约1,500道尔顿、约2,000道尔顿、约2,200道尔顿、约2,500道尔顿、约3,000道尔顿、约4,000道尔顿、约4,400道尔顿、约4,500道尔顿、约5,000道尔顿、约5,500道尔顿、约6,000道尔顿、约7,000道尔顿、约7,500道尔顿、约8,000道尔顿、约9,000道尔顿、约10,000道尔顿、约11,000道尔顿、约12,000道尔顿、约13,000道尔顿、约14,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约22,500道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿、约50,000道尔顿、约55,000道尔顿、约60,000道尔顿、约65,000道尔顿、约70,000道尔顿、约75,000道尔顿、约80,000道尔顿、约90,000道尔顿、约95,000道尔顿和约100,000道尔顿。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有如上文所公开的平均分子量的线性PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有如上文所公开的平均分子量的分支PEG基团。在一些实施方案中,构成本文公开的IL-15缀合物的PEG基团是具有限定的分子量 $\pm 10\%$ 或 15% 或 20% 或 25% 的线性或分支PEG基团。例如,本公开文本的范围内包括包含分子量为30,000Da \pm 3000Da、或30,000Da \pm 4,500Da、或30,000Da \pm 6,000Da的PEG基团的IL-15缀合物。

[0160] 在一些实施方案中,构成本文公开的IL-15缀合物的PEG基团是具有从约5,000道尔顿至约60,000道尔顿的平均分子量的线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约5,500道尔顿、约6,000道尔顿、约7,000道尔顿、约7,500道尔顿、约8,000道尔顿、约9,000道尔顿、约10,000道尔顿、约11,000道尔顿、约12,000道尔顿、约13,000道尔顿、约14,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约22,500道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿、约50,000道尔顿、约55,000道尔顿、约60,000道尔顿、约65,000道尔顿、约70,000道尔顿、约75,000道尔顿、约80,000道尔顿、约90,000道尔顿、约95,000道尔顿和约100,000道尔顿的平均分子量的线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的线性或分支PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的线性或分支PEG

基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的线性PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的分支PEG基团。

[0161] 在一些实施方案中,构成本文公开的IL-15缀合物的PEG基团是具有从约5,000道尔顿至约60,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约5,500道尔顿、约6,000道尔顿、约7,000道尔顿、约7,500道尔顿、约8,000道尔顿、约9,000道尔顿、约10,000道尔顿、约11,000道尔顿、约12,000道尔顿、约13,000道尔顿、约14,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约22,500道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿、约50,000道尔顿、约55,000道尔顿、约60,000道尔顿、约65,000道尔顿、约70,000道尔顿、约75,000道尔顿、约80,000道尔顿、约90,000道尔顿、约95,000道尔顿和约100,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约10,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约20,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约30,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约50,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约60,000道尔顿的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,构成本文公开的IL-15缀合物的PEG基团是有限定的分子量 $\pm 10\%$ 或 15% 或 20% 或 25% 的线性甲氧基PEG基团。例如,本公开文本的范围内包括包含具有 $30,000\text{Da} \pm 3000\text{Da}$ 、或 $30,000\text{Da} \pm 4,500\text{Da}$ 、或 $30,000\text{Da} \pm 6,000\text{Da}$ 的分子量的线性甲氧基PEG基团的IL-15缀合物。

[0162] 在一些实施方案中是IL-15缀合物,其中n在存在时是从100至约1150、或从约100至约1100、或从约100至约1000、或从约100至约900、或从约100至约750、或从约100至约700、或从约100至约600、或从约100至约575、或从约100至约500、或从约100至约450、或从约100至约350、或从约100至约275、或从约100至约230、或从约150至约475、或从约150至约340、或从约113至约340、或从约450至约800、或从约454至约796、或从约454至约682、或从约340至约795、或从约341至约682、或从约568至约909、或从约227至约1500、或从约225至约2280、或从约460至约2160、或从约460至约2050、或从约341至约1820、或从约341至约1710、或从约341至约1250、或从约225至约1250、或从约341至约1250、或从约341至约1136、或从约341至约1023、或从约341至约910、或从约341至约796、或从约341至约682、或从约341至约568、或从约114至约1000、或从约114至约950、或从约114至约910、或从约114至约800、或从约114至约690、或从约114至约575的整数。在一些实施方案中是IL-15缀合物,其

中n在存在时是选自2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545和4546的整数。

[0163] 在一些实施方案中,构成本文公开的IL-15缀合物的PEG基团是具有从约5,000道尔顿至约60,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约5,500道尔顿、约6,000道尔顿、约7,000道尔顿、约7,500道尔顿、约8,000道尔顿、约9,000道尔顿、约10,000道尔顿、约11,000道尔顿、约12,000道尔顿、约13,000道尔顿、约14,000道尔顿、约15,000道尔顿、约20,000道尔顿、约22,500道尔顿、约25,000道尔顿、约30,000道尔顿、约35,000道尔顿、约40,000道尔顿、约45,000道尔顿、约50,000道尔顿、约55,000道尔顿、约60,000道尔顿、约65,000道尔顿、约70,000道尔顿、约75,000道尔顿、约80,000道尔顿、约90,000道尔顿、约95,000道尔顿和约100,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿、约10,000道尔顿、约20,000道尔顿、约30,000道尔顿、约50,000道尔顿或约60,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约5,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约10,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约20,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约30,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约50,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,所述PEG基团是具有约60,000道尔顿的平均分子量的分支甲氧基PEG基团。在一些实施方案中,构成本文公开的IL-15缀合物的PEG基团是有限定的分子量 $\pm 10\%$ 或 15% 或 20% 或 25% 的分支甲氧基PEG基团。例如,本公开文本的范围内包括包含具有 $30,000\text{Da} \pm 3000\text{Da}$ 、或 $30,000\text{Da} \pm 4,500\text{Da}$ 、或 $30,000\text{Da} \pm 6,000\text{Da}$ 的分子量的分支甲氧基PEG基团的IL-15缀合物。

[0164] 在一些实施方案中,示例性PEG基团包括但不限于来自Quanta Biodesign,Ltd的线性或分支的离散PEG (dPEG);来自Nektar Therapeutics的线性、分支或叉状PEG;以及来自JenKem Technology的Y形PEG衍生物。

[0165] 在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽包含至少一种非天然氨基酸,其中所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是在选择性降低IL-15多肽与白介素15受体 α (IL-15R α)的结合亲和力的残基位置处。在一些实施方案中,结合亲和力的降低是相对于野生型IL-15多肽与IL-15R α 之间的结合亲和力。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽与IL-15R α 的结合不影响经修饰的IL-15多肽与白介素2/白介素15受体 $\beta\gamma$ (IL-2/IL-15R $\beta\gamma$)的相互作用或

改善了经修饰的IL-15多肽与IL-2/IL-15R β γ 的相互作用。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自D22、A23、T24、L25、Y26、L44、E46、Q48、V49、E53、E89、E90和E93,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自Y26、E46、V49、E53和L25,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自A23、T24、E89和E93,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自D22、L44、Q48和E90,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是Y26。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是E46。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是V49。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是E53。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是L25。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽还包含PEG。在一些情形下,PEG在选自D22、A23、T24、L25、Y26、L44、E46、Q48、V49、E53、E89、E90和E93的残基位置处缀合。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽还包含用于增加半衰期的PEG。在一些情形下,所述PEG在选自E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、S51、L52、S54、G55、D56、A57、S58、H60、V63、I67、N71、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、L91、E92、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101和F110的残基位置处缀合,以增加半衰期。在一些情形下,PEG在选自N71、N72和N77的残基位置处缀合。在一些情形下,与PEG缀合的残基突变为天然氨基酸。在其他情况下,与PEG缀合的残基突变为非天然氨基酸。在另外的情形下,N71、N72或N77处的突变进一步改善了CMC状况(例如,产量、纯度、稳定性、减少的聚集和/或改善的蛋白质折叠)、效力或其组合。

[0166] 在一些情况下,经修饰的IL-15多肽包含至少一种非天然氨基酸,其中所述至少一种非天然氨基酸是在选择性降低经修饰的IL-15多肽与IL-2/IL-15R β 、IL-15R γ 或其组合的结合亲和力的残基位置处。在一些实施方案中,经修饰的IL-15对与IL-15R α 的相互作用具有很少或没有影响。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N1、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E28、S29、D30、V31、H32、P33、D61、T62、E64、N65、I68、L69、N72、S102、V104、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸是在选择性降低经修饰的IL-15多肽与IL-2/IL-15R β 的结合亲和力的残基位置处。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N1、N4、S7、D8、K11、D61、T62、E64、N65、I68、L69和N72,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N4、S7、K11和D61。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自D8、E64、N65、I68和N72。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N1、T62和L69。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是N4。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S7。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是K11。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是D61。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸是在选择性降低经修饰的IL-15多肽与IL-2/IL-15R γ 的结合亲和力的残基位置处。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自V3、I6、K10、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S102、V104、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和

S114,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自V3、K10、S29、D30、H32、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E28、P33、S102和V104。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自I6和V31。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是V3。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是K10。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S29。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是D30。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是H32。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是H105。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是Q108。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是M109。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是I111。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是N112。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是T113。在一些情况下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S114。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽还包含PEG。在一些情形下,PEG在选自N1、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E28、S29、D30、V31、H32、P33、D61、T62、E64、N65、I68、L69、N72、S102、V104、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114的残基位置处缀合。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽还包含用于增加半衰期的PEG。在一些情形下,PEG在选自E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、S51、L52、S54、G55、D56、A57、S58、H60、V63、I67、N71、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、L91、E92、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101和F110的残基位置处缀合,以增加半衰期。在一些情形下,PEG在选自N71、N72和N77的残基位置处缀合。在一些情形下,与PEG缀合的残基突变为天然氨基酸。在其他情况下,与PEG缀合的残基突变为非天然氨基酸。在另外的情形下,N71、N72或N77处的突变进一步改善了CMC状况(例如,产量、纯度、稳定性、减少的聚集和/或改善的蛋白质折叠)、效力或其组合。

[0167] 在一些情形下,经修饰的IL-15多肽包含至少一种非天然氨基酸,其中所述至少一种非天然氨基酸是在不影响经修饰的IL-15多肽与IL-15R α 和IL-15R β γ 的结合亲和力的残基位置处。在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽还包含用于增加半衰期的PEG。在一些实施方案中,经修饰的IL-15包含PEG,其中生物活性没有变化。在一些实施方案中,所述残基被修饰以延长半衰期。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、S51、L52、S54、G55、D56、A57、S58、H60、V63、I67、N71、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、L91、E92、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101和F110,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自D14、Q17、S18、K41、S51、L52、G55、D56、A57、S58、S75、S76、N77、N79、V80、T81、S83、G84、E92、K94、N95、K97和E98,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自E13、L15、M19、H20、K36、V37、T38、S54、H60、I67、N71、G78、K86、E87和Q101,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自I21、S34、C35、L44、V63、S73、L74、E82、C85、C88、L91、I96、L100和F110,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N71、

N72和N77,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置选自N77和S83。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是D14。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是Q17。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S18。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是K41。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S51。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是L52。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是G55。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是D56。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是A57。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S58。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S75。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S76。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是N77。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是N79。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是V80。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是T81。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是S83。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是G84。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是E92。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是K94。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是N95。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是K97。在一些实施方案中,所述至少一种非天然氨基酸的残基位置是E98。在一些情形下,N71、N72或N77处的突变包括天然氨基酸的突变。在一些情形下,N71、N72或N77处的突变进一步改善了CMC状况(例如,产量、纯度、稳定性、减少的聚集和/或改善的蛋白质折叠)、效力或其组合。

[0168] 在一些实施方案中,包含至少一种非天然氨基酸的IL-15多肽进一步与缀合部分缀合以产生IL-15缀合物。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸的氨基酸位置是在N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、T27、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、A39、K41、L44、L45、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113或S114处,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些情形下,所述至少一种非天然氨基酸的氨基酸位置是在N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113或S114处。在一些情形下,缀合部分与所述至少一种非天然氨基酸结合。在一些情形下,缀合部分与N末端或C末端氨基酸残基结合。在一些情况下,缀合部分与所述至少一种非天然氨基酸或末端残基直接结合。在其他情况下,缀合部分经由下文描述的接头与所述至少一种非天然氨基酸或末端残基间接结合。

[0169] 在一些实施方案中,相对于野生型IL-15多肽,IL-15多肽或IL-15缀合物对IL-15受体 α (IL-15R α) 亚基的亲合力降低约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%。在一些实施方案中,亲合力降低约10%。在一些实施方案中,亲合力降低约20%。在一些实施方案中,亲合力降低约40%。在一些实施方案中,亲合力降低约50%。在一些实施方案中,亲合力降低约60%。在一些实施方案中,亲合力降低约80%。在一些实施方案中,亲合力降低约90%。在一些实施方案中,亲合力降低约95%。在一些实施方案中,亲合力降低100%。

[0170] 在一些实施方案中,相对于野生型IL-15多肽,IL-15多肽或IL-15缀合物对IL-15受体 α (IL-15R α) 亚基的亲合力降低约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多倍。在一些实施方案中,亲合力降低约1倍。在一些实施方案中,亲合力降低约2倍。在一些实施方案中,亲合力降低约4倍。在一些实施方案中,亲合力降低约5倍。在一些实施方案中,亲合力降低约6倍。在一些实施方案中,亲合力降低约8倍。在一些实施方案中,亲合力降低约10倍。

[0171] 在一些实施方案中,IL-15多肽或IL-15缀合物不与IL-15R α 相互作用。

[0172] 在一些实施方案中,相对于野生型IL-15多肽,IL-15多肽或IL-15缀合物对IL-2受体 (IL-2R) 亚基的亲合力降低约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%。在一些实施方案中,IL-2R亚基是IL-2R β γ 。在一些实施方案中,亲合力降低约10%。在一些实施方案中,亲合力降低约20%。在一些实施方案中,亲合力降低约40%。在一些实施方案中,亲合力降低约50%。在一些实施方案中,亲合力降低约60%。在一些实施方案中,亲合力降低约80%。在一些实施方案中,亲合力降低约90%。在一些实施方案中,亲合力降低约95%。在一些实施方案中,亲合力降低100%。

[0173] 在一些实施方案中,相对于野生型IL-15多肽,IL-15多肽或IL-15缀合物对IL-2受体 (IL-2R) 亚基的亲合力降低约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多倍。在一些实施方案中,IL-2R亚基是IL-2R β γ 。在一些实施方案中,亲合力降低约1倍。在一些实施方案中,亲合力降低约2倍。在一些实施方案中,亲合力降低约4倍。在一些实施方案中,亲合力降低约5倍。在一些实施方案中,亲合力降低约6倍。在一些实施方案中,亲合力降低约8倍。在一些实施方案中,亲合力降低约10倍。

[0174] 在一些实施方案中,IL-15多肽或IL-15缀合物不与IL-2R α 相互作用。

[0175] 在一些实施方案中,IL-15多肽或IL-15缀合物具有延长的半衰期。在一些情况下,将延长的半衰期与野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期进行比较。

[0176] 在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少90分钟、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、18小时、24小时、36小时、48小时、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、14天、21天、28天、30天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少90分钟或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少2小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少3小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的

半衰期长至少4小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少5小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少6小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少10小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少12小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少18小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少24小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少36小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少48小时或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少3天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少4天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少5天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少6天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少7天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少10天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少12天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少14天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少21天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少28天或更久。在一些情形下,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期比野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期长至少30天或更久。

[0177] 在一些情形下,与野生型IL-15蛋白或野生型IL-15缀合物的半衰期相比,IL-15多肽或IL-15缀合物的延长的半衰期为约4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、18小时、24小时、36小时、48小时、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、14天、21天、28天或30天。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约90分钟的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约2小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约3小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约4小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约5小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约6小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约7小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约8小时的延长的半衰期。

期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约9小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约10小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约11小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约12小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约18小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约24小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约36小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约48小时的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约3天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约4天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约5天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约6天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约7天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约10天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约12天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约14天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约21天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约28天的延长的半衰期。在一些情形下,具有生物活性的IL-15多肽或IL-15缀合物具有约30天的延长的半衰期。

[0178] 在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽保留与白介素15受体 $\beta\gamma$ (IL-15R $\beta\gamma$) 信号传导复合物的显著信号传导效力。在一些情形下,将所述信号传导效力与野生型IL-15多肽与IL-15R $\beta\gamma$ 之间的信号传导效力进行比较。在一些情形下,经修饰的IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ 复合物与野生型IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ 复合物之间的受体信号传导效力的差异小于1000倍、小于500倍、小于200倍、小于100倍、小于50倍、小于10倍、小于5倍、小于4倍、小于3倍、小于2倍或小于1倍。在一些情形下,经修饰的IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ 复合物与野生型IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ 复合物之间的受体信号传导效力的差异大于10倍、大于20倍、大于30倍、大于40倍、大于50倍、大于100倍、大于200倍、大于300倍、大于400倍或大于500倍。在一些情况下,经修饰的IL-15多肽是部分激动剂,例如激活受体(例如,IL-15 $\beta\gamma$ 信号传导复合物)但相对于完全激动剂在受体上仅具有部分功效的激动剂。在一些情况下,经修饰的IL-15多肽是完全激动剂,例如以最大反应激活受体(例如IL-15 $\beta\gamma$ 信号传导复合物)的激动剂。

[0179] 在一些情况下,通过EC50值来衡量受体信号传导效力。在一些情况下,经修饰的IL-15多肽提供的EC50值与野生型IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ 复合物的EC50值相差小于1000倍、小于500倍、小于200倍、小于100倍、小于50倍、小于10倍、小于5倍、小于4倍、小于3倍、小于2倍或小于1倍。在一些情况下,经修饰的IL-15多肽提供的EC50值与野生型IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ 复合物的EC50值相差大于10倍、大于20倍、大于30倍、大于40倍、大于50倍、大于100倍、大于200倍、大于300倍、大于400倍或大于500倍。

[0180] 在一些情况下,通过ED50值来衡量受体信号传导效力。在一些情况下,经修饰的IL-15多肽提供的ED50值与野生型IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ 复合物的EC50值相差小于1000倍、小于500倍、小于200倍、小于100倍、小于50倍、小于10倍、小于5倍、小于4倍、小于3倍、小于2倍或

小于1倍。在一些情况下,经修饰的IL-15多肽提供的ED50值与野生型IL-15/IL-15R β γ 复合物的EC50值相差大于10倍、大于20倍、大于30倍、大于40倍、大于50倍、大于100倍、大于200倍、大于300倍、大于400倍或大于500倍。

[0181] 在一些实施方案中,在化学、制造和控制(CMC)阶段期间,IL-15多肽被修饰(例如,聚乙二醇化)以延长半衰期、改善稳定性、改善纯化产率、改善纯度、减少聚集、改善蛋白质折叠或其组合。在一些情形下,IL-15多肽在氨基酸位置:N71、N72或N77处被修饰,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些情形下,在CMC阶段期间,IL-15多肽在残基N77处被修饰(例如,经由聚乙二醇化)以延长半衰期、改善稳定性、改善纯化产率、改善纯度、减少聚集、改善蛋白质折叠或其组合。在一些情形下,IL-15多肽在位置N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113或S114处被进一步修饰。在一些情形下,IL-15多肽在位置D22、A23、T24、L25、Y26、L44、E46、Q48、V49、E53、E89、E90或E93处被进一步修饰,其中所述修饰削弱与IL-15R α 的相互作用。在一些情形下,IL-15多肽在位置N1、N4、S7、D8、K11、D61、T62、E64、N65、I68、L69或N72处被进一步修饰,其中所述修饰削弱与IL-15R β 的相互作用。在一些情形下,IL-15多肽在位置V3、I6、K10、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S102、V104、H105、Q108、M109、I111、N112、T113或S114处被进一步修饰,其中所述修饰削弱与IL-15R γ 的相互作用。在一些情形下,IL-15多肽在位置E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、S51、L52、S54、G55、D56、A57、S58、H60、V63、I67、N71、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、L91、E92、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101或F110处被进一步修饰,其中所述修饰改善半衰期延长。在一些情形下,IL-15多肽在以上位置中的一个或多个处被进一步修饰,以削弱与IL-15R α 的相互作用、削弱与IL-15R β 的相互作用、削弱与IL-15R γ 的相互作用,改善半衰期延长或其组合。

IL-15缀合物前体

[0182] 本文公开了IL-15缀合物前体,其包含经修饰的IL-15多肽,其中一个或多个氨基酸已经从野生型氨基酸突变。此类前体通常与本文公开的方法一起用于治疗疾病或病症。在一些实施方案中,IL-15前体是未缀合的。此类突变不同地包括添加、缺失或取代。在一些情形下,所述添加包括在IL-15多肽的N末端、C末端或内部区域处包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个残基。在另外的情形下,所述缺失包括从IL-15多肽的N末端、C末端或在其内部区域内去除1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个残基。

天然和非天然氨基酸

[0183] 在一些实施方案中,在与缀合部分结合(或反应)之前,本文公开的氨基酸残基(例如,在IL-15多肽内)突变为赖氨酸、半胱氨酸、组氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸。例如,赖氨酸、半胱氨酸、组氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸的侧链可以与本文公开的缀合部分结合。在一些情况下,氨基酸残基突变为半胱氨酸、赖氨酸或组氨酸。在一些情形下,氨基酸残基突变为半胱氨酸。在一些情形下,氨基

酸残基突变为赖氨酸。在一些情形下,氨基酸残基突变为组氨酸。在一些情形下,氨基酸残基突变为酪氨酸。在一些情形下,氨基酸残基突变为色氨酸。在一些情况下,氨基酸残基位于N-或C末端的近端、在N-或C末端处或在内部残基位置处。在一些情况下,氨基酸残基是N末端或C末端残基,并且突变是半胱氨酸或赖氨酸。在一些情况下,氨基酸残基位于N末端或C末端残基的近端(例如,从N末端或C末端残基起的50、40、30、20或10个残基内),并且突变为半胱氨酸或赖氨酸。

[0184] 在一些情况下,将氨基酸残基添加至N末端或C末端残基,即IL-15多肽在N末端或C末端处包含另外的氨基酸残基,并且所述另外的氨基酸残基是半胱氨酸或赖氨酸。在一些情形下,所述另外的氨基酸残基是半胱氨酸。在一些情形下,所述另外的氨基酸与缀合部分缀合。

[0185] 在一些实施方案中,本文所述的氨基酸残基(例如,在IL-15多肽内)突变为非天然氨基酸。在一些实施方案中,非天然氨基酸不与缀合部分缀合。在一些实施方案中,本文公开的IL-15多肽包含非天然氨基酸,其中IL-15与蛋白质缀合,其中附接点不是所述非天然氨基酸。

[0186] 在一些实施方案中,在与缀合部分结合之前,本文公开的氨基酸残基(例如,在IL-15多肽内)突变为非天然氨基酸。在一些情形下,突变为非天然氨基酸防止或最小化免疫系统的自身抗原反应。如本文所用,术语“非天然氨基酸”是指除蛋白质中天然存在的20种氨基酸之外的氨基酸。非天然氨基酸的非限制性例子包括:对-乙酰基-L-苯丙氨酸、对-碘-L-苯丙氨酸、对-甲氧基苯丙氨酸、0-甲基-L-酪氨酸、对-炔丙基氧基苯丙氨酸、对-炔丙基-苯丙氨酸、L-3-(2-萘基)丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、0-4-烯丙基-L-酪氨酸、4-丙基-L-酪氨酸、三-0-乙酰基-GlcNAcp-丝氨酸、L-多巴、氟化苯丙氨酸、异丙基-L-苯丙氨酸、对-叠氮基-L-苯丙氨酸、对-酰基-L-苯丙氨酸、对-苯甲酰基-L-苯丙氨酸、对-硼酸基苯丙氨酸、0-炔丙基酪氨酸、L-磷酸丝氨酸、磷酰丝氨酸、磷酰酪氨酸、对-溴苯丙氨酸、硒代半胱氨酸、对-氨基-L-苯丙氨酸、异丙基-L-苯丙氨酸、N6-[(2-叠氮基乙氧基)羰基]-L-赖氨酸(AzK)、酪氨酸氨基酸的非天然类似物;谷氨酰胺氨基酸的非天然类似物;苯丙氨酸氨基酸的非天然类似物;丝氨酸氨基酸的非天然类似物;苏氨酸氨基酸的非天然类似物;烷基、芳基、酰基、叠氮基、氰基、卤素、肼、酰肼、羟基、烯基、炔基、醚、硫醇、磺酰基、硒代、酯、硫代酸、硼酸盐、硼酸酯、磷酸、磷酰、磷化氢、杂环、烯酮、亚胺、醛、羟胺、酮或氨基取代的氨基酸或其组合;具有可光活化的交联剂的氨基酸;自旋标记的氨基酸;荧光氨基酸;金属结合氨基酸;含金属的氨基酸;放射性氨基酸;光笼化和/或光异构化氨基酸;含有生物素或生物素类似物的氨基酸;含有酮的氨基酸;包含聚乙二醇或聚醚的氨基酸;重原子取代的氨基酸;化学可裂解或可光裂解的氨基酸;具有延长的侧链的氨基酸;含有毒性基团的氨基酸;糖取代的氨基酸;碳连接的含糖氨基酸;氧化还原活性氨基酸;含 α -羟基的酸;氨基硫代酸; α , α 二取代氨基酸; β -氨基酸;除脯氨酸或组氨酸之外的环状氨基酸,以及除苯丙氨酸、酪氨酸或色氨酸之外的芳族氨基酸。

[0187] 在一些实施方案中,非天然氨基酸包含选择性反应性基团,或用于位点选择性标记靶多肽的反应性基团。在一些情况下,化学是双正交反应(例如,生物相容性和选择性反应)。在一些情形下,化学是Cu(I)催化或“无铜”炔-叠氮三唑形成反应、施陶丁格连接(Staudinger ligation)、反电子需求的迪尔斯-阿尔德(inverse-electron-demand

Diels-Alder, IEDDA) 反应、“光-点击”化学或金属介导的过程(如烯炔复分解和铃木-宫浦(Suzuki-Miyaura)或菌头(Sonogashira)交叉偶联)。

[0188] 在一些实施方案中,非天然氨基酸包含光反应性基团,所述光反应性基团在用例如UV辐照时交联。

[0189] 在一些实施方案中,非天然氨基酸包括光笼化氨基酸。

[0190] 在一些情况下,非天然氨基酸是对位取代、间位取代或邻位取代的氨基酸衍生物。

[0191] 在一些情况下,非天然氨基酸包括对-乙酰基-L-苯丙氨酸、对-叠氮基甲基-L-苯丙氨酸(pAMF)、对-碘-L-苯丙氨酸、O-甲基-L-酪氨酸、对-甲氧基苯丙氨酸、对-炔丙基氧基苯丙氨酸、对-炔丙基-苯丙氨酸、L-3-(2-萘基)丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、O-4-烯丙基-L-酪氨酸、4-丙基-L-酪氨酸、三-O-乙酰基-GlcNAc₆-丝氨酸、L-多巴、氟化苯丙氨酸、异丙基-L-苯丙氨酸、对-叠氮基-L-苯丙氨酸、对-酰基-L-苯丙氨酸、对-苯甲酰基-L-苯丙氨酸、L-磷酸丝氨酸、膦酰丝氨酸、膦酰酪氨酸、对-溴苯丙氨酸、对-氨基-L-苯丙氨酸或异丙基-L-苯丙氨酸。

[0192] 在一些情形下,非天然氨基酸是3-氨基酪氨酸、3-硝基酪氨酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸或3-碘酪氨酸。

[0193] 在一些情形下,非天然氨基酸是苯基硒代半胱氨酸。

[0194] 在一些情况下,非天然氨基酸是含二苯甲酮、酮、碘化物、甲氧基、乙酰基、苯甲酰基或叠氮化物的苯丙氨酸衍生物。

[0195] 在一些情况下,非天然氨基酸是含二苯甲酮、酮、碘化物、甲氧基、乙酰基、苯甲酰基或叠氮化物的赖氨酸衍生物。

[0196] 在一些情况下,非天然氨基酸包含芳族侧链。

[0197] 在一些情况下,非天然氨基酸不包含芳族侧链。

[0198] 在一些情况下,非天然氨基酸包含叠氮基。

[0199] 在一些情况下,非天然氨基酸包含迈克尔(Michael)受体基团。在一些情况下,受体基团包含能够通过1,2-加成反应形成共价键的不饱和部分。在一些情况下,受体基团包括缺电子的烯炔或炔炔。在一些情况下,受体基团包括但不限于 α 、 β 不饱和的:酮、醛、亚砷、砷、腈、亚胺或芳族化合物。

[0200] 在一些情况下,非天然氨基酸是脱氢丙氨酸。

[0201] 在一些情况下,非天然氨基酸包含醛或酮基团。

[0202] 在一些情况下,非天然氨基酸是包含醛或酮基团的赖氨酸衍生物。

[0203] 在一些情况下,非天然氨基酸是在 β 、 γ 或 δ 位置处包含一个或多个O、N、Se或S原子的赖氨酸衍生物。在一些情况下,非天然氨基酸是在 γ 位置处包含O、N、Se或S原子的赖氨酸衍生物。

[0204] 在一些情况下,非天然氨基酸是赖氨酸衍生物,其中 ϵ N原子被氧原子替代。

[0205] 在一些情况下,非天然氨基酸是赖氨酸衍生物,其不是天然存在的经翻译后修饰的赖氨酸。

[0206] 在一些情况下,非天然氨基酸是包含侧链的氨基酸,其中从 α 位置起的第六个原子包含羰基。在一些情况下,非天然氨基酸是包含侧链的氨基酸,其中从 α 位置起的第六个原子包含羰基,并且从 α 位置起的第五个原子是氮。在一些情况下,非天然氨基酸是包含侧链

的氨基酸,其中从 α 位置起的第七个原子是氧原子。

[0207] 在一些情况下,非天然氨基酸是包含硒的丝氨酸衍生物。在一些情况下,非天然氨基酸是硒代丝氨酸(2-氨基-3-氢硒代丙酸)。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-3-((2-((3-(苄氧基)-3-氧丙基)氨基)乙基)硒基)丙酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-3-(苯基硒基)丙酸。在一些情况下,非天然氨基酸包含硒,其中硒的氧化导致形成包含烯烃的非天然氨基酸。

[0208] 在一些情况下,非天然氨基酸包含环辛炔基。

[0209] 在一些情况下,非天然氨基酸包含反式环辛烯基。

[0210] 在一些情况下,非天然氨基酸包含降冰片烯基。

[0211] 在一些情况下,非天然氨基酸包含环丙烯基。

[0212] 在一些情况下,非天然氨基酸包含二氮杂环丙烯基团。

[0213] 在一些情况下,非天然氨基酸包含四嗪基团。

[0214] 在一些情况下,非天然氨基酸是赖氨酸衍生物,其中侧链氮被氨甲酰化。在一些情况下,非天然氨基酸是赖氨酸衍生物,其中侧链氮被酰化。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[叔丁氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[叔丁氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-Boc-N6-甲基赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-乙酰基赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是吡咯赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-三氟乙酰基赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[苄氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[对-碘代苄氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[对-硝基苄氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-脯氨酰基赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[环戊基氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(环戊烷羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(四氢呋喃-2-羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(3-乙炔基四氢呋喃-2-羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[2-叠氮基环戊基氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-[(2-叠氮基乙氧基)羰基]赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[2-硝基苄氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-[[2-环辛炔基氧基]羰基]氨基己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(2-氨基丁-3-炔酰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-6-((2-氨基丁-3-炔酰基)氧基)己酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(烯丙氧基羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(丁烯基-4-氧羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(戊烯基-5-氧羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((丁-3-炔-1-基氧基)羰基)-赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((戊-4-炔-1-基氧基)羰基)-赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(噻唑烷-4-羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-8-氧代壬酸。在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-8-氧代辛酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(2-氧代乙酰基)赖氨酸。

[0215] 在一些情况下,非天然氨基酸是N6-丙酰基赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-丁酰基赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(丁-2-烯酰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((二环[2.2.1]庚-5-烯-2-基氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,

非天然氨基酸是N6-((螺[2.3]己-1-烯-5-基甲氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-(((4-(1-(三氟甲基)环丙-2-烯-1-基)苄基)氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((双环[2.2.1]庚-5-烯-2-基甲氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是半胱氨酸赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((1-(6-硝基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)乙氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((2-(3-甲基-3H-二氮杂环丙烯-3-基)乙氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((3-(3-甲基-3H-二氮杂环丙烯-3-基)丙氧基)羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((间硝基苄氧基)N6-甲基羰基)赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基甲氧基)羰基)-赖氨酸。在一些情况下,非天然氨基酸是N6-((环庚-3-烯-1-基氧基)羰基)-L-赖氨酸。

[0216] 在一些情况下,非天然氨基酸是2-氨基-3-((((苄氧基)羰基)氨基)甲基)硒基丙酸。

[0217] 在一些实施方案中,非天然氨基酸通过重构的琥珀、蛋白石或赭石终止密码子掺入IL-15多肽中。

[0218] 在一些实施方案中,非天然氨基酸通过4-碱基密码子掺入IL-15多肽中。

[0219] 在一些实施方案中,非天然氨基酸通过重构的稀有有义密码子或重构的常见的有义密码子掺入IL-15多肽中。

[0220] 在一些实施方案中,非天然氨基酸通过包含非天然核酸的合成密码子掺入IL-15多肽中。

[0221] 在一些情况下,非天然氨基酸通过正交的、经修饰的合成酶/tRNA对掺入IL-15中。此类正交对包含天然合成酶,所述天然合成酶能够用非天然氨基酸装载非天然tRNA,同时最小化a)其他内源氨基酸在非天然tRNA上以及b)非天然氨基酸在其他内源tRNA上的装载。此类正交对包含tRNA,所述tRNA能够通过非天然合成酶进行装载,同时避免通过内源性合成酶装载其他内源性氨基酸。在一些实施方案中,从各种生物体(如细菌、酵母、古细菌或人来源)鉴定出此类对。在一些实施方案中,正交合成酶/tRNA对包含来自单一生物体的组分。在一些实施方案中,正交合成酶/tRNA对包含来自两种不同的生物体的组分。在一些实施方案中,正交合成酶/tRNA对包含在修饰之前促进两个不同氨基酸翻译的组分。在一些实施方案中,正交合成酶是经修饰的丙氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的精氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的天冬酰胺合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的天冬氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的半胱氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的谷氨酰胺合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的谷氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的丙氨酸甘氨酸。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的组氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的亮氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的异亮氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的赖氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的甲硫氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的苯丙氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的脯氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的丝氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的苏氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的酪氨酸合成酶。在一

些实施方案中,正交合成酶是修饰的缬氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的磷酸丝氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的丙氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的精氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的天冬酰胺tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的天冬氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的半胱氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的谷氨酰胺tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的谷氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的丙氨酸甘氨酸。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的组氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的亮氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的异亮氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的赖氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的甲硫氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的苯丙氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的脯氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的丝氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的苏氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的色氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的酪氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的缬氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的磷酸丝氨酸tRNA。

[0222] 在一些实施方案中,非天然氨基酸通过氨酰基(aaRS或RS)-tRNA合成酶-tRNA对掺入IL-15多肽中。示范性aaRS-tRNA对包括但不限于詹氏甲烷球菌(*Methanococcus jannaschii*) (Mj-Tyr) aaRS/tRNA对、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌(*B. stearothermophilus*) tRNA_{CUA}对、大肠杆菌LeuRS (Ec-Leu) /嗜热脂肪芽孢杆菌tRNA_{CUA}对和吡咯赖氨酰-tRNA对。在一些情况下,通过Mj-TyrRS/tRNA对将非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL多肽)中。可以通过Mj-TyrRS/tRNA对掺入的示范性UAA包括但不限于对位取代的苯丙氨酸衍生物,如对-氨基苯丙氨酸和对-甲氧基苯丙氨酸;间位取代的酪氨酸衍生物,如3-氨基酪氨酸、3-硝基酪氨酸、3,4-二羟基苯丙氨酸和3-碘酪氨酸;苯基硒代半胱氨酸;对-硼酸基苯丙氨酸;和邻-硝基苄基酪氨酸。

[0223] 在一些情况下,非天然氨基酸通过Ec-Tyr/tRNA_{CUA}或Ec-Leu/tRNA_{CUA}对掺入IL-15多肽中。可以通过Ec-Tyr/tRNA_{CUA}或Ec-Leu/tRNA_{CUA}对掺入的示范性UAA包括但不限于含有苯甲酮、酮、碘化物或叠氮化物取代基的苯丙氨酸衍生物;0-炔丙基酪氨酸; α -氨基辛酸;0-甲基酪氨酸;0-硝基苄基半胱氨酸;和3-(萘-2-基氨基)-2-氨基-丙酸。

[0224] 在一些情况下,非天然氨基酸通过吡咯基-tRNA对掺入IL-15多肽中。在一些情形下,Py1RS获自古细菌,例如获自产甲烷的古细菌。在一些情形下,Py1RS获自巴氏甲烷八叠球菌(*Methanosarcina barkeri*)、马氏甲烷八叠球菌(*Methanosarcina mazei*)或乙酸甲烷八叠球菌(*Methanosarcina acetivorans*)。可以通过吡咯赖氨酰-tRNA对掺入的示范性UAA包括但不限于酰胺和氨基甲酸酯取代的赖氨酸,如2-氨基-6-(R)-四氢咪喃-2-甲酰胺基)己酸、N- ϵ -_D-脯氨酰基-L-赖氨酸和N- ϵ -环戊基氧基羰基-L-赖氨酸;N- ϵ -丙烯酰基-L-赖氨酸;N- ϵ -[(1-(6-硝基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)乙氧基)羰基]-L-赖氨酸;和N- ϵ -(1-甲基环丙-2-烯甲酰胺基)赖氨酸。

[0225] 在一些情况下,非天然氨基酸通过US 9,988,619和US 9,938,516中披露的合成酶掺入IL-15多肽中。可以通过此类合成酶掺入的示范性UAA包括对-甲基叠氨基-L-苯丙氨酸、芳烷基、杂环基、杂芳烷基非天然氨基酸等。在一些实施方案中,此类UAA包含吡啶基、吡嗪基、吡唑基、三唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基或其他杂环。在一些实施方案中,此类氨基酸

包含叠氮化物、四嗪或能够与偶联配偶体(如水溶性部分)缀合的其他化学基团。在一些实施方案中,此类合成酶被表达并用于将UAA在体内掺入细胞因子中。在一些实施方案中,使用无细胞翻译系统将此类合成酶用于将UAA掺入细胞因子中。

[0226] 在一些情况下,非天然氨基酸通过天然存在的合成酶掺入IL-15多肽中。在一些实施方案中,非天然氨基酸通过对于一个或多个氨基酸是营养缺陷型的生物体掺入细胞因子中。在一些实施方案中,对应于营养缺陷型氨基酸的合成酶能够将非天然氨基酸装载在相应的tRNA上。在一些实施方案中,非天然氨基酸是硒代半胱氨酸或其衍生物。在一些实施方案中,非天然氨基酸是硒代甲硫氨酸或其衍生物。在一些实施方案中,非天然氨基酸是芳族氨基酸,其中芳族氨基酸包含芳基卤化物,如碘化物。在实施方案中,非天然氨基酸在结构上与营养缺陷型氨基酸相似。

[0227] 在一些情况下,非天然氨基酸包括赖氨酸或苯丙氨酸衍生物或类似物。在一些情况下,非天然氨基酸包括赖氨酸衍生物或赖氨酸类似物。在一些情况下,非天然氨基酸包括吡咯赖氨酸(Py1)。在一些情况下,非天然氨基酸包括苯丙氨酸衍生物或苯丙氨酸类似物。在一些情况下,非天然氨基酸是Wan等人,“Pyrrolysyl-tRNA synthetase:an ordinary enzyme but an outstanding genetic code expansion tool,”*Biochim Biophys Acta* 1844 (6):1059-4070 (2014)中描述的非天然氨基酸。

[0228] 在一些实施方案中,掺入IL-15多肽中的非天然氨基酸在US 9,840,493;US 9,682,934;US 2017/0260137;US 9,938,516;或US 2018/0086734中披露。可以通过此类合成酶掺入的示例性UAA包括对-甲基叠氮基-L-苯丙氨酸、芳烷基、杂环基和杂芳烷基,以及赖氨酸衍生物非天然氨基酸。在一些实施方案中,此类UAA包含吡啶基、吡嗪基、吡唑基、三唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基或其他杂环。在一些实施方案中,此类氨基酸包含叠氮化物、四嗪或能够与偶联配偶体(如水溶性部分)缀合的其他化学基团。在一些实施方案中,UAA包含经由烷基接头附接至芳族部分的叠氮化物。在一些实施方案中,烷基接头是C₁-C₁₀接头。在一些实施方案中,UAA包含经由烷基接头附接至芳族部分的四嗪。在一些实施方案中,UAA包含经由氨基附接至芳族部分的四嗪。在一些实施方案中,UAA包含经由烷基氨基附接至芳族部分的四嗪。在一些实施方案中,UAA包含经由烷基链附接至氨基酸侧链的末端氮(例如,赖氨酸衍生物的N6,或包含较短烷基侧链的衍生物的N5、N4或N3)的叠氮化物。在一些实施方案中,UAA包含经由烷基链附接至氨基酸侧链的末端氮的四嗪。在一些实施方案中,UAA包含经由烷基接头附接至酰胺的叠氮化物或四嗪。在一些实施方案中,UAA是3-氨基丙氨酸、丝氨酸、赖氨酸或其衍生物的含有叠氮化物或四嗪的氨基甲酸酯或酰胺。在一些实施方案中,将此类UAA在体内掺入细胞因子中。在一些实施方案中,将此类UAA在无细胞系统中掺入细胞因子中。

缀合部分

[0229] 在某些实施方案中,本文公开了与上述一种或多种经修饰的IL-15多肽结合的缀合部分。在一些实施方案中,缀合部分是干扰IL-15与其受体相互作用的分子。在一些实施方案中,缀合部分是当与IL-15结合时能够使IL-15缀合物调节免疫应答的任何分子。在一些实施方案中,缀合部分通过共价键与IL-15结合。在一些情况下,本文所述的IL-15附接至具有三唑基团的缀合部分。在一些情况下,本文所述的IL-15附接至具有二氢吡嗪或吡嗪基团的缀合部分。在一些情况下,缀合部分包括水溶性聚合物。在其他情况下,缀合部分包括

蛋白质或其结合片段。在另外的情况下,缀合部分包括肽。在另外的情况下,缀合部分包括核酸。在另外的情况下,缀合部分包括小分子。在另外的情况下,缀合部分包括生物缀合物(例如,TLR激动剂,诸如TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8或TLR9激动剂;或合成配体,诸如Pam3Cys、CFA、MALP2、Pam2Cys、FSL-1、Hib-OMPC、聚肌苷酸:聚胞苷酸、聚腺苷酸:聚尿苷酸、AGP、MPL A、RC-529、MDF2 β 、CFA或鞭毛蛋白)。在一些情形下,缀合部分增加血清半衰期和/或改善稳定性。在一些情形下,缀合部分降低细胞因子与一个或多个细胞因子受体结构域或亚基的相互作用。在另外的情形下,缀合部分阻断IL-15与具有其一种或多种同源受体的一个或多个IL-15结构域或亚基的相互作用。在一些实施方案中,本文所述的IL-15缀合物包含多个缀合部分。在一些实施方案中,缀合部分附接至IL-15多肽中的非天然或天然氨基酸。在一些实施方案中,IL-15缀合物包含附接至天然氨基酸的缀合部分。在一些实施方案中,IL-15缀合物附接至细胞因子肽中的非天然氨基酸。在一些实施方案中,缀合部分附接至IL-15多肽的N或C末端氨基酸。本文公开了各种组合位点,例如,第一缀合部分附接至IL-15多肽中的非天然或天然氨基酸,并且第二缀合部分附接至IL-15多肽的N或C末端氨基酸。在一些实施方案中,单个缀合部分附接至IL-15多肽的多个残基(例如钉)。在一些实施方案中,缀合部分附接至IL-15多肽的N和C末端氨基酸两者。

使用方法

增殖性疾病或病症

[0230] 在一些实施方案中,本文描述了在有需要的受试者中治疗增殖性疾病或病症的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的IL-15缀合物。在一些实施方案中,IL-15缀合物包含经分离和纯化的IL-15多肽和缀合部分,其中相对于野生型IL-15多肽,所述IL-15缀合物对IL-15受体 α (IL-15R α)亚基具有降低的亲和力。在一些实施方案中,IL-15缀合物包含经分离和纯化的IL-15多肽;和在选自以下的氨基酸位置处与所述经分离和纯化的IL-15多肽结合的缀合部分:N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、T27、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、A39、K41、L44、L45、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114,其中所述氨基酸残基的编号对应于SEQ ID NO:1。在一些实施方案中,IL-15缀合物包含经分离和纯化的IL-15多肽;和在选自以下的氨基酸位置处与所述经分离和纯化的IL-15多肽结合的缀合部分:N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114。

[0231] 在一些实施方案中,IL-15缀合物优先与IL-15R β 和IL-15R β γ 亚基相互作用以形成IL-15/IL-15R β γ 复合物。在一些实施方案中,IL-15/IL-15R β γ 复合物刺激和/或增强Teff细胞(例如,CD8⁺Teff细胞)和/或NK细胞的扩增。在另外的情形下,Teff细胞的扩增使Teff:Treg比率偏向Teff群体。

[0232] 在一些实施方案中,增殖性疾病或病症是癌症。在一些实施方案中,所述癌症是实体瘤。在一些实施方案中,将本文所述的IL-15缀合物施用于有需要的受试者,用于治疗实体瘤。在此类情况下,受试者患有膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、结直肠癌、食道癌、眼癌、头颈癌、肾癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌或前列腺癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗膀胱癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗乳腺癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗结直肠癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗食道癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗头颈癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗肾癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗肺癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗黑色素瘤。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗卵巢癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗胰腺癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗前列腺癌。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗转移性癌症。在另外的情形下,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗复发性或难治性癌症。

[0233] 在一些实施方案中,所述癌症是恶性血液病。在一些实施方案中,将本文所述的IL-15缀合物施用于有需要的受试者,用于治疗恶性血液病。在一些实施方案中,所述受试者患有慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、华氏巨球蛋白血症、多发性骨髓瘤、结外边缘区B细胞淋巴瘤、结边缘区B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、非伯基特高级B细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤(PMBL)、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞淋巴瘤、B细胞前淋巴细胞性白血病、淋巴浆细胞性淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、浆细胞瘤、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤或淋巴瘤样肉芽肿病。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗CLL。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗SLL。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗FL。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗DLBCL。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗MCL。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗华氏巨球蛋白血症。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗多发性骨髓瘤。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗伯基特淋巴瘤。在一些实施方案中,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗转移性恶性血液病。在另外的情形下,将IL-15缀合物施用于受试者,用于治疗复发性或难治性恶性血液病。

[0234] 在一些实施方案中,将另外的治疗剂进一步施用于受试者。在一些实施方案中,将另外的治疗剂与IL-15缀合物同时施用。在其他情况下,依序施用另外的治疗剂和IL-15缀合物,例如,在另外的治疗剂之前施用IL-15缀合物,或者在施用另外的治疗剂之后施用IL-15缀合物。

[0235] 在一些实施方案中,另外的治疗剂包括化学治疗剂、免疫治疗剂、靶向疗法、放射疗法或其组合。说明性另外的治疗剂包括但不限于烷基化剂,如奥曲胺、白消安、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺、达卡巴嗪、洛莫司汀、美法仑、奥沙利铂、替莫唑胺或噻替帕;抗代谢物,如5-氟尿嘧啶(5-FU)、6-巯基嘌呤(6-MP)、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟

达拉滨、吉西他滨、羟基脲、甲氨蝶呤或培美曲塞；葱环类药物，如柔红霉素、阿霉素、表柔比星或伊达比星；拓扑异构酶I抑制剂，如拓扑替康或伊立替康(CPT-11)；拓扑异构酶II抑制剂，如依托泊苷(VP-16)、替尼泊苷或米托蒽醌；有丝分裂抑制剂，如多西他赛、雌莫司汀、伊沙匹隆、紫杉醇、长春碱、长春新碱或长春瑞滨；或皮质类固醇，如泼尼松、甲基泼尼松龙或地塞米松。

[0236] 在一些情形下，另外的治疗剂包括一线疗法。如本文所用，“一线疗法”包括对患有癌症的受试者的初级治疗。在一些情况下，癌症是原发性或局部性癌症。在其他情况下，癌症是转移性或复发性癌症。在一些情形下，一线疗法包括化学疗法。在其他情况下，一线治疗包括免疫疗法、靶向疗法或放射疗法。技术人员将容易理解，不同的一线治疗可以适用于不同类型的癌症。

[0237] 在一些实施方案中，将IL-15缀合物与选自以下的另外的治疗剂一起施用：烷基化剂，如奥曲胺、白消安、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺、达卡巴嗪、洛莫司汀、美法仑、奥沙利铂、替莫唑胺或噻替帕；抗代谢物，如5-氟尿嘧啶(5-FU)、6-巯基嘌呤(6-MP)、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟达拉滨、吉西他滨、羟基脲、甲氨蝶呤或培美曲塞；葱环类药物，如柔红霉素、阿霉素、表柔比星或伊达比星；拓扑异构酶I抑制剂，如拓扑替康或伊立替康(CPT-11)；拓扑异构酶II抑制剂，如依托泊苷(VP-16)、替尼泊苷或米托蒽醌；有丝分裂抑制剂，如多西他赛、雌莫司汀、伊沙匹隆、紫杉醇、长春碱、长春新碱或长春瑞滨；或皮质类固醇，如泼尼松、甲基泼尼松龙或地塞米松。

[0238] 在一些情况下，将本文所述的IL-15缀合物与酶聚ADP核糖聚合酶(PARP)的抑制剂一起施用。示例性PARP抑制剂包括但不限于奥拉帕尼(AZD-2281, Lynparza®，来自AstraZeneca)、卢卡帕尼(PF-01367338, Rubraca®，来自Clovis Oncology)、尼拉帕尼(MK-4827, Zejula®，来自Tesaro)、他佐帕利(BMN-673, 来自BioMarin Pharmaceutical Inc.)、维利帕利(ABT-888, 来自AbbVie)、CK-102(原CEP 9722, 来自Teva Pharmaceutical Industries Ltd.)、E7016(来自Eisai)、艾尼帕利(BSI 201, 来自Sanofi)和帕米帕尼(BGB-290, 来自BeiGene)。在一些情形下，将IL-15缀合物与PARP抑制剂(如奥拉帕尼、卢卡帕尼、尼拉帕尼、他佐帕利、维利帕利、CK-102, E7016、艾尼帕利或帕米帕尼)组合施用。

[0239] 在一些实施方案中，将本文所述的IL-15缀合物与酪氨酸激酶抑制剂(TKI)一起施用。示例性TKI包括但不限于阿法替尼、阿来替尼、阿昔替尼、博舒替尼、卡博替尼、塞利替尼、考比替尼、克唑替尼、达拉非尼、达沙替尼、厄洛替尼、吉非替尼、依鲁替尼、伊马替尼、拉帕替尼、仑伐替尼、尼罗替尼、宁特达尼、奥希替尼、帕唑帕尼、帕纳替尼、瑞拉非尼、卢利替尼、索拉非尼、舒尼替尼、托法替尼和万迪他尼。

[0240] 在一些情况下，将本文所述的IL-15缀合物与免疫检查点调节剂一起施用。示例性检查点调节剂包括：

[0241] PD-L1调节剂，如Genentech的MPDL3280A(RG7446)、来自Merck/Pfizer的阿维鲁单抗(Bavencio)；来自AstraZeneca的度伐单抗(Imfinzi)；来自BioXcell的抗小鼠PD-L1抗体克隆10F.9G2(目录号BE0101)；来自Bristol-Meyer's Squibb的抗PD-L1单克隆抗体MDX-1105(BMS-936559)、BMS-935559和BMS-986192；来自XytomX Therapeutics的MSB0010718C、小鼠抗PD-L1克隆29E.2A3、CX-072；来自Novartis Pharmaceuticals的FAZ053；来自3D Medicine的KN035；来自Eli Lilly的LY3300054，和AstraZeneca的MEDI4736；

[0242] PD-L2调节剂,如葛兰素史克(GlaxoSmithKline)的AMP-224(Amplimmune)和rHIgM12B7;

[0243] PD-1调节剂,如来自BioXcell的抗小鼠PD-1抗体克隆J43(目录号BE0033-2);来自BioXcell的抗小鼠PD-1抗体克隆RMP1-14(目录号BE0146);小鼠抗PD-1抗体克隆EH12;Merck的MK-3475抗小鼠PD-1抗体(Keytruda,派姆单抗,兰博利珠单抗(lambrolizumab));AnaptysBio的抗PD-1抗体(称为ANB011);抗体MDX-1 106(ONO-4538);Bristol-Myers Squibb的人IgG4单克隆抗体纳武单抗(Opdivo®,BMS-936558,MDX1106);AstraZeneca的AMP-514和AMP-224;来自Eli Lilly/Innovent Biologics的信迪利单抗(sintilimab)(IBI-308);来自Agenus的AGEN 2034;来自BeiGene的BGB-A317;来自Boehringer-Ingelheim Pharmaceuticals的B1-754091;来自CBT Pharmaceuticals的CBT-501(杰诺单抗(genolimzumab));来自Incyte的INCSHR1210;来自Janssen Research&Development的JNJ-63723283;来自MedImmune的MEDI0680;来自Novartis Pharmaceuticals的PDR001;来自Pfizer的PF-06801591;来自Regeneron Pharmaceuticals的REGN2810,来自CureTech Ltd的匹地利珠单抗(CT-011);和西米普利单抗。

[0244] CTLA-4调节剂,如Bristol Meyers Squibb的抗CTLA-4抗体伊匹单抗(也称为Yervoy®,MDX-010、BMS-734016和MDX-101);来自Millipore的抗CTLA4抗体克隆9H10;Pfizer的曲美利木单抗(CP-675,206,ticilimumab);来自Agenus的AGEN 1884,和来自Abcam的抗CTLA4抗体克隆BNI3;

[0245] LAG3调节剂,如来自eBioscience的抗Lag-3抗体克隆eBioC9B7W(C9B7W);来自LifeSpan Biosciences的抗Lag3抗体LS-B2237;来自Novartis Pharmaceuticals的IMP701和LAG525;来自Immutep的IMP321(ImmuFact);抗Lag3抗体BMS-986016;来自Bristol-Myers Squibb的BMS-986016;来自Regeneron Pharmaceuticals的REGN3767,和LAG-3嵌合抗体A9H12;

[0246] B7-H3调节剂,如MGA271;

[0247] KIR调节剂,如来自Bristol-Myers Squibb的利瑞鲁单抗(IPH2101);

[0248] CD137调节剂,如乌瑞鲁单抗(BMS-663513,Bristol-Myers Squibb)、PF-05082566(抗4-1BB,PF-2566,Pfizer),或XmAb-5592(Xencor);

[0249] PS调节剂,如巴韦妥昔单抗;

[0250] OX40调节剂,如来自Bristol-Myers Squibb的BMS-986178;来自GlaxoSmithKline的GSK3174998;来自Agenus的INCAGN1949;来自MedImmune的MEDI0562;来自Pfizer的PF-04518600,或来自Genentech的RG7888;

[0251] GITR调节剂,如来自Novartis Pharmaceuticals的GWN323;来自Agenus的INCAGN1876,或来自Leap Therapeutics的TRX518;

[0252] TIM3调节剂,如来自Novartis Pharmaceuticals的MBG453,或来自TESARO的TSR-042;

[0253] 和调节剂,如抗体或其片段(例如,单克隆抗体,人、人源化或嵌合抗体)、RNAi分子或CD52、CD30、CD20、CD33、CD27、ICOS、BTLA(CD272)、CD160、2B4、LAIR1、TIGHT、LIGHT、DR3、CD226、CD2或SLAM的小分子。

[0254] 在一些情况下,将IL-15缀合物与派姆单抗、纳武单抗、曲美利木单抗或伊匹单抗

组合施用。

[0255] 在一些情况下,将本文所述的IL-15缀合物与抗体(如阿仑单抗、曲妥珠单抗、替伊莫单抗、本妥昔单抗、ado-曲妥珠单抗emtansine或博纳吐单抗)一起施用。

[0256] 在一些情况下,将IL-15缀合物与选自抗VEGFR抗体的另外的治疗剂一起施用。示例性抗VEGFR抗体包括但不限于贝伐单抗或雷姆赛卢单抗。在一些情况下,IL-15缀合物增强了另外的治疗剂的ADCC作用。

[0257] 在一些情况下,将IL-15缀合物与选自西妥昔单抗、英加妥珠单抗、马妥珠单抗(EMD 72000)、托木妥昔单抗或帕尼单抗的另外的治疗剂一起施用。在一些情况下,IL-15缀合物增强了另外的治疗剂的ADCC作用。

[0258] 在一些情况下,将IL-15缀合物与选自另外的细胞因子(例如,天然细胞因子或工程化细胞因子,如聚乙二醇化和/或融合细胞因子)的另外的治疗剂一起施用。在一些情况下,另外的细胞因子增强和/或协同T效应细胞扩增和/或增殖。在一些情形下,另外的细胞因子包括IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-18、IL-21或TNF α 。在一些情形下,另外的细胞因子是IL-2。在一些情形下,另外的细胞因子是IL-21。在一些情形下,另外的细胞因子是IL-10。在一些情形下,另外的细胞因子是TNF α 。在一些实施方案中,IL-2细胞因子选自阿地白介素、NKTR-214或THOR-707。在一些实施方案中,IL-2细胞因子是阿地白介素。在一些实施方案中,IL-2细胞因子是NKTR-214。在一些实施方案中,IL-2细胞因子是THOR-707。

[0259] 在一些情况下,将IL-15缀合物与选自受体激动剂的另外的治疗剂一起施用。在一些情况下,受体激动剂包括Toll样受体(TLR)配体。在一些情形下,TLR配体包括TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8或TLR9。在一些情形下,TLR配体包括合成配体,如例如,Pam3Cys、CFA、MALP2、Pam2Cys、FSL-1、Hib-OMPC、聚I:C、聚A:U、AGP、MPL A、RC-529、MDF2 β 、CFA或鞭毛蛋白。在一些情形下,将IL-21缀合物与一种或多种选自TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8和TLR9的TLR激动剂一起施用。在一些情形下,将IL-15缀合物与一种或多种选自Pam3Cys、CFA、MALP2、Pam2Cys、FSL-1、Hib-OMPC、聚肌苷酸:聚胞苷酸、聚腺苷酸:聚尿苷酸、AGP、MPL A、RC-529、MDF2 β 、CFA和鞭毛蛋白的TLR激动剂一起施用。

[0260] 在一些实施方案中,将本文所述的IL-15缀合物与过继性T细胞转移(ACT)疗法结合使用。在一个实施方案中,ACT涉及在受试者中鉴定具有例如抗肿瘤活性的自体T淋巴细胞、在体外扩增自体T淋巴细胞、以及随后将经扩增的T淋巴细胞再输注到受试者中。在另一个实施方案中,ACT包括使用具有例如抗肿瘤活性的同种异体T淋巴细胞、在体外扩增T淋巴细胞、以及随后将经扩增的同种异体T淋巴细胞输注到有需要的受试者中。在一些实施方案中,将本文所述的IL-15缀合物作为ACT疗法的一部分与自体T淋巴细胞结合使用。在其他情况下,将本文所述的IL-15缀合物作为ACT疗法的一部分与同种异体T淋巴细胞结合使用。在一些实施方案中,将IL-15缀合物与ACT疗法同时施用于有需要的受试者。在其他情况下,将IL-15缀合物与ACT疗法依序施用于有需要的受试者。

[0261] 在一些实施方案中,本文所述的IL-15缀合物用于离体激活和/或扩增自体和/或同种异体T细胞转移。在此类情况下,IL-15缀合物用于激活和/或扩增包含自体和/或同种异体T细胞的样品,并且在将所述样品施用于有需要的受试者之前,任选地从所述样品中去除IL-15缀合物。

[0262] 在一些实施方案中,将本文所述的IL-15缀合物与疫苗一起施用。在一些情况下,

将IL-21缀合物与溶瘤病毒组合使用。在此类情况下,IL-21缀合物作为刺激剂来调节免疫应答。在一些情况下,将IL-21缀合物作为辅助疗法的一部分与溶瘤病毒一起使用。示例性溶瘤病毒包括T-Vec (Amgen)、G47 Δ (Todo等人)、JX-594 (Sillajen)、CG0070 (Cold Genesys) 和Reolysin (Oncolytics Biotech)。在一些情形下,将IL-21缀合物与溶瘤病毒(如T-Vec、G47 Δ 、JX-594、CG0070或Reolysin)组合使用。

[0263] 在一些实施方案中,将IL-15缀合物与放射疗法组合施用。

[0264] 在一些实施方案中,将IL-15缀合物与抗CD38单克隆抗体组合施用。在一些实施方案中,抗CD38抗体是达雷木单抗 (Darzalex)。

[0265] 在一些实施方案中,将IL-15缀合物与抗CD20抗体组合施用。在一些实施方案中,抗CD20抗体是利妥昔单抗。

细胞群扩增的方法

[0266] 在一些实施方案中,本文另外描述了扩增淋巴细胞群(例如,效应T (Teff) 细胞、记忆T (Tmem) 细胞和/或自然杀伤(NK) 细胞群体)的方法。在一些实施方案中,方法包括使细胞与本文所述的细胞因子缀合物接触,以及使细胞因子与细胞因子受体相互作用以形成复合物,其中所述复合物刺激不同的淋巴细胞群的扩增。

[0267] 在一些实施方案中,扩增效应T (Teff) 细胞、记忆T (Tmem) 细胞和/或自然杀伤(NK) 细胞群体的方法包括:(a) 使细胞与经修饰的IL-15多肽或IL-15缀合物接触;和使IL-15与IL-15R β 和IL-15R γ 亚基相互作用以形成IL-15/IL-15R β γ 复合物;其中IL-15缀合物对IL-15R α 亚基的亲合力降低,并且其中所述IL-15/IL-15R β γ 复合物刺激Teff、Tmem和NK细胞的扩增。如本文所述,在一些实施方案中,经修饰的IL-15多肽在选自N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、T27、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、A39、K41、L44、L45、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114的残基位置处包含至少一个经翻译后修饰的非天然氨基酸,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,残基位置选自N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114。在一些实施方案中,残基位置选自E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、S51、L52、S54、G55、D56、A57、S58、H60、V63、I67、N71、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、L91、E92、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101和F110。在一些实施方案中,残基位置选自D14、Q17、S18、K41、S51、L52、G55、D56、A57、S58、S75、S76、N77、N79、V80、T81、S83、G84、E92、K94、N95、K97和E98。在一些实施方案中,残基位置选自N1、N4、S7、D8、K11、D61、T62、E64、N65、I68、L69和N72。在一些实施方案中,残基位置选自V3、I6、K10、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S102、V104、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114。在一些

实施方案中,残基位置选自D22、A23、T24、L25、Y26、L44、E46、Q48、V49、E53、E89、E90和E93。在一些实施方案中,残基位置选自Y26、E46、V49、E53和L25。在一些实施方案中,残基位置选自V3、K10、S29、D30、H32、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114。在一些实施方案中,残基位置选自N4、S7、K11和D61。在一些实施方案中,残基位置选自L25、E53、N77和S83。在一些实施方案中,残基位置选自L25和E53。在一些实施方案中,残基位置选自E46、Y26、V49、E53、T24、N4、K11、N65、L69、S18、H20和S83。在一些实施方案中,残基位置选自E46、Y26、V49、E53和T24。在一些实施方案中,残基位置选自E46、V49、E53和T24。在一些实施方案中,残基位置选自Y26、V49、E53和T24。在一些实施方案中,残基位置选自V49、E53和T24。在一些实施方案中,残基位置选自E46和Y26。在一些实施方案中,残基位置是E46。在一些实施方案中,残基位置是L25。在一些实施方案中,残基位置是Y26。在一些实施方案中,残基位置是V49。在一些实施方案中,残基位置是E53。在一些实施方案中,残基位置是T24。在一些实施方案中,残基位置是N77。在一些实施方案中,残基位置是S83。

[0268] 在一些实施方案中,如本文所述,扩增效应T (Teff) 细胞、记忆T (Tmem) 细胞和/或自然杀伤(NK) 细胞群体的方法包括使细胞与IL-15缀合物接触。如本文所述,在一些实施方案中,白介素15 (IL-15) 缀合物包含:经分离和纯化的IL-15多肽;和在选自以下的氨基酸位置处与所述经分离和纯化的IL-15多肽结合的缀合部分:N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、T27、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、A39、K41、L44、L45、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114,其中所述残基位置对应于如SEQ ID NO:1中所示的位置。在一些实施方案中,残基位置选自N1、W2、V3、N4、I6、S7、D8、K10、K11、E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、D22、A23、T24、L25、Y26、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、E46、Q48、V49、S51、L52、E53、S54、G55、D56、A57、S58、H60、D61、T62、V63、E64、N65、I67、I68、L69、N71、N72、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、E89、E90、L91、E92、E93、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101、S102、V104、H105、Q108、M109、F110、I111、N112、T113和S114。在一些实施方案中,残基位置选自E13、D14、L15、Q17、S18、M19、H20、I21、S34、C35、K36、V37、T38、K41、L44、S51、L52、S54、G55、D56、A57、S58、H60、V63、I67、N71、S73、L74、S75、S76、N77、G78、N79、V80、T81、E82、S83、G84、C85、K86、E87、C88、L91、E92、K94、N95、I96、K97、E98、L100、Q101和F110。在一些实施方案中,残基位置选自D14、Q17、S18、K41、S51、L52、G55、D56、A57、S58、S75、S76、N77、N79、V80、T81、S83、G84、E92、K94、N95、K97和E98。在一些实施方案中,残基位置选自N1、N4、S7、D8、K11、D61、T62、E64、N65、I68、L69和N72。在一些实施方案中,残基位置选自V3、I6、K10、E28、S29、D30、V31、H32、P33、S102、V104、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114。在一些实施方案中,残基位置选自D22、A23、T24、L25、Y26、L44、E46、Q48、V49、E53、E89、E90和E93。在一些实施方案中,残基位置选自Y26、E46、V49、E53和L25。在一些实施方案中,残基位置选自V3、K10、S29、D30、H32、H105、Q108、M109、I111、N112、T113和S114。在一些实施方案中,残基位置选自N4、S7、K11和D61。在一些实施方案中,残基位置选自L25、E53、N77和S83。在一些实施方案中,残基位置选自L25和E53。在一些实施方案中,残基位置选自

E46、Y26、V49、E53、T24、N4、K11、N65、L69、S18、H20和S83。在一些实施方案中，残基位置选自E46、Y26、V49、E53和T24。在一些实施方案中，残基位置选自E46、V49、E53和T24。在一些实施方案中，残基位置选自Y26、V49、E53和T24。在一些实施方案中，残基位置选自V49、E53和T24。在一些实施方案中，残基位置选自E46和Y26。在一些实施方案中，残基位置是E46。在一些实施方案中，残基位置是L25。在一些实施方案中，残基位置是Y26。在一些实施方案中，残基位置是V49。在一些实施方案中，残基位置是E53。在一些实施方案中，残基位置是T24。在一些实施方案中，残基位置是N77。在一些实施方案中，残基位置是S83。

缀合化学

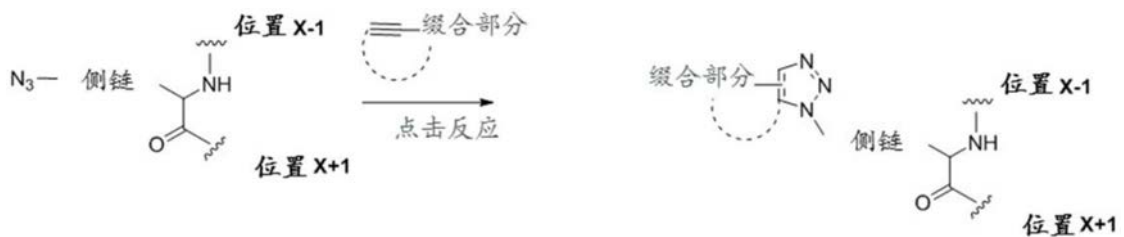
[0269] 使用各种缀合反应来缀合掺入本文所述的细胞因子肽中的接头、缀合部分和非天然氨基酸。此类缀合反应通常与水性条件相容，如“生物正交”反应。在一些实施方案中，缀合反应由化学试剂(如催化剂)、光或者在接头、缀合部分或非天然氨基酸上发现的反应性化学基团来介导。在一些实施方案中，缀合反应由酶来介导。在一些实施方案中，本文所用的缀合反应描述于Gong, Y., Pan, L. *Tett. Lett.* 2015, 56, 2123中。在一些实施方案中，本文所用的缀合反应描述于Chen, X.; Wu, Y-W. *Org. Biomol. Chem.* 2016, 14, 5417中。

[0270] 在本文所述的一些实施方案中，本文所述的缀合反应包括1, 3-偶极环加成反应。在一些实施方案中，1, 3-偶极环加成反应包括叠氮化物与膈的反应(“点击”反应)。在一些实施方案中，缀合反应由铜催化。在一些实施方案中，本文所述的缀合反应产生包含经由三唑附接的接头或缀合部分的细胞因子肽。在一些实施方案中，本文所述的缀合反应包括叠氮化物与应变炔烃的反应。在一些实施方案中，本文所述的缀合反应包括叠氮化物与应变炔烃的反应。在一些实施方案中，本文所述的缀合反应包括叠氮化物与环炔(例如DBCO)的反应。

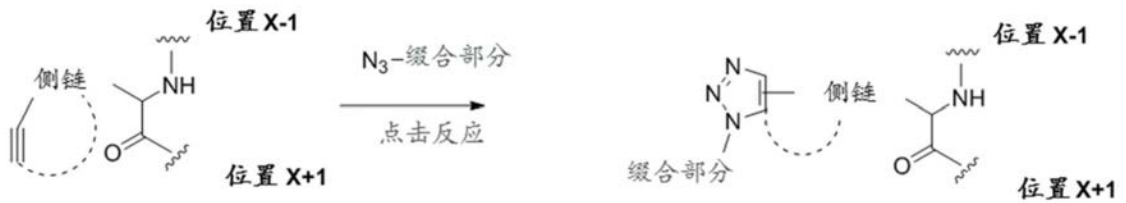
[0271] 在本文所述的一些实施方案中，本文所述的缀合反应包括：



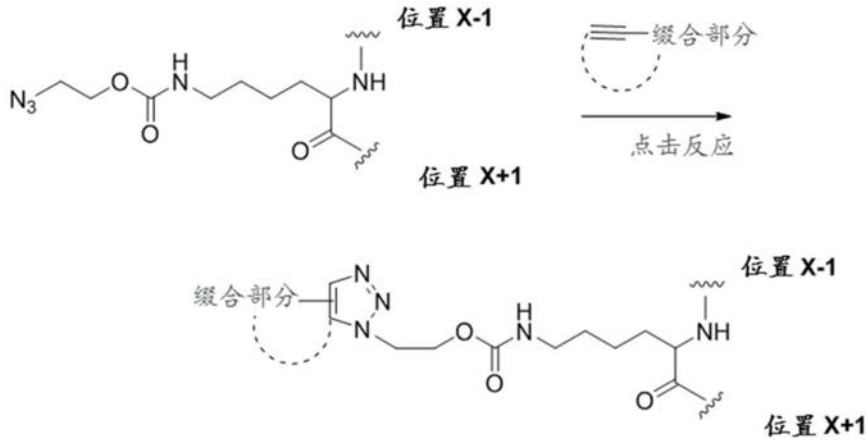
，其中X是包含非天然氨基酸的IL-15缀合物中的位置，如在SEQ ID NO: 4至9和52至57中的任一个中。在一些实施方案中，缀合部分包含水溶性聚合物。在一些实施方案中，反应基团包括炔烃或叠氮化物。在本文所述的一些实施方案中，本文所述的缀合反应包括：



，其中X是包含非天然氨基酸的IL-15缀合物中的位置，如在SEQ ID NO: 4至9和52至57中的任一个中。在本文所述的一些实施方案中，本文所述的缀合反应包括：

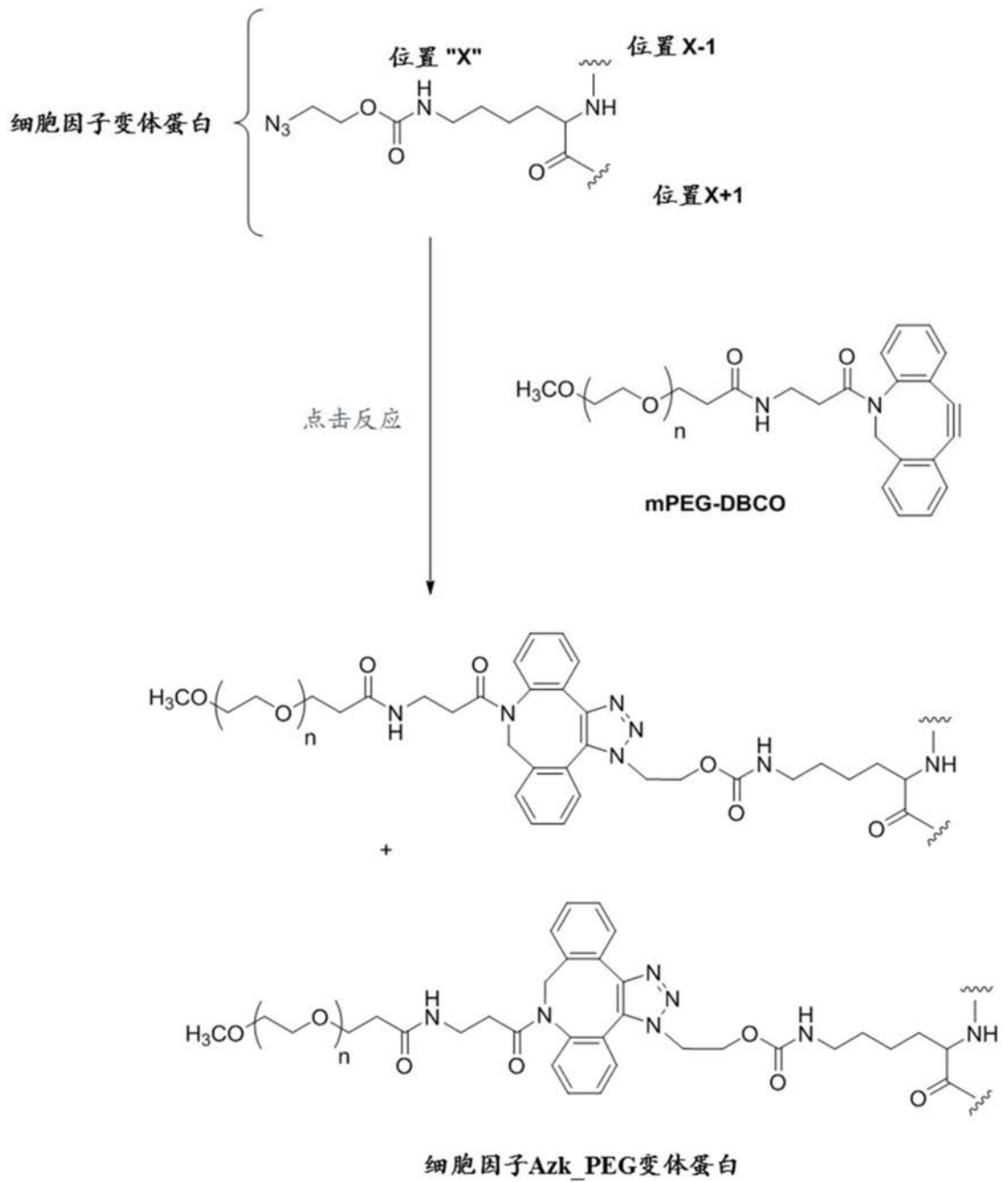


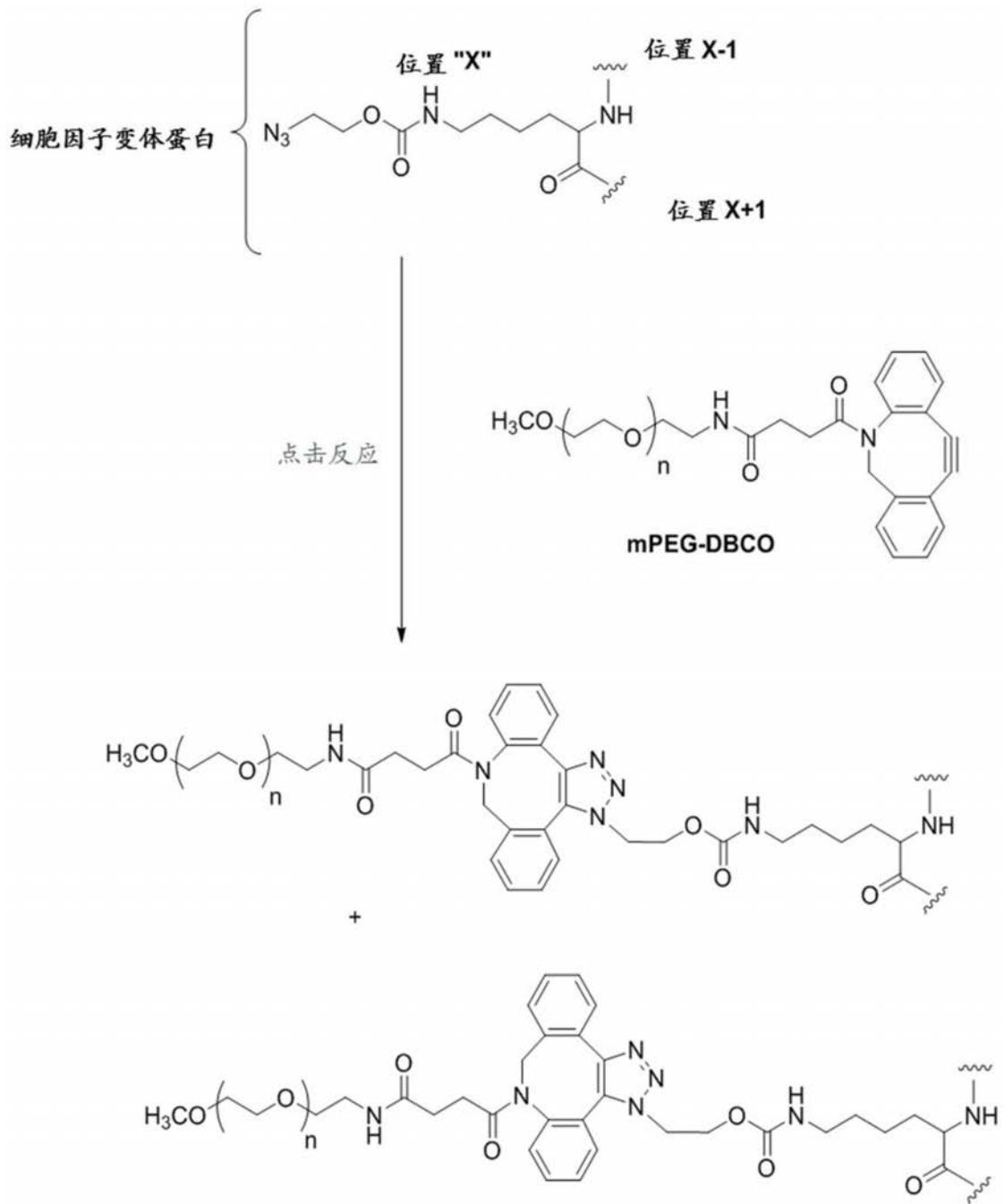
,其中X是包含非天然氨基酸的IL-15缀合物中的位置,如在SEQ ID NO:4至9和52至57中的任一个中。在本文所述的一些实施方案中,本文所述的缀合反应包括:



,其中X是包含非天然氨基酸的IL-15缀合物中的位置,如在SEQ ID NO:4至9和52至57中的任一个中。

[0272] 在本文所述的一些实施方案中,本文所述的缀合反应包括叠氮化物部分(如含于含有衍生自N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸(AzK)的氨基酸残基的蛋白质中的叠氮化物部分)与应变环炔(如衍生自DBC0的应变环炔,所述DBC0是包含二苯并环辛炔基团的化学部分)之间的环加成反应。包含DBC0部分的PEG基团是可商购的或者可以通过本领域普通技术人员已知的方法来制备。





[0273] 本文所述的缀合反应(如点击反应)可以生成单一位置异构体或位置异构体的混合物。在一些情况下,位置异构体的比率为约1:1。在一些情况下,位置异构体的比率为约2:1。在一些情况下,位置异构体的比率为约1.5:1。在一些情况下,位置异构体的比率为约1.2:1。在一些情况下,位置异构体的比率为约1.1:1。在一些情况下,位置异构体的比率大于1:1。

细胞因子多肽产生

[0274] 在一些情况下,重组产生或化学合成本文所述的IL-15缀合物,其含有天然氨基酸突变或非天然氨基酸突变。在一些情况下,例如通过宿主细胞系统或在无细胞系统中重组

产生本文所述的IL-15缀合物。

[0275] 在一些情况下,通过宿主细胞系统重组产生IL-15缀合物。在一些情形下,宿主细胞是真核细胞(例如,哺乳动物细胞、昆虫细胞、酵母细胞或植物细胞)或原核细胞(例如,革兰氏阳性细菌或革兰氏阴性细菌)。在一些情形下,真核宿主细胞是哺乳动物宿主细胞。在一些情形下,哺乳动物宿主细胞是稳定的细胞系,或者是将目的遗传物质掺入其自身基因组中并且具有在多代细胞分裂后表达所述遗传物质的产物的能力的细胞系。在其他情形中,哺乳动物宿主细胞是瞬时细胞系,或者是未将目的遗传物质掺入其自身基因组中并且不具有在多代细胞分裂后表达所述遗传物质的产物的能力的细胞系。

[0276] 示例性哺乳动物宿主细胞包括293T细胞系、293A细胞系、293FT细胞系、293F细胞、293H细胞、A549细胞、MDCK细胞、CHO DG44细胞、CHO-S细胞、CHO-K1细胞、Expi293FTM细胞、Flp-InTM T-RExTM 293细胞系、Flp-InTM-293细胞系、Flp-InTM-3T3细胞系、Flp-InTM-BHK细胞系、Flp-InTM-CHO细胞系、Flp-InTM-CV-1细胞系、Flp-InTM-Jurkat细胞系、FreeStyleTM 293-F细胞、FreeStyleTM CHO-S细胞、GripTiteTM 293 MSR细胞系、GS-CHO细胞系、HepaRGTM细胞、T-RExTM Jurkat细胞系、Per.C6细胞、T-RExTM-293细胞系、T-RExTM-CHO细胞系和T-RExTM-HeLa细胞系。

[0277] 在一些实施方案中,真核宿主细胞是昆虫宿主细胞。示例性昆虫宿主细胞包括果蝇(*Drosophila*) S2细胞、Sf9细胞、Sf21细胞、High FiveTM细胞和expresSF+[®]细胞。

[0278] 在一些实施方案中,真核宿主细胞是酵母宿主细胞。示例性酵母宿主细胞包括巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)酵母菌株,如GS115、KM71H、SMD1168、SMD1168H和X-33;以及酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)酵母菌株,如INVSc1。

[0279] 在一些实施方案中,真核宿主细胞是植物宿主细胞。在一些情况下,植物细胞包括来自藻类的细胞。示例性植物细胞系包括来自莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*) 137c或细长聚球藻(*Synechococcus elongatus*) PPC 7942的株系。

[0280] 在一些实施方案中,宿主细胞是原核宿主细胞。示例性原核宿主细胞包括BL21、Mach1TM、DH10BTM、TOP10、DH5 α 、DH10BacTM、OmniMaxTM、MegaXTM、DH12STM、INV110、TOP10F'、INV α F、TOP10/P3、ccdB Survival、PIR1、PIR2、Stb12TM、Stb13TM或Stb14TM。

[0281] 在一些情况下,用于产生本文所述的IL-2多肽的合适的多核酸分子或载体包括衍生自真核或原核来源的任何合适的载体。示例性多核酸分子或载体包括来自细菌(例如大肠杆菌)、昆虫、酵母(例如巴斯德毕赤酵母)、藻类或哺乳动物来源的载体。细菌载体包括例如pACYC177、pASK75、pBAD载体系列、pBADM载体系列、pET载体系列、pETM载体系列、pGEX载体系列、pHAT、pHAT2、pMal-c2、pMal-p2、pQE载体系列、pRSET A、pRSET B、pRSET C、pTrcHis2系列、pZA31-Luc、pZE21-MCS-1、pFLAG ATS、pFLAG CTS、pFLAG MAC、pFLAG Shift-12c、pTAC-MAT-1、pFLAG CTC或pTAC-MAT-2。

[0282] 昆虫载体包括例如pFastBac1、pFastBac DUAL、pFastBac ET、pFastBac HTa、pFastBac HTb、pFastBac HTc、pFastBac M30a、pFastBact M30b、pFastBac、M30c、pVL1392、pVL1393、pVL1393 M10、pVL1393 M11、pVL1393 M12、FLAG载体(如pPolh-FLAG1或pPolh-MAT2)或MAT载体(如pPolh-MAT1或pPolh-MAT2)。

[0283] 酵母载体包括例如Gateway[®] pDESTTM 14载体、Gateway[®] pDESTTM 15载体、Gateway[®] pDESTTM 17载体、Gateway[®] pDESTTM 24载体、Gateway[®] pYES-DEST52载体、pBAD-

DEST49 Gateway®目的载体、pAO815毕赤酵母属载体、pFLD1巴斯德毕赤酵母载体、pGAPZA, B, & C巴斯德毕赤酵母载体、pPIC3.5K毕赤酵母属载体、pPIC6 A, B, & C毕赤酵母属载体、pPIC9K毕赤酵母属载体、pTEF1/Zeo、pYES2酵母载体、pYES2/CT酵母载体、pYES2/NT A, B, & C酵母载体、或pYES3/CT酵母载体。

[0284] 藻类载体包括例如pChlamy-4载体或MCS载体。

[0285] 哺乳动物载体包括例如瞬时表达载体或稳定表达载体。示例性哺乳动物瞬时表达载体包括p3xFLAG-CMV 8、pFLAG-Myc-CMV 19、pFLAG-Myc-CMV 23、pFLAG-CMV 2、pFLAG-CMV 6a, b, c、pFLAG-CMV 5.1、pFLAG-CMV 5a, b, c、p3xFLAG-CMV 7.1、pFLAG-CMV 20、p3xFLAG-Myc-CMV 24、pCMV-FLAG-MAT1、pCMV-FLAG-MAT2、pBICEP-CMV 3或pBICEP-CMV 4。示例性哺乳动物稳定表达载体包括pFLAG-CMV 3、p3xFLAG-CMV 9、p3xFLAG-CMV 13、pFLAG-Myc-CMV 21、p3xFLAG-Myc-CMV 25、pFLAG-CMV 4、p3xFLAG-CMV 10、p3xFLAG-CMV 14、pFLAG-Myc-CMV 22、p3xFLAG-Myc-CMV 26、pBICEP-CMV 1或pBICEP-CMV 2。

[0286] 在一些情况下,使用无细胞系统产生本文所述的细胞因子(例如,IL-15)多肽。在一些情形下,无细胞系统包含来自细胞的胞质和/或核组分的混合物,并且适合于体外核酸合成。在一些情况下,无细胞系统利用原核细胞组分。在其他情况下,无细胞系统利用真核细胞组分。核酸合成是在基于例如果蝇细胞、爪蟾属(Xenopus)卵、古细菌或HeLa细胞的无细胞系统中获得的。示例性无细胞系统包括大肠杆菌S30提取系统、大肠杆菌T7 S30系统或PURExpress®、XpressCF和XpressCF+。

包含非天然氨基酸的细胞因子多肽的产生

[0287] 正交或扩展的遗传密码可以用于本公开文本中,其中分配细胞因子(例如,IL-15)多肽的核酸序列中存在的一个或多个特定密码子来编码非天然氨基酸,使得可以通过使用正交tRNA合成酶/tRNA对将其遗传地掺入细胞因子(例如,IL-15)中。正交tRNA合成酶/tRNA对能够将非天然氨基酸装载在tRNA,并且能够响应于所述密码子将所述非天然氨基酸掺入多肽链中。

[0288] 在一些情况下,密码子是密码子琥珀、赭石、蛋白石或四联体密码子。在一些情形下,密码子对应于将用于携带非天然氨基酸的正交tRNA。在一些情形下,密码子是琥珀密码子。在其他情形中,密码子是正交密码子。

[0289] 在一些情况下,密码子是四联体密码子,其可以由正交核糖体ribo-Q1解码。在一些情形下,四联体密码子如以下中所述:Neumann等人,“Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome,”*Nature*,464(7287):441-444(2010)。

[0290] 在一些情况下,本公开文本中使用的密码子是重编码的密码子,例如,被可替代密码子替代的同义密码子或稀有密码子。在一些情形下,重编码的密码子如Napolitano等人,“Emergent rules for codon choice elucidated by editing rare arginine codons in Escherichia coli,”*PNAS*,113(38):E5588-5597(2016)中所述。在一些情形下,重编码的密码子如Ostrov等人,“Design, synthesis, and testing toward a 57-codon genome,”*Science*353(6301):819-822(2016)中所述。

[0291] 在一些情况下,利用非天然核酸,导致将一种或多种非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL-15)中。示例性非天然核酸包括但不限于尿嘧啶-5-基,次黄嘌呤-9-基(I),2-氨

基腺嘌呤-9-基,5-甲基胞嘧啶(5-me-C),5-羟甲基胞嘧啶,黄嘌呤,次黄嘌呤,2-氨基腺嘌呤,腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基衍生物和其他烷基衍生物,腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基衍生物和其他烷基衍生物,2-硫尿嘧啶,2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶,5-卤代尿嘧啶和胞嘧啶,5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶,6-偶氮基尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶,5-尿嘧啶(假尿嘧啶),4-硫尿嘧啶,8-卤代、8-氨基、8-巯基、8-硫烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤,5-卤代(特别是5-溴)、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶,7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤,8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤,7-脱氮鸟嘌呤和7-脱氮腺嘌呤,以及3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮腺嘌呤。某些非天然核酸,如5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶和N-2取代的嘌呤、N-6取代的嘌呤、0-6取代的嘌呤、2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、增加双链体形成稳定性的那些、通用核酸、疏水性核酸、混杂核酸、尺寸扩大的核酸、氟化核酸、5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶以及N-2、N-6和0-6取代的嘌呤,包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶和5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶(5-me-C),5-羟甲基胞嘧啶,黄嘌呤,次黄嘌呤,2-氨基腺嘌呤,腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基衍生物和其他烷基衍生物,腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基衍生物和其他烷基衍生物,2-硫尿嘧啶,2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶,5-卤代尿嘧啶,5-卤代胞嘧啶,5-丙炔基(-C≡C-CH₃)尿嘧啶,5-丙炔基胞嘧啶,嘧啶核酸的其他炔基衍生物,6-偶氮基尿嘧啶,6-偶氮基胞嘧啶,6-偶氮基胸腺嘧啶,5-尿嘧啶(假尿嘧啶),4-硫尿嘧啶,8-卤代、8-氨基、8-巯基、8-硫烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤,5-卤代(特别是5-溴)、5-三氟甲基、其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶,7-甲基鸟嘌呤,7-甲基腺嘌呤,2-F-腺嘌呤,2-氨基-腺嘌呤,8-氮杂鸟嘌呤,8-氮杂腺嘌呤,7-脱氮鸟嘌呤,7-脱氮腺嘌呤,3-脱氮鸟嘌呤,3-脱氮腺嘌呤,三环嘧啶,吩噻嗪胞苷([5,4-b][1,4]苯并噻嗪-2(3H)-酮),吩噻嗪胞苷(1H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噻嗪-2(3H)-酮),G-夹,吩噻嗪胞苷(例如9-(2-氨基乙氧基)-H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噻嗪-2(3H)-酮),咔唑胞苷(2H-嘧啶并[4,5-b]吡啶-2-酮),吡啶并吡啶胞苷(H-吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-酮),其中嘌呤或嘧啶碱基被其他杂环替代的那些,7-脱氮-腺嘌呤,7-脱氮鸟嘌呤,2-氨基吡啶,2-吡啶酮,氮杂胞嘧啶,5-溴胞嘧啶,溴尿嘧啶,5-氯胞嘧啶,氯代胞嘧啶,环胞嘧啶,胞嘧啶阿拉伯糖苷,5-氟胞嘧啶,氟嘧啶,氟尿嘧啶,5,6-二氢胞嘧啶,5-碘胞嘧啶,羟基脲,碘尿嘧啶,5-硝基胞嘧啶,5-溴尿嘧啶,5-氯尿嘧啶,5-氟尿嘧啶和5-碘尿嘧啶,2-氨基-腺嘌呤,6-硫代-鸟嘌呤,2-硫代-胸腺嘧啶,4-硫代-胸腺嘧啶,5-丙炔基-尿嘧啶,4-硫代-尿嘧啶,N₄-乙基胞嘧啶,7-脱氮鸟嘌呤,7-脱氮-8-氮杂鸟嘌呤,5-羟基胞嘧啶,2'-脱氧尿苷,2-氨基-2'-脱氧腺苷,以及描述于美国专利号3,687,808;4,845,205;4,910,300;4,948,882;5,093,232;5,130,302;5,134,066;5,175,273;5,367,066;5,432,272;5,457,187;5,459,255;5,484,908;5,502,177;5,525,711;5,552,540;5,587,469;5,594,121;5,596,091;5,614,617;5,645,985;5,681,941;5,750,692;5,763,588;5,830,653和6,005,096;W0 99/62923;Kandimalla等人,(2001) Bioorg. Med. Chem. 9:807-813;The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Kroschwitz, J. I., 编辑, John Wiley & Sons, 1990, 858-859;Englisch等人, Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613;和Sanghvi, 第15章, Antisense Research and Applications, Crooke和Lebleu编, CRC Press, 1993, 273-288中的那些。另外的碱基修饰可以在例如美国专利号3, 687, 808;Englisch等人, Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613;和

Sanghvi,第15章, Antisense Research and Applications,第289-302页, Crooke和Lebleu编辑, CRC Press, 1993中找到。

[0292] 包含各种杂环碱基和各种糖部分(和糖类似物)的非天然核酸是本领域可获得的,并且在一些情形下,核酸包括除了天然存在的核酸的五种主要碱基组分以外的一种或几种杂环碱基。例如,在一些情形下,杂环碱基包括尿嘧啶-5-基、胞嘧啶-5-基、腺嘌呤-7-基、腺嘌呤-8-基、鸟嘌呤-7-基、鸟嘌呤-8-基、4-氨基吡咯并[2.3-d]嘧啶-5-基、2-氨基-4-氧代吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基、2-氨基-4-氧代吡咯并[2.3-d]嘧啶-3-基,其中嘌呤经由9-位、嘧啶经由1-位、吡咯并嘧啶经由7-位且吡唑并嘧啶经由1-位附接至核酸的糖部分。

[0293] 在一些实施方案中,核苷酸类似物还在磷酸酯部分被修饰。经修饰的磷酸酯部分包括但不限于在两个核苷酸之间的连接处被修饰的那些,并且含有例如,硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基和其他烷基磷酸酯(包括3'-亚烷基磷酸酯)和手性磷酸酯、次磷酸酯、氨基磷酸酯(包括3'-氨基氨基磷酸酯和氨基烷基氨基磷酸酯、硫羰氨基磷酸酯)、硫羰烷基磷酸酯、硫羰烷基磷酸三酯和硼烷磷酸酯。应理解,两个核苷酸之间的这些磷酸酯或经修饰的磷酸酯连接是通过3'-5'连接或2'-5'连接,并且所述连接含有反向极性,如3'-5'至5'-3'或2'-5'至5'-2'。还包括各种盐、混合盐和游离酸形式。许多美国专利传授了如何制备和使用含有经修饰的磷酸酯的核苷酸,并且包括但不限于3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,196;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,306;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;和5,625,050。

[0294] 在一些实施方案中,非天然核酸包括2',3'-二脱氧-2',3'-二脱氢-核苷(PCT/US2002/006460)、5'-取代的DNA和RNA衍生物(PCT/US2011/033961;Saha等人, J. Org Chem., 1995, 60, 788-789; Wang等人, Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 1999, 9, 885-890;和Mikhailov等人, Nucleosides&Nucleotides, 1991, 10(1-3), 339-343; Leonid等人, 1995, 14(3-5), 901-905;和Eppacher等人, Helvetica Chimica Acta, 2004, 87, 3004-3020; PCT/JP2000/004720; PCT/JP2003/002342; PCT/JP2004/013216; PCT/JP2005/020435; PCT/JP2006/315479; PCT/JP2006/324484; PCT/JP2009/056718; PCT/JP2010/067560)或者制备为具有经修饰的碱基的单磷酸酯的5'-取代的单体(Wang等人, Nucleosides Nucleotides&Nucleic Acids, 2004, 23(1&2), 317-337)。

[0295] 在一些实施方案中,非天然核酸包括在糖环的5'位和2'位处的修饰(PCT/US94/02993),如5'-CH₂-取代的2'-O-保护的核苷(Wu等人, Helvetica Chimica Acta, 2000, 83, 1127-1143和Wu等人, Bioconjugate Chem. 1999, 10, 921-924)。在一些情形下,非天然核酸包括酰胺连接的核苷二聚体,其已经被制备用于掺入寡核苷酸中,其中二聚体中3'连接的核苷(5'至3')包含2'-OCH₃和5'-(S)-CH₃(Mesmaeker等人, Synlett, 1997, 1287-1290)。非天然核酸可以包括2'-取代的5'-CH₂(或O)修饰的核苷(PCT/US92/01020)。非天然核酸可以包括5'-亚甲基磷酸酯DNA和RNA单体和二聚体(Bohringer等人, Tet. Lett., 1993, 34, 2723-2726; Collingwood等人, Synlett, 1995, 7, 703-705;和Hutter等人, Helvetica Chimica Acta, 2002, 85, 2777-2806)。非天然核酸可以包括具有2'-取代的5'-磷酸酯单体(US2006/0074035)和其他经修饰的5'-磷酸酯单体(WO1997/35869)。非天然核酸可以包括5'-修饰的

亚甲基膦酸酯单体 (EP614907和EP629633)。非天然核酸可以包括在5'和/或6'位包含羟基的5'或6'-磷酸酯核糖核苷类似物 (Chen等人, Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2002, 777, 1783-1786; Jung等人, Bioorg. Med. Chem., 2000, 8, 2501-2509; Gallier等人, Eur. J. Org. Chem., 2007, 925-933; 和Hampton等人, J. Med. Chem., 1976, 19 (8), 1029-1033)。非天然核酸可以包括5'-磷酸酯脱氧核糖核苷单体和具有5'-磷酸酯基团的二聚体 (Nawrot等人, Oligonucleotides, 2006, 16 (1), 68-82)。非天然核酸可以包括具有6'-磷酸酯基团的核苷, 其中5'或/和6'位未被取代或者被硫代叔丁基 (SC(CH₃)₃) (及其类似物); 亚甲基氨基 (CH₂NH₂) (及其类似物) 或氰基 (CN) (及其类似物) 取代 (Fairhurst等人, Synlett, 2001, 4, 467-472; Kappler等人, J. Med. Chem., 1986, 29, 1030-1038; Kappler等人, J. Med. Chem., 1982, 25, 1179-1184; Vrudhula等人, J. Med. Chem., 1987, 30, 888-894; Hampton等人, J. Med. Chem., 1976, 19, 1371-1377; Geze等人, J. Am. Chem. Soc., 1983, 105 (26), 7638-7640; 和Hampton等人, J. Am. Chem. Soc., 1973, 95 (13), 4404-4414)。

[0296] 在一些实施方案中, 非天然核酸还包括糖部分的修饰。在一些情形下, 核酸含有其中糖基团已被修饰的一种或多种核苷。此类糖修饰的核苷可以赋予增强的核酸酶稳定性、增加的结合亲和力或一些其他有益的生物学特性。在某些实施方案中, 核酸包含经化学修饰的呋喃核糖环部分。经化学修饰的呋喃核糖环的例子包括而限于添加取代基 (包括5'和/或2'取代基; 两个环原子桥接形成二环核酸 (BNA); 用S、N(R) 或C(R1)(R2) (R=H、C1-C12烷基或保护基团) 替代核糖基环氧原子; 及其组合。经化学修饰的糖的例子可见于WO 2008/101157、US 2005/0130923和WO 2007/134181中。

[0297] 在一些情况下, 经修饰的核酸包含经修饰的糖或糖类似物。因此, 除核糖和脱氧核糖之外, 所述糖部分可以是戊糖、脱氧戊糖、己糖、脱氧己糖、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖或糖“类似物”环戊基。所述糖可以呈吡喃糖基或呋喃糖基形式。所述糖部分可以是核糖、脱氧核糖、阿拉伯糖或2'-O-烷基核糖的呋喃糖苷, 并且所述糖可以以[α]或[β]异头构型附接至相应的杂环碱基。糖修饰包括但不限于2'-烷氧基-RNA类似物、2'-氨基-RNA类似物、2'-氟-DNA和2'-烷氧基-或氨基-RNA/DNA嵌合体。例如, 糖修饰可以包括2'-O-甲基-尿苷或2'-O-甲基-胞苷。糖修饰包括2'-O-烷基-取代的脱氧核糖核苷和2'-O-乙二醇样核糖核苷。这些糖或糖类似物以及其中此类糖或类似物附接至杂环碱基 (核酸碱基) 的相应“核苷”的制备是已知的。还可以进行糖修饰并且将其与其他修饰组合。

[0298] 糖部分的修饰包括核糖和脱氧核糖的天然修饰以及非天然修饰。糖修饰包括但不限于在2'位处的以下修饰: OH; F; O-、S-或N-烷基; O-、S-或N-烯基; O-、S-或N-炔基; 或O-烷基-O-烷基, 其中烷基、烯基和炔基可以是取代或未取代的C1至C10烷基或C2至C10烯基和炔基。2'糖修饰还包括但不限于-O[(CH₂)_nO]_mCH₃、-O(CH₂)_nOCH₃、-O(CH₂)_nNH₂、-O(CH₂)_nCH₃、-O(CH₂)_nONH₂和-O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂, 其中n和m是从1至约10。

[0299] 2'位处的其他修饰包括但不限于: C1至C10低级烷基、取代的低级烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基、O-芳烷基、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、杂环烷基、杂环烷芳基、氨基烷基氨基、聚烷基氨基、取代的甲硅烷基、RNA切割基团、报告基团、嵌入剂、用于改善寡核苷酸的药代动力学特性的基团或用于改善寡核苷酸的药效学特性的基团以及具有类似特性的其他取代基。还可以在糖的其他位置 (特别是在3'末端核苷酸或2'-5'连接的寡核苷酸中糖的3'位和5'末端核苷酸的5'位) 处进行类似的修饰。经

修饰的糖还包括在桥环氧处含有修饰(如 CH_2 和S)的那些。核苷酸糖类似物也可以具有糖模拟物,如环丁基部分代替戊呋喃糖基糖。许多美国专利传授了此类经修饰的糖结构的制备,并且详述并描述了一系列的碱基修饰,所述美国专利如美国专利号4,981,957;5,118,800;5,319,080;5,359,044;5,393,878;5,446,137;5,466,786;5,514,785;5,519,134;5,567,811;5,576,427;5,591,722;5,597,909;5,610,300;5,627,053;5,639,873;5,646,265;5,658,873;5,670,633;4,845,205;5,130,302;5,134,066;5,175,273;5,367,066;5,432,272;5,457,187;5,459,255;5,484,908;5,502,177;5,525,711;5,552,540;5,587,469;5,594,121;5,596,091;5,614,617;5,681,941;和5,700,920,将其中的每一个通过引用以其整体并入本文。

[0300] 具有经修饰的糖部分的核酸的例子包括而不限于包含5'-乙烯基、5'-甲基(R或S)、4'-S、2'-F、2'- OCH_3 和2'- $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$ 取代基的核酸。2'位处的取代基还可以选自烯丙基、氨基、叠氮基、硫代、0-烯丙基、0-($\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基)、 OCF_3 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{SCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{-O-N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$ 和 $\text{O-CH}_2\text{-C}(=\text{O})\text{-N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$,其中 R_m 和 R_n 各自独立地是H或者取代或未取代的 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基。

[0301] 在某些实施方案中,本文所述的核酸包括一种或多种二环核酸。在某些此类实施方案中,二环核酸包含4'与2'核糖基环原子之间的桥。在某些实施方案中,本文提供的核酸包括一种或多种二环核酸,其中所述桥包含4'至2'二环核酸。此类4'至2'二环核酸的例子包括但不限于下式之一:4'- $(\text{CH}_2)_n\text{-O-2'}$ (LNA);4'- $(\text{CH}_2)_n\text{-S-2'}$;4'- $(\text{CH}_2)_n\text{-O-2'}$ (ENA);4'- $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-2'}$ 和4'- $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OCH}_3)\text{-O-2'}$ 及其类似物(参见美国专利号7,399,845);4'- $\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_3)\text{-O-2'}$ 及其类似物(参见WO 2009/006478、WO 2008/150729、US 2004/0171570、美国专利号7,427,672、Chattopadhyaya等人,J.Org.Chem.,209,74,118-134和WO2008/154401)。还参见例如:Singh等人,Chem.Comm.,1998,4,455-456;Koshkin等人,Tetrahedron,1998,54,3607-3630;Wahlestedt等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,2000,97,5633-5638;Kumar等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1998,8,2219-2222;Singh等人,J.Org.Chem.,1998,63,10035-10039;Srivastava等人,J.Am.Chem.Soc.,2007,129(26)8362-8379;Elayadi等人,Curr.Opinion Invens.Drugs,2001,2,558-561;Braasch等人,Chem.Biol,2001,8,1-7;Oram等人,Curr.Opinion Mol.Ther.,2001,3,239-243;美国专利号4,849,513;5,015,733;5,118,800;5,118,802;7,053,207;6,268,490;6,770,748;6,794,499;7,034,133;6,525,191;6,670,461;和7,399,845;国际公开号WO 2004/106356、WO 1994/14226、WO 2005/021570、WO 2007/090071和WO 2007/134181;美国专利公开号US 2004/0171570、US 2007/0287831和US 2008/0039618;美国临时申请号60/989,574、61/026,995、61/026,998、61/056,564、61/086,231、61/097,787和61/099,844;以及国际申请号PCT/US2008/064591、PCT US2008/066154、PCT US2008/068922和PCT/DK98/00393。

[0302] 在某些实施方案中,核酸包含连接的核酸。核酸可以使用任何核酸间连接而连接在一起。核酸间连接基团的两个主要类别是通过磷原子的存在或不存在来定义的。代表性的含磷的核酸间连接包括但不限于磷酸二酯、磷酸三酯、甲基磷酸酯、氨基磷酸酯和硫代磷酸酯($\text{P}=\text{S}$)。代表性的不含磷的核酸间连接基团包括但不限于亚甲基甲基亚氨基($\text{-CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)\text{-O-CH}_2\text{-}$)、硫代二酯($\text{-O-C}(\text{O})\text{-S-}$)、硫代氨基甲酸酯($\text{-O-C}(\text{O})\text{(NH)-S-}$);硅氧烷($\text{-O-Si}(\text{H})_2\text{-O-}$);和N,N*-二甲基胍($\text{-CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)\text{-N}(\text{CH}_3)$)。在某些实施方案中,可以将具有手性原子的核酸间连接制备为外消旋混合物,制备为单独的对映体,例如烷基磷酸酯和硫代磷酸

酯。非天然核酸可以含有单个修饰。非天然核酸可以在所述部分之一内或不同部分之间含有多个修饰。

[0303] 对核酸的骨架磷酸修饰包括但不限于甲基膦酸酯、硫代磷酸酯、氨基磷酸酯(桥接或非桥接)、磷酸三酯、二硫代磷酸酯(phosphorodithioate)、二硫代磷酸酯(phosphodithioate)和硼烷磷酸酯,并且可以以任何组合来使用。还可以使用其他非磷酸酯连接。

[0304] 在一些实施方案中,骨架修饰(例如,甲基膦酸酯、硫代磷酸酯、氨基磷酸酯和二硫代磷酸酯核苷酸间连接)可以赋予经修饰的核酸免疫调节活性和/或增强其体内稳定性。

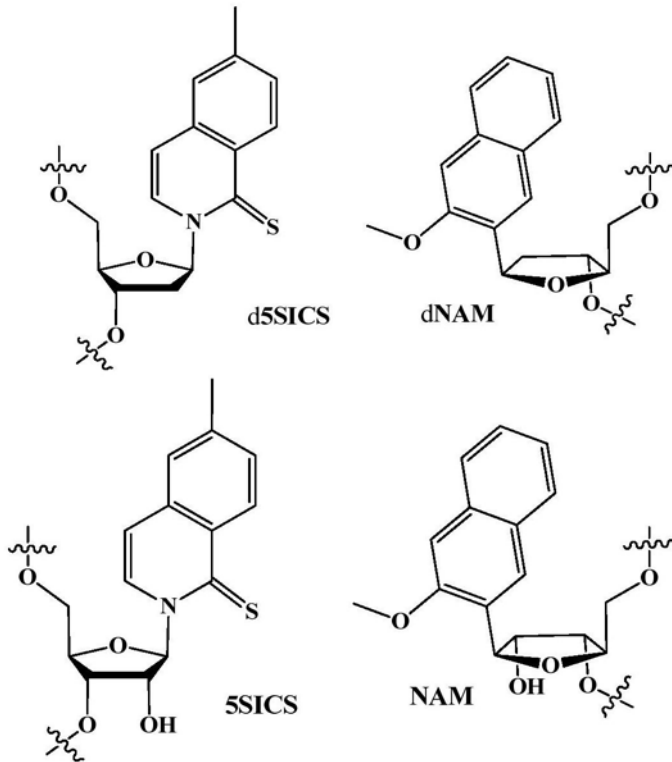
[0305] 在一些情况下,磷衍生物(或经修饰的磷酸酯基团)附接至糖或糖类似物部分,并且可以是单磷酸酯、二磷酸酯、三磷酸酯、烷基膦酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、氨基磷酸酯等。含有经修饰的磷酸酯连接或非磷酸酯连接的示例性多核苷酸可以在Peyrottes等人,1996,Nucleic Acids Res.24:1841-1848;Chaturvedi等人,1996,Nucleic Acids Res.24:2318-2323;和Schultz等人,(1996)Nucleic Acids Res.24:2966-2973;Matteucci,1997,“Oligonucleotide Analogs:an Overview”in Oligonucleotides as Therapeutic Agents,(Chadwick和Cardew编辑)John Wiley and Sons,New York,NY;Zon,1993,“Oligonucleoside Phosphorothioates”in Protocols for Oligonucleotides and Analogs,Synthesis and Properties,Humana Press,第165-190页;Miller等人,1971,JACS 93:6657-6665;Jager等人,1988,Biochem.27:7247-7246;Nelson等人,1997,JOC 62:7278-7287;美国专利号5,453,496;和Micklefield,2001,Curr.Med.Chem.8:1157-1179中找到。

[0306] 在一些情形下,骨架修饰包括用可替代部分如阴离子基团、中性基团或阳离子基团替代磷酸二酯连接。此类修饰的例子包括:阴离子核苷间连接;N3'至P5'氨基磷酸酯修饰;硼烷磷酸酯DNA;原寡核苷酸;中性核苷间连接,如甲基膦酸酯;酰胺连接的DNA;亚甲基(甲基亚氨基)连接;甲缩醛(formacetal)和硫代甲缩醛连接;含有磺酰基的骨架;吗啉代寡聚物;肽核酸(PNA);以及带正电荷的脱氧核糖核酸胍(DNG)寡聚物(Micklefield,2001,Current Medicinal Chemistry 8:1157-1179)。经修饰的核酸可以包含嵌合或混合的骨架,所述嵌合或混合的骨架包含一种或多种修饰(例如,磷酸酯连接的组合,如磷酸二酯和硫代磷酸酯连接的组合)。

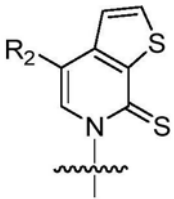
[0307] 磷酸酯的取代基包括,例如,短链烷基或环烷基核苷间连接、混合的杂原子和烷基或环烷基核苷间连接,或一个或多个短链杂原子或杂环核苷间连接。这些包括具有以下的那些:吗啉代连接(部分地由核苷的糖部分形成);硅氧烷骨架;硫化物、亚砷和砷骨架;甲酰乙酰基(formacetyl)和硫代甲酰乙酰基骨架;亚甲基甲酰乙酰基和硫代甲酰乙酰基骨架;含烯烃的骨架;氨基磺酸酯骨架;亚甲基亚氨基和亚甲基胍基骨架;磺酸酯和磺酰胺骨架;酰胺骨架;以及具有混合N、O、S和CH₂组成部分的其他骨架。许多美国专利披露了如何制备和使用这些类型的磷酸酯替代物,并且所述美国专利包括但不限于美国专利号5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,264,562;5,264,564;5,405,938;5,434,257;5,466,677;5,470,967;5,489,677;5,541,307;5,561,225;5,596,086;5,602,240;5,610,289;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,663,312;5,633,360;5,677,437;和5,677,439。还应理解,在核苷酸取代基中,核苷酸的糖和磷

酸部分都可以被例如酰胺型连接(氨基乙基甘氨酸)(PNA)替代。美国专利号5,539,082;5,714,331;和5,719,262传授了如何制备和使用PNA分子,其每一个通过引用并入本文。还参见Nielsen等人,Science,1991,254,1497-1500。还可以将其他类型的分子(缀合物)与核苷酸或核苷酸类似物连接,以增强例如细胞摄取。缀合物可以与核苷酸或核苷酸类似物化学连接。此类缀合物包括但不限于脂质部分,如胆固醇部分(Letsinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1989,86,6553-6556);胆酸(Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Let.,1994,4,1053-1060);硫醚,例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人,Ann.KY.Acad.Sci.,1992,660,306-309;Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Let.,1993,3,2765-2770);硫代胆固醇(Oberhauser等人,Nucl.Acids Res.,1992,20,533-538);脂肪链,例如十二烷二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras等人,EM50J,1991,10,1111-1118;Kabanov等人,FEBS Lett.,1990,259,327-330;Svinarchuk等人,Biochimie,1993,75,49-54);磷脂,例如二-十六烷基-rac-甘油或三乙基铵1-二-0-十六烷基-rac-甘油-S-H-磷酸酯(Manoharan等人,Tetrahedron Lett.,1995,36,3651-3654;Shea等人,Nucl.Acids Res.,1990,18,3777-3783);聚胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,Nucleosides&Nucleotides,1995,14,969-973);或金刚烷乙酸(Manoharan等人,Tetrahedron Lett.,1995,36,3651-3654);棕榈基部分(Mishra等人,Biochem.Biophys.Acta,1995,1264,229-237);或十八烷基胺或己氨基-羧基-羟胆固醇部分(Crooke等人,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277,923-937)。许多美国专利传授了此类缀合物的制备,并且所述美国专利包括但不限于美国专利号4,828,979;4,948,882;5,218,105;5,525,465;5,541,313;5,545,730;5,552,538;5,578,717;5,580,731;5,580,731;5,591,584;5,109,124;5,118,802;5,138,045;5,414,077;5,486,603;5,512,439;5,578,718;5,608,046;4,587,044;4,605,735;4,667,025;4,762,779;4,789,737;4,824,941;4,835,263;4,876,335;4,904,582;4,958,013;5,082,830;5,112,963;5,214,136;5,082,830;5,112,963;5,214,136;5,245,022;5,254,469;5,258,506;5,262,536;5,272,250;5,292,873;5,317,098;5,371,241;5,391,723;5,416,203;5,451,463;5,510,475;5,512,667;5,514,785;5,565,552;5,567,810;5,574,142;5,585,481;5,587,371;5,595,726;5,597,696;5,599,923;5,599,928和5,688,941。

[0308] 在一些情形下,非天然核酸进一步形成非天然碱基对。能够在体内条件下形成非天然DNA或RNA碱基对(UBP)的示例性非天然核苷酸包括但不限于TPT3、dTPT3、5SICS、d5SICS、NaM、dNaM、CNMO、dCNMO、及其组合。能够形成可以用于制备本文公开的IL-15缀合物的非天然UBP的非天然核苷酸的其他例子可以在Dien等人,J Am Chem Soc.,2018,140:16115-16123;Feldman等人,J Am Chem Soc,2017,139:11427-11433;Ledbetter等人,J Am Chem Soc.,2018,140:758-765;Dhami等人,Nucleic Acids Res.2014,42:10235-10244;Malyshev等人,Nature,2014,509:385-388;Betz等人,J Am Chem Soc.,2013,135:18637-18643;Lavergne等人,J Am Chem Soc.2013,135:5408-5419;和Malyshev等人Proc Natl Acad Sci USA,2012,109:12005-12010中找到。在一些实施方案中,非天然核苷酸包括:



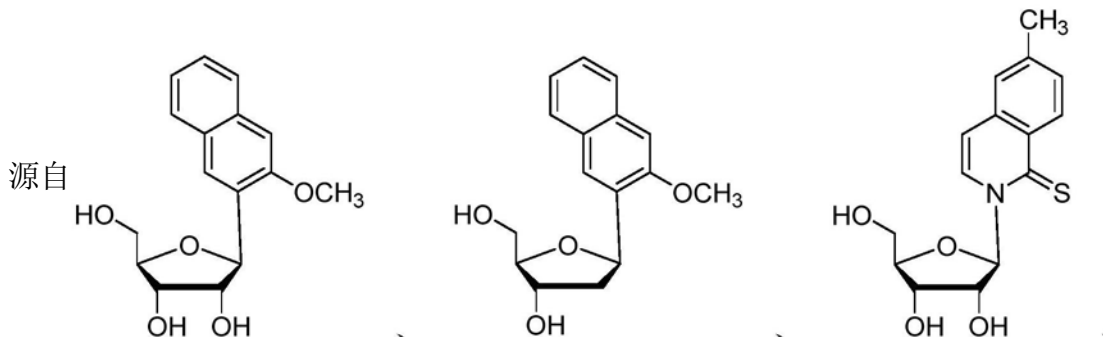
[0309] 在一些实施方案中,可以用于制备本文公开的IL-15缀合物的非天然核苷酸可衍生自下式的化合物:

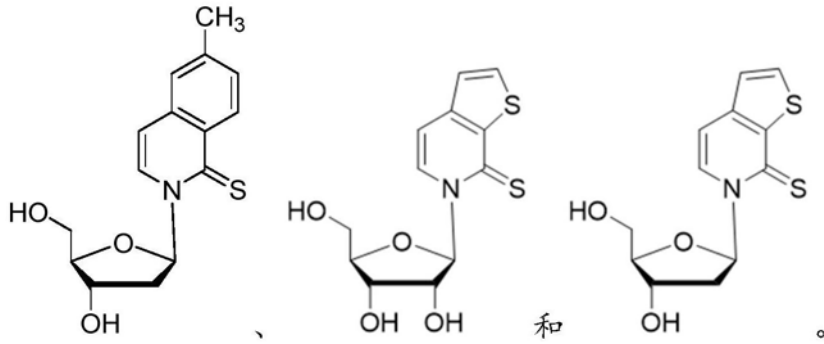


其中 R_2 选自氢、烷基、烯基、炔基、甲氧基、甲硫醇、甲烷硒基、卤素、氰基和叠氮基; 并且

波浪线指示与核糖基或2'-脱氧核糖基的键,其中核糖基或2'-脱氧核糖基部分的5'-羟基呈游离形式,或者任选地键合至单磷酸酯、二磷酸酯或三磷酸酯基。

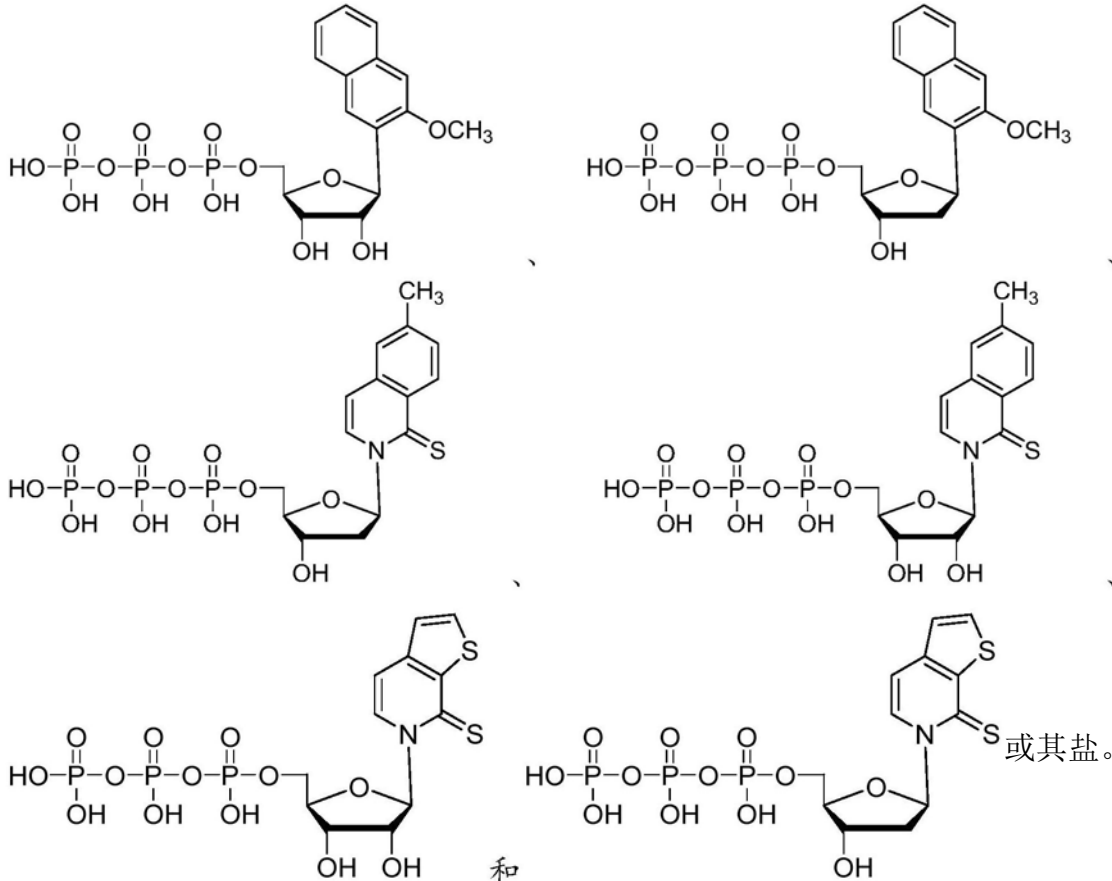
[0310] 在一些实施方案中,可以用于制备本文公开的IL-15缀合物的非天然核苷酸可以





在一些实施方案中,可以用于

制备本文公开的IL-15缀合物的非天然核苷酸包括



或其盐。

[0311] 在一些实施方案中,非天然碱基对产生在Dumas等人,“Designing logical codon reassignment-Expanding the chemistry in biology,”*Chemical Science*,6:50-69 (2015)中所述的非天然氨基酸。

[0312] 在一些实施方案中,通过包含非天然核酸的合成密码子将非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL多肽)中。在一些情况下,通过正交的修饰的合成酶/tRNA对将非天然氨基酸掺入细胞因子中。此类正交对包含天然合成酶,所述天然合成酶能够用非天然氨基酸装载非天然tRNA,同时最小化a)其他内源氨基酸在非天然tRNA上以及b)非天然氨基酸在其他内源tRNA上的装载。此类正交对包含能够通过非天然合成酶进行装载,同时避免通过内源合成酶装载a)其他内源氨基酸的tRNA。在一些实施方案中,从各种生物体(如细菌、酵母、古细菌或人来源)鉴定出此类对。在一些实施方案中,正交合成酶/tRNA对包含来自单一生物体的组分。在一些实施方案中,正交合成酶/tRNA对包含来自两种不同的生物体的组分。在一

些实施方案中,正交合成酶/tRNA对包含在修饰之前促进两个不同氨基酸翻译的组分。在一些实施方案中,正交合成酶是经修饰的丙氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的精氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的天冬酰胺合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的天冬氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的半胱氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的谷氨酰胺合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的谷氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的丙氨酸甘氨酸。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的组氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的亮氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的异亮氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的赖氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的甲硫氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的苯丙氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的脯氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的丝氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的苏氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的色氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的酪氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的缬氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交合成酶是修饰的磷酸丝氨酸合成酶。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的丙氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的精氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的天冬酰胺tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的天冬氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的半胱氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的谷氨酰胺tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的谷氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的丙氨酸甘氨酸。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的组氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的亮氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的异亮氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的赖氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的甲硫氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的苯丙氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的脯氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的丝氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的苏氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的色氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的酪氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的缬氨酸tRNA。在一些实施方案中,正交tRNA是修饰的磷酸丝氨酸tRNA。

[0313] 在一些实施方案中,通过氨酰(aaRS或RS)-tRNA合成酶-tRNA对将非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL多肽)中。示例性aaRS-tRNA对包括但不限于詹氏甲烷球菌(Mj-Tyr)aaRS/tRNA对、大肠杆菌TyrRS(Ec-Tyr)/嗜热脂肪芽孢杆菌tRNACUA对、大肠杆菌LeuRS(Ec-Leu)/嗜热脂肪芽孢杆菌tRNACUA对和吡咯赖氨酰-tRNA对。在一些情况下,通过Mj-TyrRS/tRNA对将非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL多肽)中。可以通过Mj-TyrRS/tRNA对掺入的示例性UAA包括但不限于对位取代的苯丙氨酸衍生物,如对氨基苯丙氨酸和对甲氧基苯丙氨酸;间位取代的酪氨酸衍生物,如3-氨基酪氨酸、3-硝基酪氨酸、3,4-二羟基苯丙氨酸和3-碘酪氨酸;苯基硒代半胱氨酸;对硼苯丙氨酸;以及邻硝基苄基酪氨酸。

[0314] 在一些情况下,通过Ec-Tyr/tRNACUA或Ec-Leu/tRNACUA对将非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL多肽)中。可以通过Ec-Tyr/tRNACUA或Ec-Leu/tRNACUA对掺入的示例性UAA包括但不限于含有苯甲酮、酮、碘化物或叠氮化物取代基的苯丙氨酸衍生物;0-炔丙基酪氨酸; α -氨基辛酸、0-甲基酪氨酸、0-硝基苄基半胱氨酸;和3-(萘-2-基氨基)-2-氨基-丙酸。

[0315] 在一些情况下,通过吡咯赖氨酰-tRNA对将非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL多肽)中。在一些情形下,Py1RS获自古细菌,例如获自产甲烷的古细菌。在一些情形下,Py1RS获自巴氏甲烷八叠球菌(*Methanosarcina barkeri*)、马氏甲烷八叠球菌(*Methanosarcina mazei*)或乙酸甲烷八叠球菌(*Methanosarcina acetivorans*)。可以通过吡咯赖氨酰-tRNA对掺入的示例性UAA包括但不限于酰胺和氨基甲酸酯取代的赖氨酸,如2-氨基-6-((R)-四氢呋喃-2-甲酰胺基)己酸、N- ϵ -D-脯氨酰基-L-赖氨酸和N- ϵ -环戊基氧基羰基-L-赖氨酸;N- ϵ -丙烯酰基-L-赖氨酸;N- ϵ -[(1-(6-硝基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)乙氧基)羰基]-L-赖氨酸;和N- ϵ -(1-甲基环丙-2-烯甲酰胺基)赖氨酸。在一些实施方案中,可以通过使用马氏甲烷八叠球菌(*M. mazei*) tRNA制备本文公开的IL-15缀合物,马氏甲烷八叠球菌tRNA通过巴氏甲烷八叠球菌(*M. barkeri*)吡咯赖氨酰-tRNA合成酶(Mb Py1RS)选择性装载非天然氨基酸,如N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸(AzK)。其他方法是本领域普通技术人员已知的,诸如公开于Zhang等人,Nature 2017,551(7682):644-647中的那些方法。

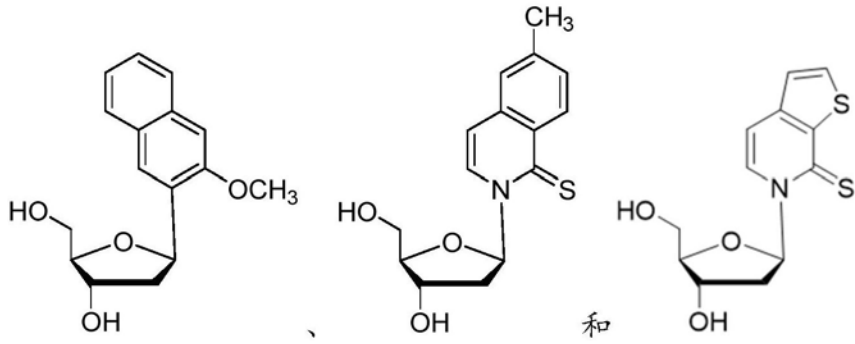
[0316] 在一些情况下,通过US 9,988,619和US 9,938,516中披露的合成酶将非天然氨基酸掺入本文所述的细胞因子(例如,IL多肽)中。

[0317] 在合适的培养基中培养或维持引入了本文公开的构建体或载体的宿主细胞,使得产生tRNA、tRNA合成酶和目的蛋白质。培养基还包含一种或多种非天然氨基酸,使得目的蛋白质掺入所述一种或多种非天然氨基酸。在一些实施方案中,来自细菌、植物或藻类的核苷三磷酸转运蛋白(NTT)也存在于宿主细胞中。在一些实施方案中,本文公开的IL-15缀合物是通过使用表达NTT的宿主细胞来制备。在一些实施方案中,用于宿主细胞中的核苷酸核苷三磷酸转运蛋白可以选自TpNTT1、TpNTT2、TpNTT3、TpNTT4、TpNTT5、TpNTT6、TpNTT7、TpNTT8(假微型海链藻(*T. pseudonana*))、PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5、PtNTT6(三角褐指藻(*P. tricornutum*))、GsNTT(嗜硫原始红藻(*Galdieria sulphuraria*))、AtNTT1、AtNTT2(拟南芥(*Arabidopsis thaliana*))、CtNTT1、CtNTT2(沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*))、PamNTT1、PamNTT2(嗜阿米巴原衣原体(*Protochlamydia amoebophila*))、CcNTT(*Caedibacter caryophilus*)、RpNTT1(普氏立克次体(*Rickettsia prowazekii*))。在一些实施方案中,NTT选自PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5和PtNTT6。在一些实施方案中,所述NTT是PtNTT1。在一些实施方案中,所述NTT是PtNTT2。在一些实施方案中,所述NTT是PtNTT3。在一些实施方案中,所述NTT是PtNTT4。在一些实施方案中,所述NTT是PtNTT5。在一些实施方案中,所述NTT是PtNTT6。可以使用的其他NTT披露于Zhang等人,Nature 2017,551(7682):644-647;Malyshev等人Nature 2014(509(7500)),385-388;和Zhang等人Proc Natl Acad Sci USA,2017,114:1317-1322中。

[0318] 正交tRNA合成酶/tRNA对用非天然氨基酸装载tRNA,并且响应于密码子将所述非天然氨基酸掺入多肽链中。示例性aaRS-tRNA对包括但不限于詹氏甲烷球菌(*Mj-Tyr*) aaRS/tRNA对、大肠杆菌TyrRS(*Ec-Tyr*)/嗜热脂肪芽孢杆菌tRNACUA对、大肠杆菌LeuRS(*Ec-Leu*)/嗜热脂肪芽孢杆菌tRNACUA对和吡咯赖氨酰-tRNA对。可以根据本公开文本使用的其他aaRS-tRNA对包括源自马氏甲烷八叠球菌的那些,描述于Feldman等人,J Am Chem Soc., 2018 140:1447-1454;和Zhang等人Proc Natl Acad Sci USA,2017,114:1317-1322中的那些。

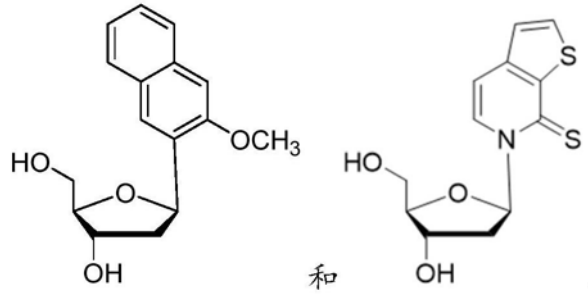
[0319] 在一些实施方案中提供在表达NTT和tRNA合成酶的细胞系统中制备本文公开的IL-15缀合物的方法。在本文所述的一些实施方案中,NTT选自PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5和PtNTT6,并且tRNA合成酶选自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌和马氏甲烷八叠球菌。在一些实施方案中,NTT是PtNTT1,并且tRNA合成酶源自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌或马氏甲烷八叠球菌。在一些实施方案中,NTT是PtNTT2,并且tRNA合成酶源自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌或马氏甲烷八叠球菌。在一些实施方案中,NTT是PtNTT3,并且tRNA合成酶源自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌或马氏甲烷八叠球菌。在一些实施方案中,NTT是PtNTT3,并且tRNA合成酶源自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌或马氏甲烷八叠球菌。在一些实施方案中,NTT是PtNTT4,并且tRNA合成酶源自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌或马氏甲烷八叠球菌。在一些实施方案中,NTT是PtNTT5,并且tRNA合成酶源自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌或马氏甲烷八叠球菌。在一些实施方案中,NTT是PtNTT6,并且tRNA合成酶源自詹氏甲烷球菌、大肠杆菌TyrRS (Ec-Tyr) /嗜热脂肪芽孢杆菌或马氏甲烷八叠球菌。

[0320] 在一些实施方案中,可以在细胞(如大肠杆菌)中制备本文公开的IL-15缀合物,所述细胞包含(a)核苷酸三磷酸转运蛋白PtNTT2(包括截短型变体,其中全长蛋白质的前65个氨基酸残基缺失);(b)包含双链寡核苷酸的质粒,所述双链寡核苷酸编码具有所需氨基酸序列的IL-15变体并且含有包含第一非天然核苷酸和第二非天然核苷酸的非天然碱基对,以在将掺入非天然氨基酸(如N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸(AzK))的所需位置提供密码子;(c)编码源自马氏甲烷八叠球菌并且包含非天然核苷酸以提供公认的反密码子(针对IL-15变体的密码子)来代替其天然序列的tRNA的质粒;以及(d)编码巴氏甲烷八叠球菌来源的吡咯赖氨酰-tRNA合成酶(Mb PyIRS)的质粒,其可以是编码tRNA的相同质粒或不同质粒。在一些实施方案中,细胞进一步补充有包含一种或多种非天然碱基的脱氧核糖三磷酸酯。在一些实施方案中,细胞进一步补充有包含一种或多种非天然碱基的核糖三磷酸酯。在一些实施方案中,细胞进一步补充有一种或多种非天然氨基酸,如N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸(AzK)。在一些实施方案中,编码所需IL-15变体的氨基酸序列的双链寡核苷酸在例如编码具有SEQ ID NO:1的蛋白质的序列的位置18、25、46、53、77或83处,或者在编码具有SEQ ID NO:3的蛋白质的序列的位置19、26、47、54、78或84处含有密码子AXC,其中X是非天然核苷酸。在一些实施方案中,细胞还包含质粒,所述质粒可以是蛋白质表达质粒或另一种质粒,其编码来自马氏甲烷八叠球菌的正交tRNA基因,所述正交tRNA基因包含AXC匹配的反密码子GYT代替其天然序列,其中Y是互补的并且可以与所述密码子中的非天然核苷酸相同或不同的非天然核苷酸。在一些实施方案中,密码子中的非天然核苷酸与反密码子中的非天然核苷酸不同且互补。在一些实施方案中,密码子中的非天然核苷酸与反密码子中的非天然核苷酸相同。在一些实施方案中,在双链寡核苷酸中的构成非天然碱基对的第一和第二非天然核苷酸可以衍生自

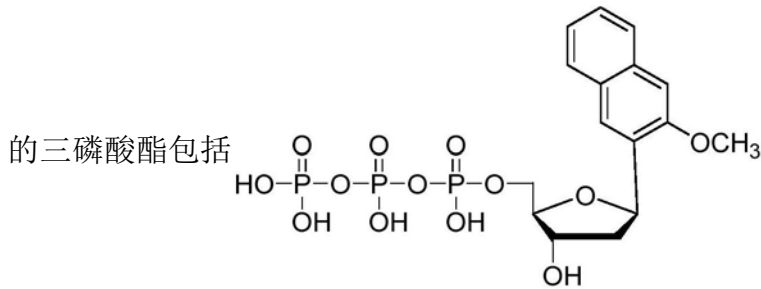


在一些实施方案中,在双链

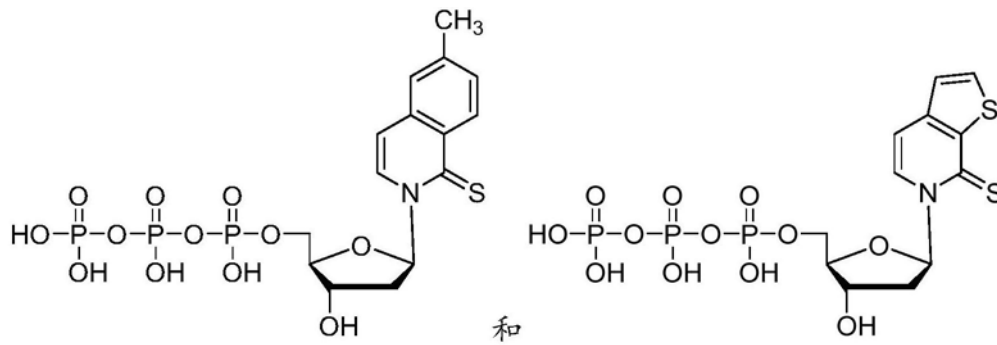
寡核苷酸中的构成非天然碱基对的第一和第二非天然核苷酸可以衍生自



在一些实施方案中,第一和第二非天然核苷酸

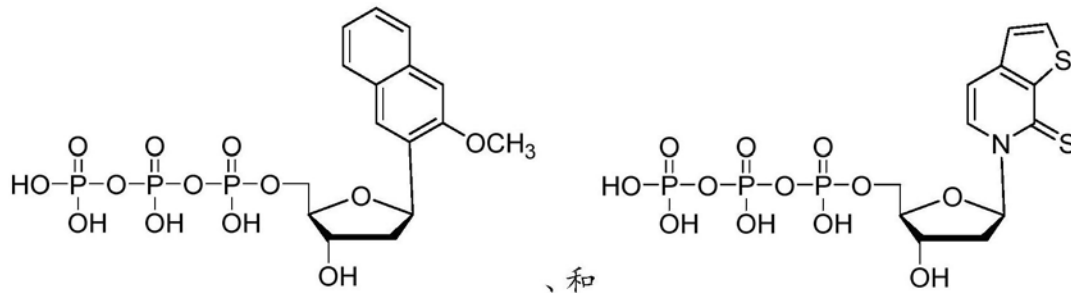


的三磷酸酯包括



或其盐。在一些

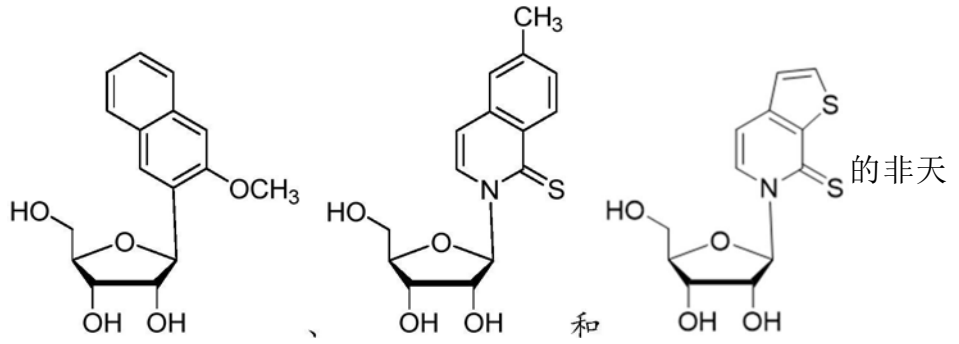
实施方案中,第一和第二非天然核苷酸的三磷酸酯包括



或其盐。在

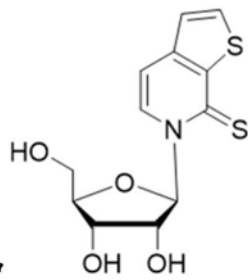
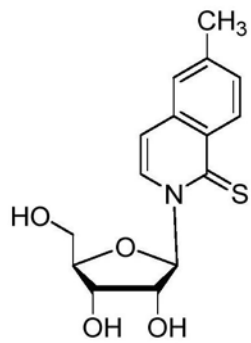
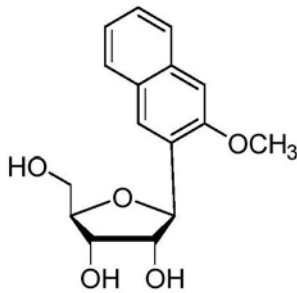
一些实施方案中,源自包含第一非天然核苷酸和第二非天然核苷酸的双链寡核苷酸的mRNA

可以包含含有衍生自

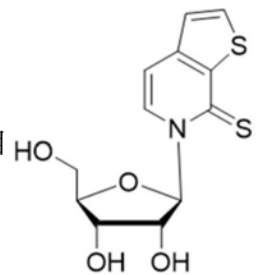
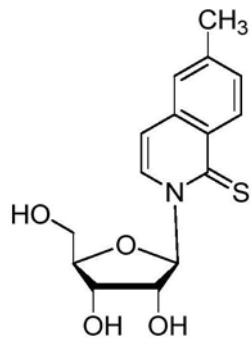
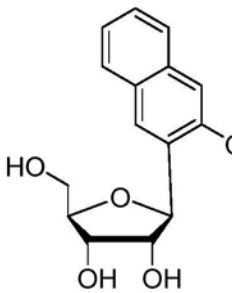


然核苷酸的密码子。在一些实施方案中,马氏甲烷八叠球菌tRNA可以包含含有非天然核苷酸的反密码子,所述非天然核苷酸识别包含mRNA的非天然核苷酸的密码子。马氏甲烷八叠

球菌tRNA中的反密码子可以包含衍生自



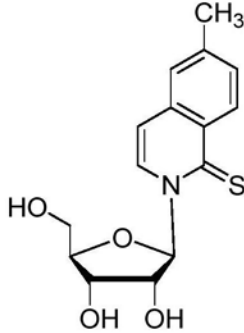
生自



的非天然核苷酸。在一些实施方案中，tRNA包含衍生自

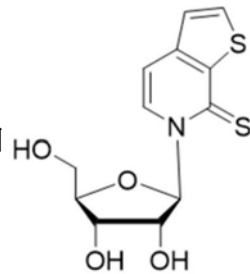


酸。在一些实施方案中，tRNA包含衍生自



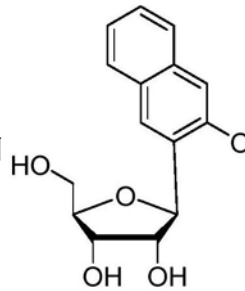
的非天然核苷酸。在一些实施方

案中，tRNA包含衍生自

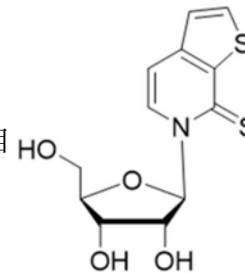


的非天然核苷酸。在一些实施方案中，mRNA包含衍

生自

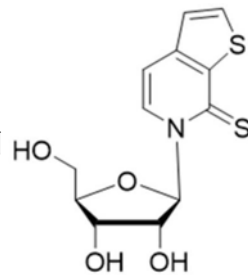


的非天然核苷酸，并且tRNA包含衍生自



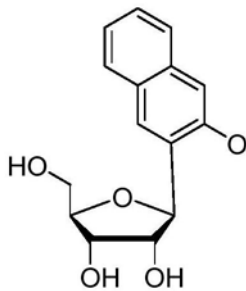
的非天

然核苷酸。在一些实施方案中，mRNA包含衍生自



的非天然核苷酸，并且

tRNA包含衍生自



的非天然核苷酸。将宿主细胞在含有适当营养素的

培养基中培养,并且补充有以下物质:(a)包含一种或多种非天然碱基的脱氧核糖核苷三磷酸酯,所述非天然碱基是编码具有密码子的细胞因子基因的一种或多种质粒的复制所必需的;(b)包含一种或多种非天然碱基的核糖核苷三磷酸酯,所述非天然碱基是以下的转录所必需的:(i)对应于细胞因子的编码序列并且含有包含一种或多种非天然碱基的密码子的mRNA,和(ii)含有包含一种或多种非天然碱基的反密码子的tRNA;以及(c)待掺入目的细胞因子的多肽序列中的一种或多种非天然氨基酸。然后将宿主细胞维持在允许目的蛋白质表达的条件下。

[0321] 所表达的包含一种或多种非天然氨基酸(例如AzK)的所得蛋白质可以通过本领域普通技术人员已知的方法来纯化,然后可以允许其与炔烃(如包含具有如本文所公开的所需平均分子量的PEG链的DBCO)在本领域普通技术人员已知的条件下反应,以提供本文公开的IL-15缀合物。其他方法是本领域普通技术人员已知的,如以下中披露的那些:Zhang等人,Nature 2017,551(7682):644-647;WO 2015157555;WO 2015021432;WO 2016115168;WO 2017106767;WO 2017223528;WO 2019014262;WO 2019014267;WO 2019028419;和WO 2019/028425。

[0322] 可替代地,通过将本文所述的核酸构建体引入宿主细胞中来制备包含一种或多种非天然氨基酸的细胞因子(例如,IL-15)多肽,所述核酸构建体包含tRNA和氨酰基tRNA合成酶并且包含具有因子或多种框内正交(终止)密码子的目的核酸序列。将宿主细胞在含有适当营养素的培养基中培养,补充有(a)包含一种或多种非天然碱基的脱氧核糖核苷三磷酸酯,所述非天然碱基是编码具有新密码子和反密码子的细胞因子基因的一种或多种质粒的复制所需的;(b)对应于以下的mRNA的转录所需的核糖核苷三磷酸酯:(i)含有密码子的细胞因子序列,和(ii)含有反密码子的正交tRNA;以及(c)一种或多种非天然氨基酸。然后将宿主细胞维持在允许目的蛋白质表达的条件下。响应于非天然密码子,将所述一种或多种非天然氨基酸掺入多肽链中。例如,将一种或多种非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL-15)多肽中。可替代地,可以在蛋白质中的两个或更多个位点处将两种或更多种非天然氨基酸掺入细胞因子(例如,IL-15)多肽中。

[0323] 一旦在宿主细胞中产生了掺入一种或多种非天然氨基酸的细胞因子(例如,IL-15)多肽,便可以通过本领域已知的多种技术(包括酶促、化学和/或渗透裂解和物理破坏)从所述宿主细胞提取所述多肽。可以通过本领域已知的标准技术(如制备型离子交换色谱法、疏水色谱法、亲和色谱法或本领域普通技术人员已知的任何其他合适的技术)纯化细胞因子(例如,IL-15)多肽。

[0324] 合适的宿主细胞可以包括细菌细胞(例如,大肠杆菌,BL21(DE3)),但是最合适的宿主细胞是真核细胞,例如昆虫细胞(例如果蝇,如黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*))、酵母细胞、线虫(例如秀丽隐杆线虫(*C.elegans*))、小鼠(例如小家鼠(*Mus musculus*))或哺乳动物细胞(如中国仓鼠卵巢细胞(CHO)或COS细胞、人293T细胞、HeLa细胞、NIH 3T3细胞和小鼠红白血病(MEL)细胞)或人细胞或其他真核细胞。其他合适的宿主细胞是本领域技术人员已知的。合适地,宿主细胞是哺乳动物细胞,如人细胞或昆虫细胞。在一些实施方案中,合适的宿主细胞包括大肠杆菌。

[0325] 通常可以在本发明的实施方案中使用的其他合适的宿主细胞是在实施例部分中提到的那些。可以经由常规转化或转染技术将载体DNA引入宿主细胞中。如本文所用,术语

“转化”和“转染”旨在指代用于将外来核酸分子(例如,DNA)引入宿主细胞中的多种公认的技术,包括磷酸钙或氯化钙共沉淀、DEAE-葡聚糖介导的转染、脂质体转染或电穿孔。用于转化或转染宿主细胞的合适方法是本领域熟知的。

[0326] 当创建细胞系时,通常优选制备稳定的细胞系。例如,对于哺乳动物细胞的稳定转染,已知根据所使用的表达载体和转染技术,只有一小部分细胞可以将外来DNA整合到其基因组中。为了鉴定和选择这些整合体,通常将编码选择性标记物(例如,对抗生素的抗性)的基因与目的基因一起引入宿主细胞中。优选的选择性标记物包括赋予对药物(如G418、潮霉素或甲氨蝶呤)的抗性的那些选择性标记物。可以将编码选择性标记物的核酸分子在相同载体上引入宿主细胞中,或者可以在单独的载体上引入。可以通过药物选择来鉴定被引入的核酸分子稳定转染的细胞(例如,已掺入选择性标记基因的细胞将存活,而其他细胞死亡)。

[0327] 在一个实施方案中,将本文所述的构建体整合到宿主细胞的基因组中。稳定整合的优点是实现了各个细胞或克隆之间的均匀性。另一个优点是可以进行最佳生产者的选择。因此,希望创建稳定的细胞系。在另一个实施方案中,将本文所述的构建体转染到宿主细胞中。将构建体转染到宿主细胞中的优点是可以使蛋白质产量最大化。在一个方面,描述了包含本文所述的核酸构建体或载体的细胞。

药物组合物和配制品

[0328] 在一些实施方案中,通过多种施用途径(包括但不限于肠胃外、口服或透皮施用途径)将本文所述的药物组合物和配制品施用于受试者。在一些情形下,肠胃外施用包括静脉内、皮下、肌内、脑内、鼻内、动脉内、关节内、皮内、玻璃体内、骨内输注、腹膜内或鞘内施用。在一些情况下,将药物组合物配制用于局部施用。在其他情形下,将药物组合物配制用于全身施用。

[0329] 在一些实施方案中,药物配制品包括但不限于水性液体分散体、自乳化分散体、脂质体分散体、气雾剂、速释配制品、控释配制品、延迟释放配制品、延长释放配制品、脉冲式释放配制品以及混合的速释和控释配制品。

[0330] 在一些实施方案中,药物配制品包括基于与本文公开的组合物相容性和所需剂型的释放曲线特性而选择的载体或载体材料。示例性载体材料包括例如粘合剂、表面活性剂、增溶剂、稳定剂、润滑剂、湿润剂、稀释剂等。药学上相容的载体材料包括但不限于阿拉伯胶、明胶、胶体二氧化硅、甘油磷酸钙、乳酸钙、麦芽糊精、甘油、硅酸镁、聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)、胆固醇、胆固醇酯、酪蛋白酸钠、大豆卵磷脂、牛磺胆酸、磷脂酰胆碱、氯化钠、磷酸三钙、磷酸氢二钾、纤维素和纤维素缀合物、糖硬脂酰乳酸钠、角叉菜胶、甘油单酯、甘油二酯、预胶化淀粉等。参见例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第十九版(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995),Hoover,John E.,Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pennsylvania 1975,Liberman,H.A.和Lachman,L.,编辑,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,纽约,纽约州,1980,以及Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第七版(Lippincott Williams&Wilkins1999)。

[0331] 在一些情形下,将药物组合物配制为免疫脂质体,其包含与脂质体的脂质双层直接或间接结合的多种IL-15缀合物。示例性脂质包括但不限于脂肪酸;磷脂;甾醇类,诸如胆

固醇;鞘脂,诸如鞘磷脂;糖鞘脂,诸如神经节苷脂、红细胞糖苷脂和脑苷脂;表面活性剂胺,诸如硬脂酰胺、油酰胺和亚油酰胺。在一些情况下,脂质包括阳离子脂质。在一些情况下,脂质包括磷脂。示例性磷脂包括但不限于磷脂酸(“PA”)、磷脂酰胆碱(“PC”)、磷脂酰甘油(“PG”)、磷脂酰乙醇胺(“PE”)、磷脂酰肌醇(“PI”)、和磷脂酰丝氨酸(“PS”)、鞘磷脂(包括脑鞘磷脂)、卵磷脂、溶血卵磷脂、溶血磷脂酰乙醇胺、脑苷脂、二花生酰基磷脂酰胆碱(“DAPC”)、二癸酰基-L- α -磷脂酰胆碱(“DDPC”)、二反油酰基磷脂酰胆碱(“DEPC”)、二月桂酰基磷脂酰胆碱(“DLPC”)、二亚油酰基磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱(“DMPC”)、二油酰基磷脂酰胆碱(“DOPC”)、二棕榈酰基磷脂酰胆碱(“DPPC”)、二硬脂酰基磷脂酰胆碱(“DSPC”)、1-棕榈酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱(“POPC”)、二花生酰基磷脂酰甘油(“DAPG”)、二癸酰基-L- α -磷脂酰甘油(“DDPG”)、二反油酰基磷脂酰甘油(“DEPG”)、二月桂酰基磷脂酰甘油(“DLPG”)、二亚油酰基磷脂酰甘油、二肉豆蔻酰基磷脂酰甘油(“DMPG”)、二油酰基磷脂酰甘油(“DOPG”)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(“DPPG”)、二硬脂酰基磷脂酰甘油(“DSPG”)、1-棕榈酰基-2-油酰基-磷脂酰甘油(“POPG”)、二花生酰基磷脂酰乙醇胺(“DAPE”)、二癸酰基-L- α -磷脂酰乙醇胺(“DDPE”)、二反油酰基磷脂酰乙醇胺(“DEPE”)、二月桂酰基磷脂酰乙醇胺(“DLPE”)、二亚油酰基磷脂酰乙醇胺、二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(“DMPE”)、二油酰基磷脂酰乙醇胺(“DOPE”)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(“DPPE”)、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(“DSPE”)、1-棕榈酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(“POPE”)、二花生酰基磷脂酰肌醇(“DAPI”)、二癸酰基-L- α -磷脂酰肌醇(“DDPI”)、二反油酰基磷脂酰肌醇(“DEPI”)、二月桂酰基磷脂酰肌醇(“DLPI”)、二亚油酰基磷脂酰肌醇、二肉豆蔻酰基磷脂酰肌醇(“DMPI”)、二油酰基磷脂酰肌醇(“DOPI”)、二棕榈酰基磷脂酰肌醇(“DPPI”)、二硬脂酰基磷脂酰肌醇(“DSPI”)、1-棕榈酰基-2-油酰基-磷脂酰肌醇(“POPI”)、二花生酰基磷脂酰丝氨酸(“DAPS”)、二癸酰基-L- α -磷脂酰丝氨酸(“DDPS”)、二反油酰基磷脂酰丝氨酸(“DEPS”)、二月桂酰基磷脂酰丝氨酸(“DLPS”)、二亚油酰基磷脂酰丝氨酸、二肉豆蔻酰基磷脂酰丝氨酸(“DMPS”)、二油酰基磷脂酰丝氨酸(“DOPS”)、二棕榈酰基磷脂酰丝氨酸(“DPPS”)、二硬脂酰基磷脂酰丝氨酸(“DSPS”)、1-棕榈酰基-2-油酰基-磷脂酰丝氨酸(“POPS”)、二花生酰基鞘磷脂、二癸酰基鞘磷脂、二反油酰基鞘磷脂、二月桂酰基鞘磷脂、二亚油酰基鞘磷脂、二肉豆蔻酰基鞘磷脂、鞘磷脂、二油酰基鞘磷脂、二棕榈酰基鞘磷脂、二硬脂酰基鞘磷脂以及1-棕榈酰基-2-油酰基-鞘磷脂。

[0332] 在一些实施方案中,药物配制品还包括pH调节剂或缓冲剂,其包括酸,如乙酸、硼酸、柠檬酸、乳酸、磷酸和盐酸;碱,如氢氧化钠、磷酸钠、硼酸钠、柠檬酸钠、乙酸钠、乳酸钠和三羟甲基氨基甲烷;以及缓冲液,如柠檬酸盐/葡萄糖、碳酸氢钠和氯化铵。以使组合物的pH维持在可接受范围内所需的量包括此类酸、碱和缓冲液。

[0333] 在一些情况下,药物配制品以使组合物的渗透压在可接受范围内所需的量包括一种或多种盐。此类盐包括具有钠、钾或铵阳离子和氯离子、柠檬酸根、抗坏血酸根、硼酸根、磷酸根、碳酸氢根、硫酸根、硫代硫酸根或亚硫酸氢根阴离子的那些,合适的盐包括氯化钠、氯化钾、硫代硫酸钠、亚硫酸氢钠和硫酸铵。

[0334] 在一些实施方案中,药物配制品包括但不限于糖(如海藻糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、麦芽糖、葡萄糖)或盐(如磷酸钾、柠檬酸钠、硫酸铵)和/或其他药剂(如肝素),以增加多肽的溶解度和体内稳定性。

[0335] 在一些情况下,药物配制品进一步包括用于稳定化合物的稀释剂,因为它们可以提供更稳定的环境。溶解于缓冲溶液中的盐(其也可以提供pH控制或维持)在本领域中用作稀释剂,包括但不限于磷酸盐缓冲盐水溶液。在某些情形下,稀释剂增加组合物的体积以有助于压缩或产生足够的均匀共混物体积用于胶囊填充。此类化合物可以包括例如乳糖、淀粉、甘露醇、山梨醇、右旋糖、微晶纤维素(如Avicel[®])、磷酸氢钙、磷酸氢钙二水合物、磷酸三钙、磷酸钙、无水乳糖、喷雾干燥的乳糖、预胶化淀粉、可压缩糖(如Di-Pac[®](Amstar))、甘露醇、羟丙基甲基纤维素、醋酸硬脂酸羟丙基甲基纤维素、基于蔗糖的稀释剂、糖果剂的糖、硫酸二氢钙一水合物、硫酸钙二水合物、乳酸钙三水合物、葡萄糖结合剂(dextrate)、谷物水解固形物、直链淀粉、粉状纤维素、碳酸钙、甘氨酸、高岭土、甘露醇、氯化钠、肌醇、膨润土等。在一些实施方案中,本文公开的IL-15缀合物可以用于药物配制品中,所述药物配制品包含组氨酸、山梨醇和聚山梨醇酯80,或者提供稳定配制品且可以施用至有需要的受试者的任何组合。在一个实施方案中,本文公开的IL-15缀合物可以呈现为合适的容器(如小瓶)中的成品药,如下:IL-15缀合物(约2mg至约10mg);L-组氨酸(约0.5mg至约2mg);L-组氨酸盐酸盐(约1mg至约2mg);山梨醇(约20mg至约80mg);以及聚山梨醇酯80(约0.1mg至约0.2mg);具有足量的注射用水以提供适用于所公开方法中的液体配制品。

[0336] 在一些情形下,药物配制品包括崩解剂(disintegration agent)或崩解剂(disintegrant)以促进物质的分解或崩解。术语“崩解”包括剂型在与胃肠液接触时的溶解和分散二者。崩解剂的例子包括淀粉,例如天然淀粉(如玉米淀粉或马铃薯淀粉)、预胶化淀粉(如National 1551或Amijel[®])或羟基乙酸淀粉钠(如Promogel[®]或Explotab[®]);纤维素,如木制品、甲基结晶纤维素(例如,Avicel[®]、Avicel[®]PH101、Avicel[®]PH102、Avicel[®]PH105、Elcema[®]P100、Emcocel[®]、Vivacel[®]、Ming Tia[®]和Solka-Floc[®])、甲基纤维素、交联羧甲基纤维素或交联纤维素(如交联羧甲基纤维素钠(Ac-Di-Sol[®])、交联羧甲基纤维素或交联交联羧甲基纤维素);交联淀粉,如羟基乙酸淀粉钠;交联聚合物,如交聚维酮、交联聚乙烯基吡咯烷酮;海藻酸盐,如海藻酸或海藻酸的盐(如海藻酸钠);黏土,如Veegum[®]HV(硅酸镁铝);胶质,如琼脂、瓜尔胶、槐豆胶、卡拉牙胶、果胶或黄蓍胶;羟基乙酸淀粉钠;膨润土;天然海绵;表面活性剂;树脂,如阳离子交换树脂;柑橘渣;十二烷基硫酸钠;十二烷基硫酸钠与淀粉的组合等。

[0337] 在一些情况下,药物配制品包括填充剂,如乳糖、碳酸钙、磷酸钙、磷酸氢钙、硫酸钙、微晶纤维素、纤维素粉、右旋糖、葡萄糖结合剂、葡聚糖、淀粉、预胶化淀粉、蔗糖、木糖醇、乳糖醇、甘露醇、山梨醇、氯化钠、聚乙二醇等。

[0338] 润滑剂和助流剂也任选地包括在本文所述的药物配制品中,用于防止、减少或抑制材料的粘附或摩擦。示例性润滑剂包括例如硬脂酸、氢氧化钙、滑石粉、硬脂酰富马酸钠、烃(如矿物油,或氢化植物油,如氢化大豆油(Sterotex[®]))、高级脂肪酸及其碱金属和碱土金属盐(如铝、钙、镁、锌、硬脂酸、硬脂酸钠)、甘油、滑石粉、蜡、Stearowet[®]、硼酸、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠、亮氨酸、聚乙二醇(例如,PEG-4000)或甲氧基聚乙二醇(如Carbowax[™])、油酸钠、苯甲酸钠、山萘酸甘油酯、聚乙二醇、十二烷基硫酸镁或十二烷基硫酸钠、胶体二氧化硅(如Syloid[™]、Cab-O-Sil[®])、淀粉(如玉米淀粉)、硅油、表面活性剂等。

[0339] 增塑剂包括用于软化微囊化材料或薄膜包衣以使其脆性降低的化合物。合适的增塑剂包括例如聚乙二醇(如PEG 300、PEG 400、PEG 600、PEG 1450、PEG 3350和PEG800)、硬脂酸、丙二醇、油酸、三乙基纤维素和三醋汀。增塑剂也可以起分散剂或润湿剂的作用。

[0340] 增溶剂包括诸如三醋汀、柠檬酸三乙酯、油酸乙酯、辛酸乙酯、十二烷基硫酸钠、多库酯钠、维生素E TPGS、二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮、N-羟乙基吡咯烷酮、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素、羟丙基环糊精、乙醇、正丁醇、异丙醇、胆固醇、胆汁盐、聚乙二醇200-600、四氢呋喃聚乙二醇醚、二乙二醇单乙基醚、丙二醇和二甲基异山梨醇酯等化合物。

[0341] 稳定剂包括诸如任何抗氧化剂、缓冲剂、酸、防腐剂等化合物。示例性稳定剂包括L-精氨酸盐酸盐、氨基丁三醇、白蛋白(人)、柠檬酸、苯甲醇、苯酚、磷酸二氢二钠脱水合物、丙二醇、间甲酚(metacresol)或间甲酚(m-cresol)、乙酸锌、聚山梨醇酯-20或Tween®20或氨丁三醇。

[0342] 助悬剂包括诸如以下的化合物:聚乙烯吡咯烷酮,例如聚乙烯吡咯烷酮K12、聚乙烯吡咯烷酮K17、聚乙烯吡咯烷酮K25或聚乙烯吡咯烷酮K30;乙烯吡咯烷酮/乙酸乙烯酯共聚物(S630);聚乙二醇,例如聚乙二醇可以具有约300至约6000、或约3350至约4000、或约7000至约5400的分子量;羧甲基纤维素钠;甲基纤维素;羟丙基甲基纤维素;醋酸硬脂酸羟甲基纤维素;聚山梨醇酯-80;羟乙基纤维素;海藻酸钠;胶质,如例如黄蓍胶和阿拉伯胶、瓜尔胶、黄原胶类(包括黄原胶);糖;纤维质,如例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素;聚山梨醇酯-80;海藻酸钠;聚乙氧基化脱水山梨醇单月桂酸酯、聚乙氧基化脱水山梨醇单月桂酸酯;聚维酮等。

[0343] 在一些实施方案中,药物配制品还包含用于稳定化合物的稀释剂,因为它们可以提供更稳定的环境。溶解于缓冲溶液中的盐(其也可以提供pH控制或维持)在本领域中用作稀释剂,包括但不限于磷酸盐缓冲盐水溶液。

[0344] 稳定剂包括诸如任何抗氧化剂、缓冲剂、酸、防腐剂等化合物。示例性稳定剂包括L-精氨酸盐酸盐、氨基丁三醇、白蛋白(人)、柠檬酸、苯甲醇、苯酚、磷酸二氢二钠脱水合物、丙二醇、间甲酚(metacresol)或间甲酚(m-cresol)、乙酸锌、聚山梨醇酯-20或Tween®20或氨丁三醇。

[0345] 表面活性剂包括诸如十二烷基硫酸钠、多库酯钠、Tween 60或80、三醋汀、维生素E TPGS、脱水山梨醇单油酸酯、聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯、聚山梨醇酯、泊洛沙姆(polaxamer)、胆汁盐、单硬脂酸甘油酯、环氧乙烷与环氧丙烷的共聚物(例如,Pluronic®(BASF))等化合物。另外的表面活性剂包括聚氧乙烯脂肪酸甘油酯和植物油(例如,聚氧乙烯(60)氢化蓖麻油)以及聚氧乙烷基醚和烷基苯基醚(例如,辛苯聚醇10、辛苯聚醇40)。有时,包括表面活性剂以增强物理稳定性或用于其他目的。

治疗方案

[0346] 在一些实施方案中,施用本文所述的药物组合物以用于治疗应用。在一些实施方案中,将药物组合物每天施用一次、每天施用两次、每天施用三次或更多次。将药物组合物每日施用、每天施用、每隔一天施用、每周施用五天、每周施用一次、每隔一周施用、每月施用两周、每月施用三周、每月施用一次、每月施用两次、每月施用三次或更多次。将药物组合物施用至少1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、18个月、2年、3年或更久。

[0347] 在患者状况确实有所改善的情况下,根据医生的判断,连续施用所述组合物,可替代地,将施用的组合物的剂量暂时减少或暂时中止一定时间(即“药物假期”)。在一些实施方案中,药物假期的长度在2天至1年之间变化,仅作为示例,所述药物假期的长度包括2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、15天、20天、28天、35天、50天、70天、100天、120天、150天、180天、200天、250天、280天、300天、320天、350天或365天。药物假期期间的剂量减少为10%-100%,仅作为示例,包括10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

[0348] 一旦患者病症得到改善,必要时施用维持剂量。随后,可以根据症状将剂量或施用频率或两者降低至保留改善的疾病、障碍或病症的水平。

[0349] 在一些实施方案中,对应于这种量的给定药剂的量根据多种因素而变化,所述因素如特定化合物、疾病的严重程度、需要治疗的受试者或宿主的特性(例如,体重),然而根据围绕病例的特定情况(包括例如所施用的具体药剂、施用途径和所治疗的受试者或宿主)以本领域已知的方式常规地确定。在一些实施方案中,希望的剂量方便地以单剂量或以分开的剂量同时(或在短时间段内)或以适当的间隔(例如每天两个、三个、四个或更多个亚剂量)提供。

[0350] 前述范围仅仅是提示性的,因为关于单一治疗方案的变量数量很大,并且相对于这些推荐值的显著偏差并不罕见。此类剂量根据许多变量而改变,不限于所使用化合物的活性、待治疗的疾病或病症、施用方式、个体受试者的需求、所治疗疾病或病症的严重程度以及执业医师的判断。

[0351] 在一些实施方案中,通过细胞培养物或实验动物中的标准制药学程序来确定此类治疗方案的毒性和治疗功效,所述标准制药学程序包括但不限于LD50(对50%的群体致死的剂量)和ED50(对50%的群体具有治疗效果的剂量)的确定。毒性与治疗效果之间的剂量比是治疗指数,并且其表示为LD50与ED50之间的比率。展现出高治疗指数的化合物是优选的。将从细胞培养测定和动物研究获得的数据用于制定用于人的剂量范围。此类化合物的剂量优选地在循环浓度的范围内,所述循环浓度包括具有最小毒性的ED50。剂量根据所采用的剂型和所利用的施用途径而在此范围内变化。

试剂盒/制品

[0352] 在某些实施方案中,本文公开了与本文所述的一种或多种方法和组合物一起使用的试剂盒和制品。此类试剂盒包括载体、包装或容器,其被分隔以容纳一个或多个容器如小瓶、管等,所述一个或多个容器中的每一个包含有待在本文所述的方法中使用的单独要素之一。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器和试管。在一个实施方案中,容器由各种材料(如玻璃或塑料)形成。

[0353] 本文提供的制品含有包装材料。药物包装材料的例子包括但不限于泡罩包装、瓶、管、袋、容器、瓶、以及适用于所选配制品以及预期施用方式和治疗的任何包装材料。

[0354] 例如,所述一种或多种容器包含本文公开的IL-15多肽或IL-15缀合物中的一种或多种,以及任选地一种或多种本文所述的药物赋形剂,以促进IL-15多肽或IL-15缀合物的递送。此类试剂盒任选地还包含与其在本文所述的方法中的使用有关的识别描述或标签或说明。

[0355] 试剂盒通常包含列出内容物和/或使用说明的标签、以及包含使用说明的包装说

说明书。通常还将包括一组指令。

[0356] 在一个实施方案中,标签在容器上或与容器相关联。在一个实施方案中,当形成标签的字母、数字或其他字符被贴附、模制或蚀刻到容器本身中时,标签在容器上;当标签存在于还容纳容器的器皿或载体内时,标签与容器相连,例如作为包装说明书。在一个实施方案中,标签用于指示内容物将用于特定治疗应用。标签还指示如在本文所述的方法中使用内容物的指导。

[0357] 在某些实施方案中,药物组合物存在于包装或分配器装置中,所述装置含有一个或多个含有本文所提供化合物的单位剂型。包装例如含有金属或塑料箔,如泡罩包装。在一个实施方案中,包装或分配器装置附有施用说明书。在一个实施方案中,包装或分配器还附有与容器相连的通知,所述通知的形式由管理药物制造、使用或销售的政府机构规定,所述通知反映了所述机构对于人或兽医施用的药物形式的批准。例如,此类通知是由美国食品和药物管理局批准的药物标签,或批准的产品插页。在一个实施方案中,还制备了在相容的药物载体中配制的含有本文所提供的化合物的组合物,将其放置在适当的容器中,并标记用于治疗所指示病症。

特定术语

[0358] 除非另外定义,否则本文中使用的所有技术术语和科学术语具有与要求保护的主体所属领域的技术人员通常所理解的相同的含义。应理解,详细描述仅是示例性和解释性的,并不是对所要求保护的任何主题的限制。在本申请中,除非另外明确陈述,否则单数的使用包括复数含义。必须指出,如在说明书中所用,除非上下文另外清楚地规定,否则单数形式“一种/一个(a)”、“一种/一个(an)”和“所述(the)”包括复数指示物。在本申请中,除非另外陈述,否则“或”的使用意指“和/或”。此外,术语“包括(including)”以及其他形式如“包括(include)”、“包括(includes)”和“包括(included)”的使用是非限制性的。

[0359] 尽管本发明的各种特征可以在单一实施方案的上下文中描述,但所述特征也可以单独提供或以任何合适的组合提供。相反,尽管为了清楚起见,本文可以在分开的实施方案的背景下描述本发明,但是本发明也可以在单一实施方案中实现。

[0360] 在说明书中对“一些实施方案”、“实施方案”、“一个实施方案”或“其他实施方案”的提及意指结合实施方案描述的特定特征、结构或特性包括在本公开文本的至少一些实施方案中,但不必包括在本发明的所有实施方案中。

[0361] 如本文所用,范围和数量可以表示为“约”特定值或范围。约也包括确切的量。因此,“约5 μ L”意指“约5 μ L”并且也意指“5 μ L”。通常,术语“约”包括可预期在实验误差内的量。

[0362] 本文使用的章节标题仅用于组织目的,而不应解释为限制所描述的主题。在通过引用并入的任何材料可能与本公开文本的明确内容不一致的情况下,以明确内容为准。除非上下文另外清楚地规定,否则“或”在包含性意义上使用,即等同于“和/或”。

[0363] 如本文所用,术语“一个或多个个体”、“一名或多名受试者”和“一名或多名患者”意指任何哺乳动物。在一些实施方案中,所述哺乳动物是人。在一些实施方案中,所述哺乳动物是非人。所述术语均不要求或不限于以卫生保健工作者(例如医生、注册护士、执业护士、医师助理、护理员或临终关怀工作者)进行监督(例如持续或间断)为特征的情况。

[0364] 如本文所用,关于受体结合的术语“显著”和“显著地”意指足以影响IL-15多肽与靶受体结合的变化。在一些情况下,所述术语是指至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、

70%、80%、90%、95%或更大的变化。在一些情况下,所述术语意指至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、50倍、100倍、500倍、1000倍或更大的变化。

[0365] 在一些情况下,涉及经由细胞因子信号传导复合物激活一个或多个细胞群的术语“显著地”意指足以激活细胞群的变化。在一些情形下,将激活细胞群的变化测量为受体信号传导效力。在此类情况下,可以提供EC50值。在其他情况下,可以提供ED50值。在另外的情形下,可以提供细胞因子的浓度或剂量。

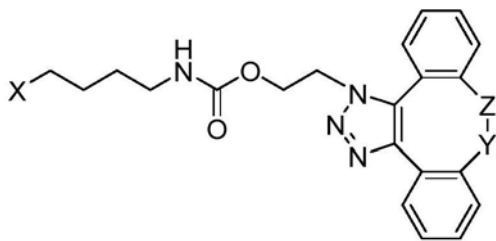
[0366] 如本文所用,术语“效力”是指产生靶效应所需的细胞因子(例如,IL-15多肽)量。在一些情况下,术语“效力”是指激活靶细胞因子受体(例如,IL-15受体)所需的细胞因子(例如,IL-15多肽)量。在其他情形下,术语“效力”是指激活靶细胞群所需的细胞因子(例如,IL-15多肽)量。在一些情形下,将效力测量为ED50(有效剂量50)或产生50%最大效应所需的剂量。在其他情况下,将效力测量为EC50(有效浓度50)或在50%群体中产生靶效应所需的剂量。

[0367] 如本文所用,术语“一种或多种肿瘤浸润性免疫细胞”是指已经浸入包含肿瘤细胞的区域中(例如,在肿瘤微环境中)的免疫细胞。在一些情况下,肿瘤浸润性免疫细胞与肿瘤细胞破坏、肿瘤细胞增殖减少、肿瘤负荷降低或其组合相关。在一些情况下,肿瘤浸润性免疫细胞包括肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。在一些情况下,肿瘤浸润性免疫细胞包括T细胞、B细胞、自然杀伤细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞或嗜碱性粒细胞。在一些情况下,肿瘤浸润性免疫细胞包括CD4+或CD8+ T细胞。

[0368] 如本文所用,“IL-15缀合物”是衔接(如通过接头)至缀合部分(例如包含PEG基团)的IL-15多肽;所述IL-15缀合物可以处于但不一定处于药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物的形式。如本文其他地方详细描述,IL-15多肽可包含非天然氨基酸,所述非天然氨基酸可以用作与缀合部分的衔接位点。

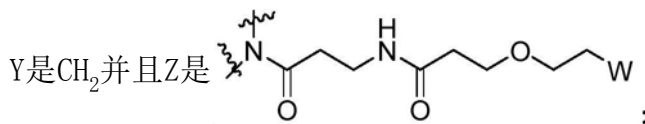
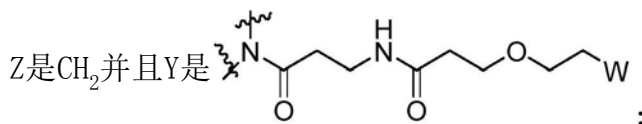
[0369] 编号的实施方案.本公开文本包括以下非限制性编号的实施方案:

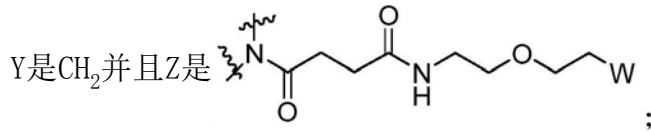
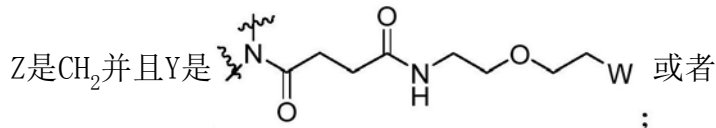
实施方案1.一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物替代:



式 (I);

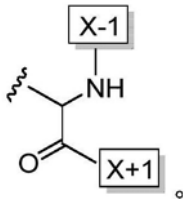
其中:



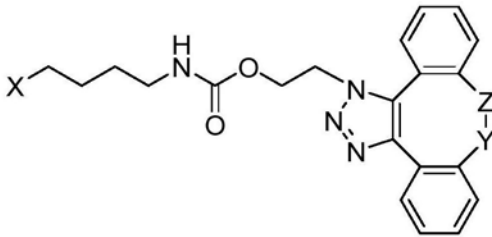


W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：

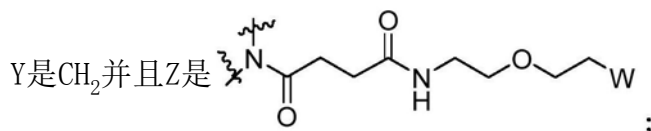
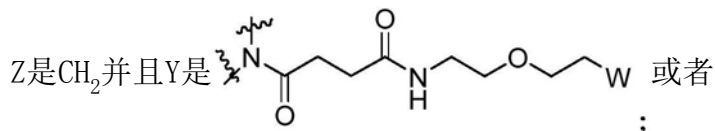
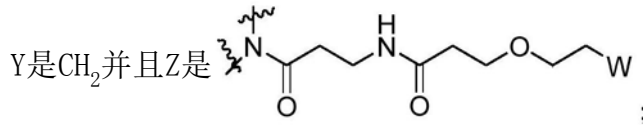
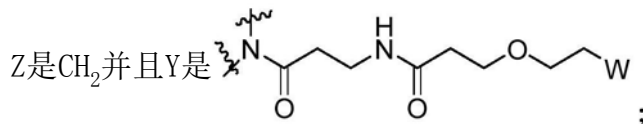


实施方案1.1.一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构替代：



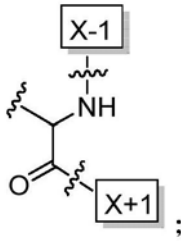
式 (I)；

其中：



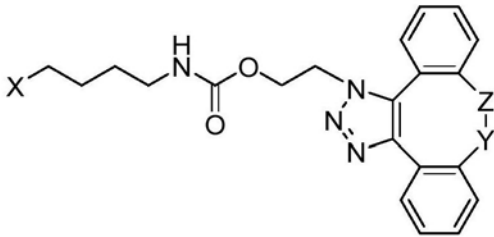
W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



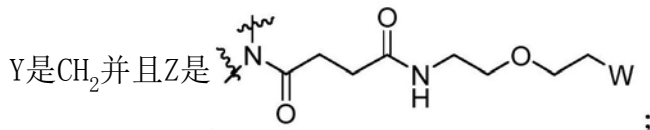
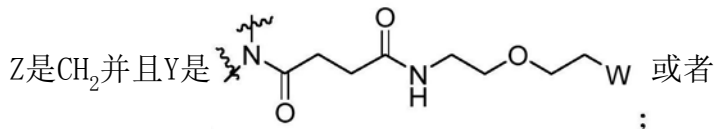
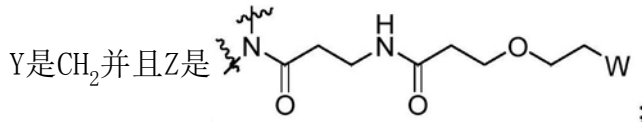
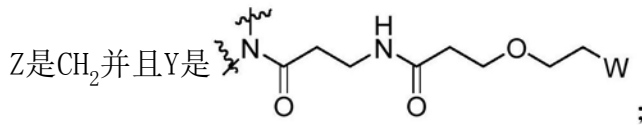
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及
X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案2.一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物替代:



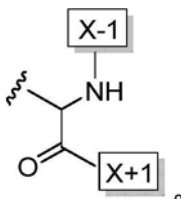
式 (I);

其中:



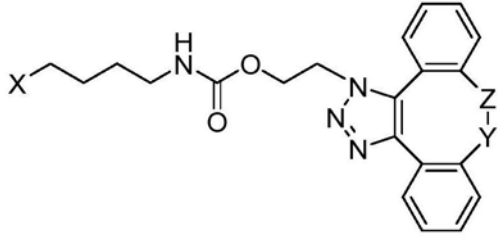
W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



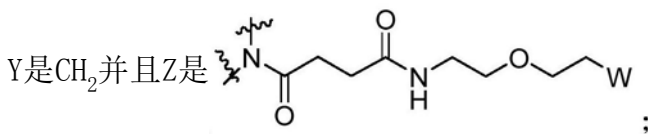
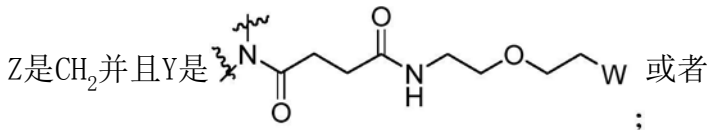
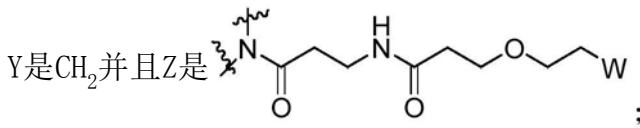
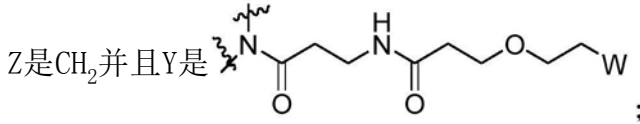
实施方案2.1.一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-

15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(I)的结构替代:



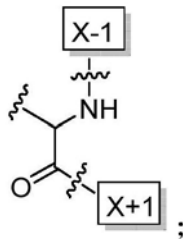
式 (I);

其中:



W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

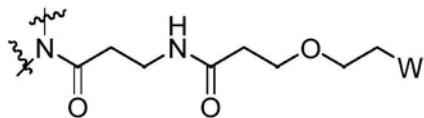
X具有以下结构:



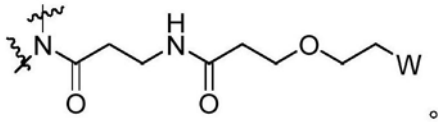
X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

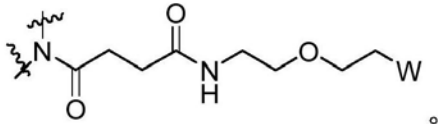
实施方案3. 根据实施方案1-2.1中任一项所述的IL-15缀合物, 其中Z是CH₂并且Y



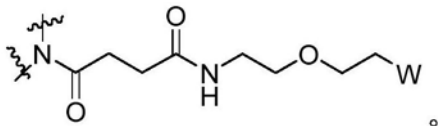
实施方案4. 根据实施方案1-2.1中任一项所述的IL-15缀合物, 其中Y是CH₂并且Z



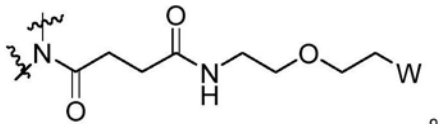
实施方案5. 根据实施方案1-2.1中任一项所述的IL-15缀合物, 其中Z是CH₂并且Y是



实施方案6. 根据实施方案1-2.1中任一项所述的IL-15缀合物, 其中Z是CH₂并且Y是



实施方案7. 根据实施方案1-2.1中任一项所述的IL-15缀合物, 其中Y是CH₂并且Z是



实施方案8. 根据实施方案1至7中任一项所述的IL-15缀合物, 其中所述PEG基团具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量。

实施方案9. 根据实施方案8所述的IL-15缀合物, 其中所述PEG基团具有5kDa的平均分子量。

实施方案10. 根据实施方案8所述的IL-15缀合物, 其中所述PEG基团具有30kDa的平均分子量。

实施方案11. 根据实施方案1或1.1所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。

实施方案12. 根据实施方案11所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。

实施方案13. 根据实施方案11所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。

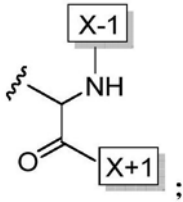
实施方案14. 根据实施方案11所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。

实施方案15. 根据实施方案11所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。

实施方案16. 根据实施方案11所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。

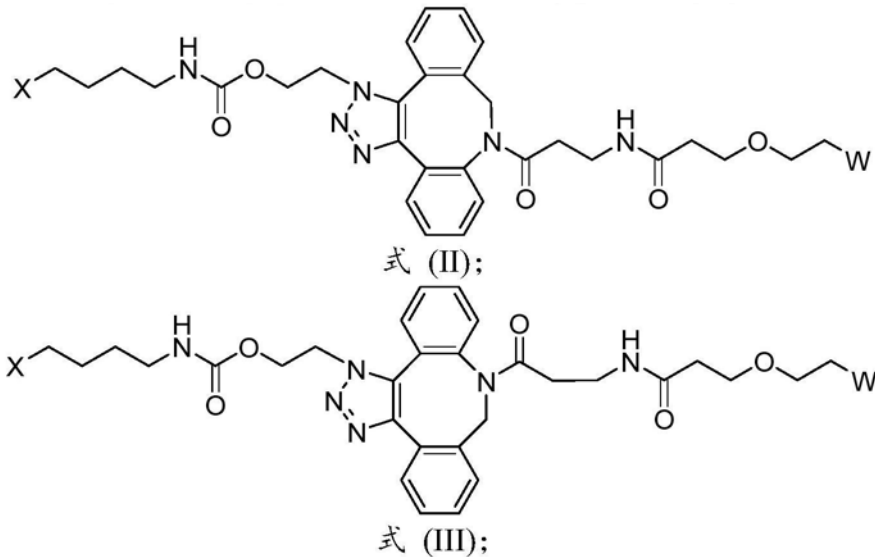
实施方案17. 根据实施方案11所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。

实施方案18. 根据实施方案11所述的IL-15缀合物, 其中式(I)的结构在所述IL-15



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

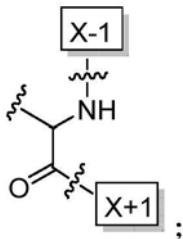
实施方案27.1. 一种包含SEQ ID NO:16-21中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)的结构,或者式(II)与式(III)的混合物:



其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

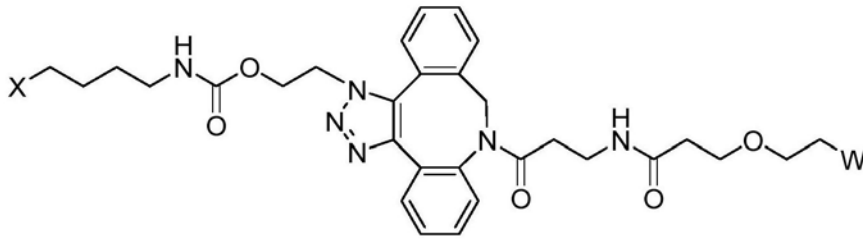


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案28. 根据实施方案27或27.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的混合物。

实施方案29. 根据实施方案27或27.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG]具有式(II)的结构:



式 (II);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案30. 根据实施方案29所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

实施方案31. 根据实施方案30所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案32. 根据实施方案31所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案33. 根据实施方案32所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案34. 根据实施方案32所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案35. 根据实施方案29所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

实施方案36. 根据实施方案35所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案37. 根据实施方案36所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案38. 根据实施方案37所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案39. 根据实施方案37所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案40. 根据实施方案29所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

实施方案41. 根据实施方案40所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案42. 根据实施方案41所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案43. 根据实施方案42所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案44. 根据实施方案42所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案45. 根据实施方案29所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列。

实施方案46.根据实施方案45所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案47.根据实施方案46所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案48.根据实施方案47所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案49.根据实施方案47所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案50.根据实施方案29所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

实施方案51.根据实施方案50所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案52.根据实施方案51所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案53.根据实施方案52所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案54.根据实施方案52所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案55.根据实施方案29所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列。

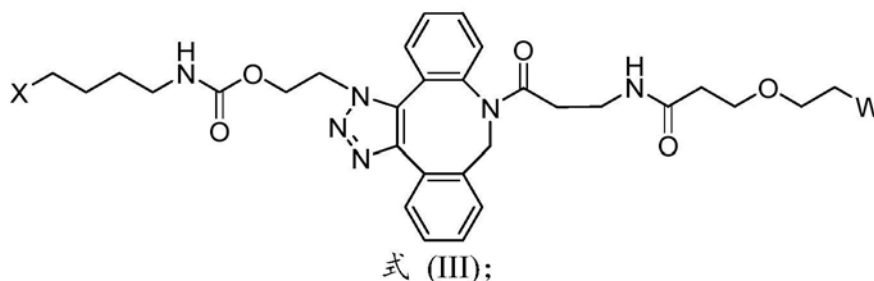
实施方案56.根据实施方案55所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案57.根据实施方案56所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案58.根据实施方案57所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案59.根据实施方案57所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案60.根据实施方案27或27.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG]具有式(III)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案61.根据实施方案60所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

实施方案62. 根据实施方案61所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案63. 根据实施方案62所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案64. 根据实施方案63所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案65. 根据实施方案63所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案66. 根据实施方案60所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

实施方案67. 根据实施方案66所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案68. 根据实施方案67所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案69. 根据实施方案68所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案70. 根据实施方案68所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案71. 根据实施方案60所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

实施方案72. 根据实施方案71所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案73. 根据实施方案72所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案74. 根据实施方案73所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案75. 根据实施方案73所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案76. 根据实施方案60所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列。

实施方案77. 根据实施方案76所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案78. 根据实施方案77所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案79. 根据实施方案78所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案80. 根据实施方案78所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案81. 根据实施方案60所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ

ID NO:20的氨基酸序列。

实施方案82.根据实施方案81所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案83.根据实施方案82所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案84.根据实施方案83所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案85.根据实施方案83所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案86.根据实施方案60所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列。

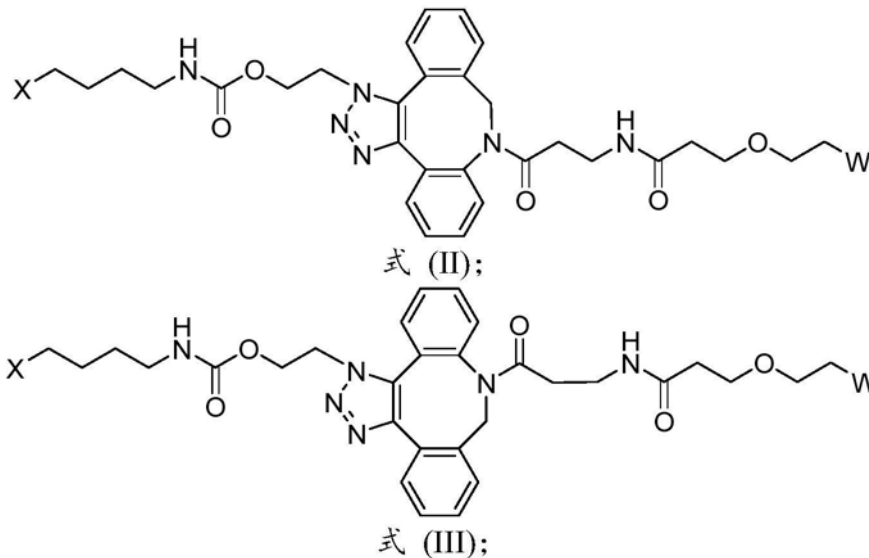
实施方案87.根据实施方案86所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案88.根据实施方案87所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案89.根据实施方案88所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案90.根据实施方案88所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

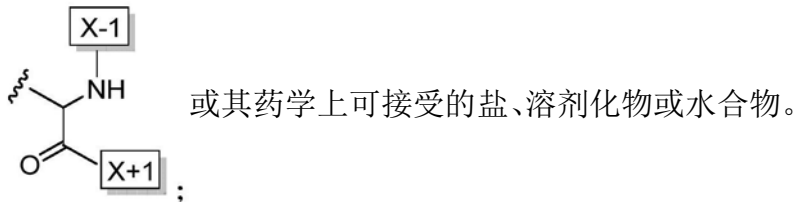
实施方案91.一种包含SEQ ID NO:16-21中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



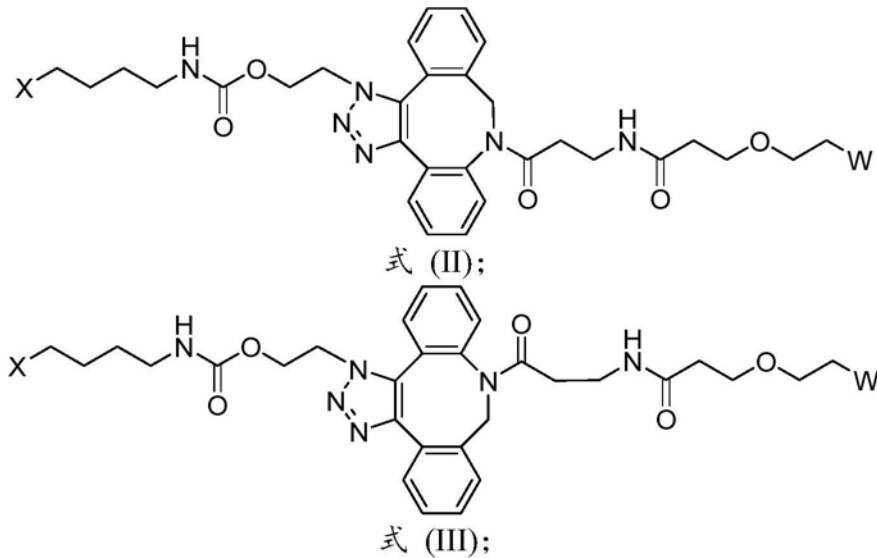
其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



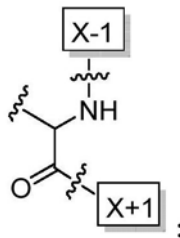
实施方案91.1. 一种包含SEQ ID NO:16-21中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案92. 根据实施方案91或91.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率为约1:1。

实施方案93. 根据实施方案91或91.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率大于1:1。

实施方案94. 根据实施方案91或91.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率小于1:1。

实施方案95. 根据实施方案1至94中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案96. 根据实施方案1至94中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG

基团。

实施方案97. 根据实施方案1至94中任一项所述的IL-15缀合物, 其中W是分支PEG基团。

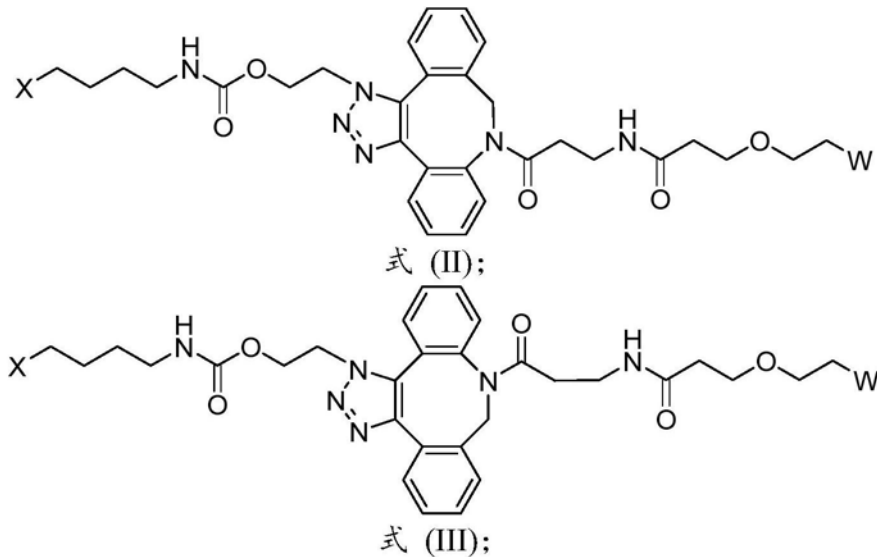
实施方案98. 根据实施方案1至94中任一项所述的IL-15缀合物, 其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案99. 根据实施方案98所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

实施方案100. 根据实施方案98所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案101. 根据实施方案98所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

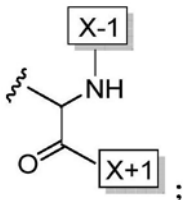
实施方案102. 一种包含SEQ ID NO:22-27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构, 或者式(II)与式(III)的混合物:



其中:

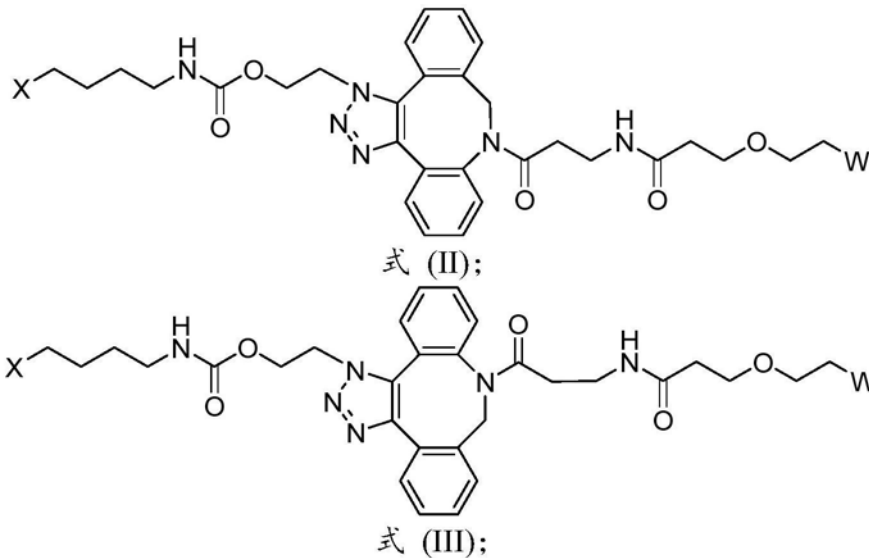
W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

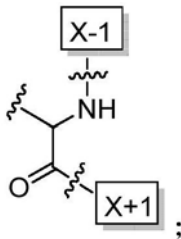
实施方案102.1. 一种包含SEQ ID NO:22-27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构, 或者式(II)与式(III)的混合物:



其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案103.根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

实施方案104.根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

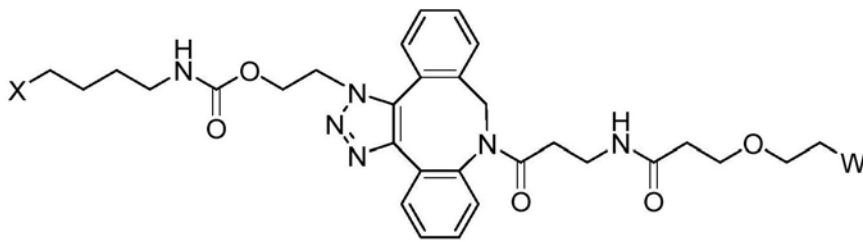
实施方案105.根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

实施方案106.根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

实施方案107.根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

实施方案108.根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

实施方案109.根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG30]具有式(II)的结构



式 (II);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案110. 根据实施方案109所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

实施方案111. 根据实施方案109所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

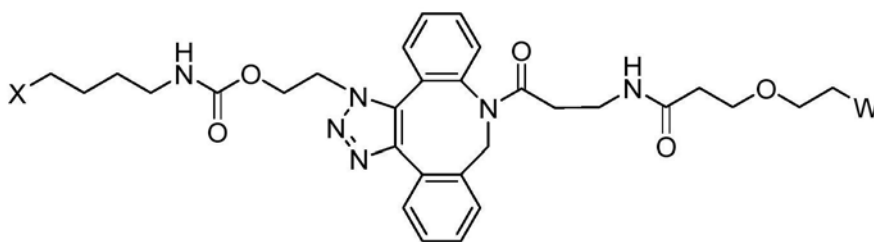
实施方案112. 根据实施方案109所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

实施方案113. 根据实施方案109所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

实施方案114. 根据实施方案109所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

实施方案115. 根据实施方案109所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

实施方案116. 根据实施方案102或102.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_PEG30]具有式(III)的结构



式 (III);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案117. 根据实施方案116所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

实施方案118. 根据实施方案116所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

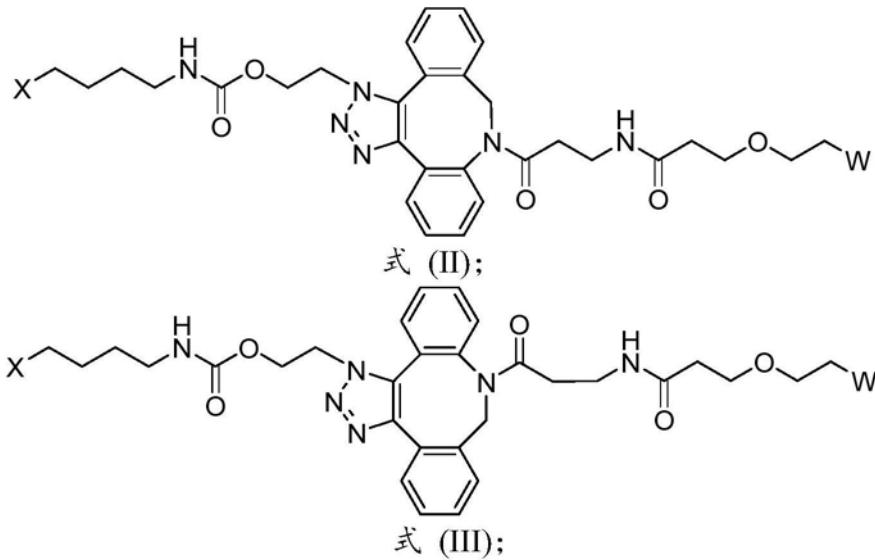
实施方案119. 根据实施方案116所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

实施方案120. 根据实施方案116所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

实施方案121. 根据实施方案116所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

实施方案122. 根据实施方案116所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

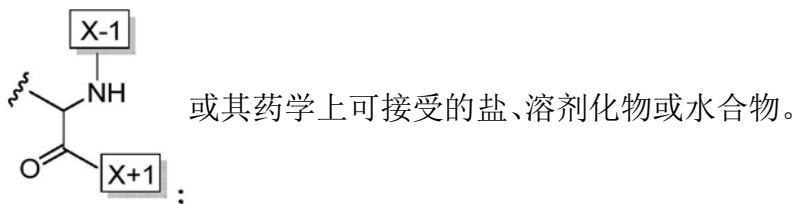
实施方案123. 一种包含SEQ ID NO:22至27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG30]是式(II)与式(III)的结构混合物:



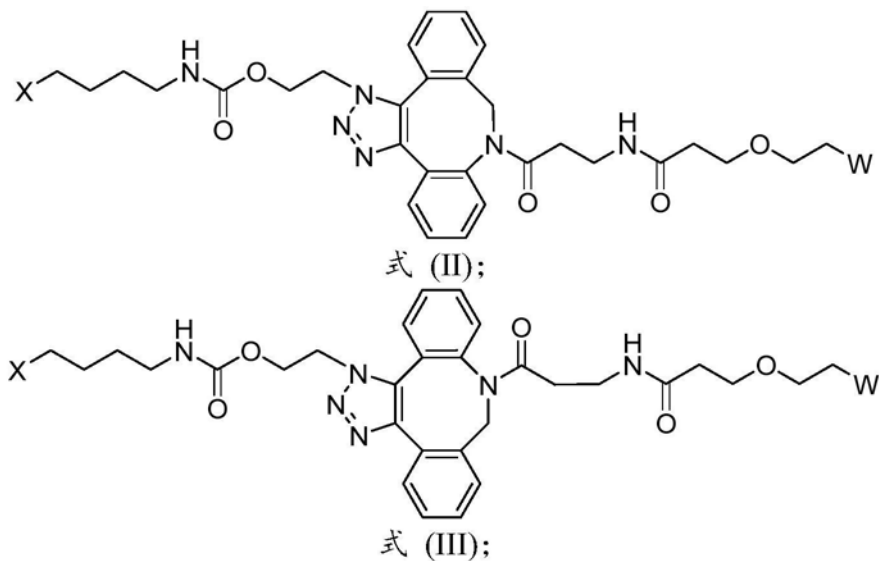
其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构:



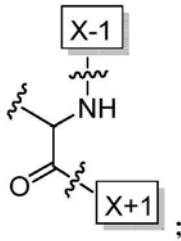
实施方案123.1. 一种包含SEQ ID NO:22至27中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG30]是式(II)与式(III)的结构混合物:



其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案124.根据实施方案123或123.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的比例为约1:1。

实施方案125.根据实施方案123或123.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的比例大于1:1。

实施方案126.根据实施方案123或123.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的比例小于1:1。

实施方案127.根据实施方案102至126中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案128.根据实施方案102至126中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案129.根据实施方案102至126中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

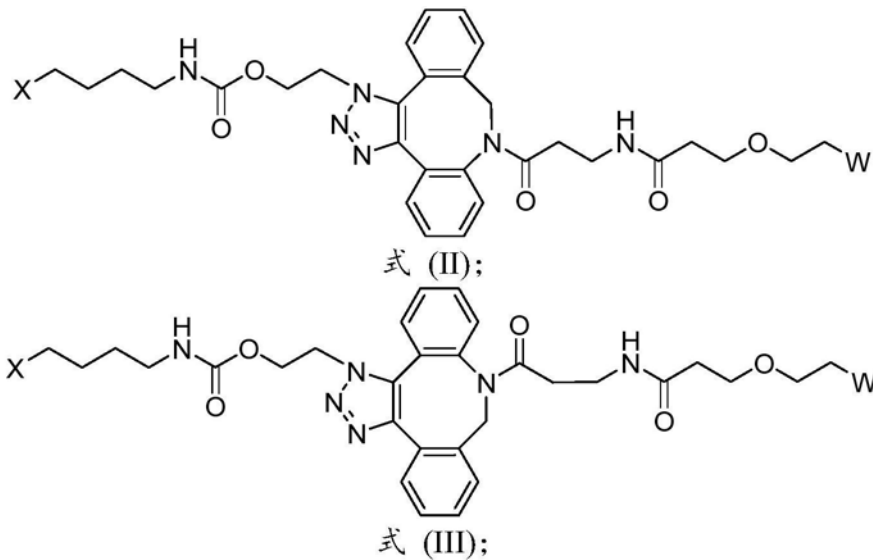
实施方案130.根据实施方案102至126中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案131.根据实施方案130所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

实施方案132.根据实施方案131所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案133.根据实施方案131所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

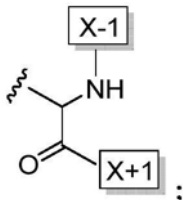
实施方案134.一种包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式(II)或式(III)的结构,或者是式(II)与式(III)的结构的混合物:



其中:

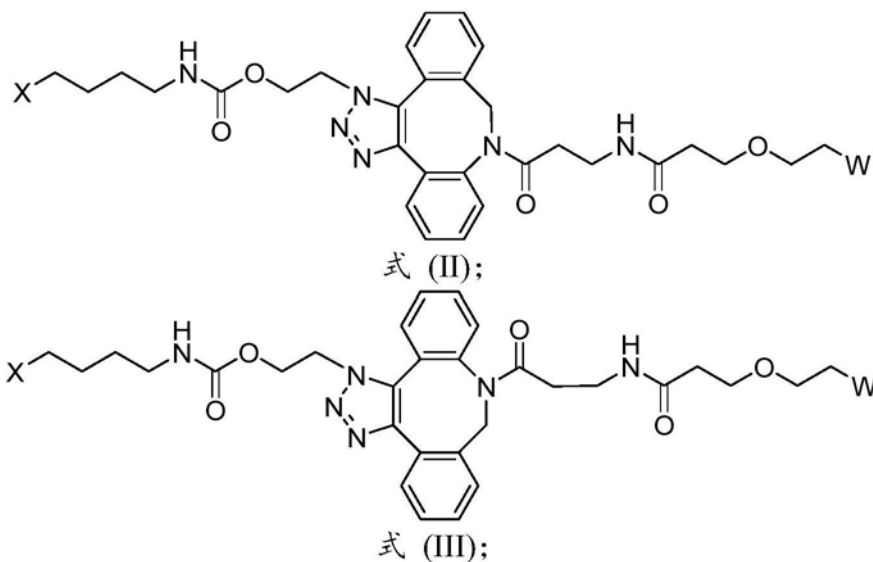
W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

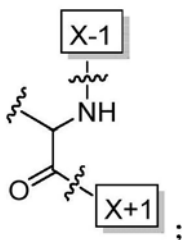
实施方案134.1.一种包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式(II)或式(III)的结构,或者是式(II)与式(III)的结构的混合物:



其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案135.根据实施方案134或134.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

实施方案136.根据实施方案134或134.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列。

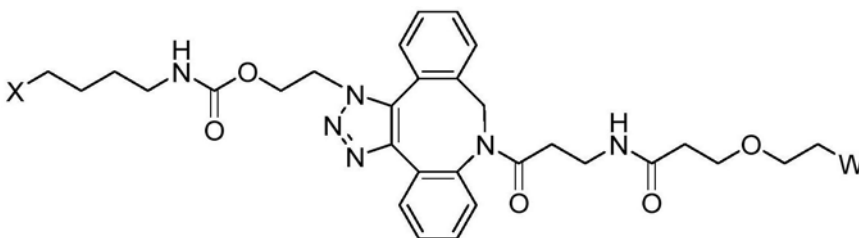
实施方案137.根据实施方案134或134.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列。

实施方案138.根据实施方案134或134.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列。

实施方案139.根据实施方案134或134.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列。

实施方案140.根据实施方案134或134.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

实施方案141.根据实施方案134或134.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG40]具有式(II)的结构:



式 (II);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案142.根据实施方案141所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

实施方案143.根据实施方案141所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列。

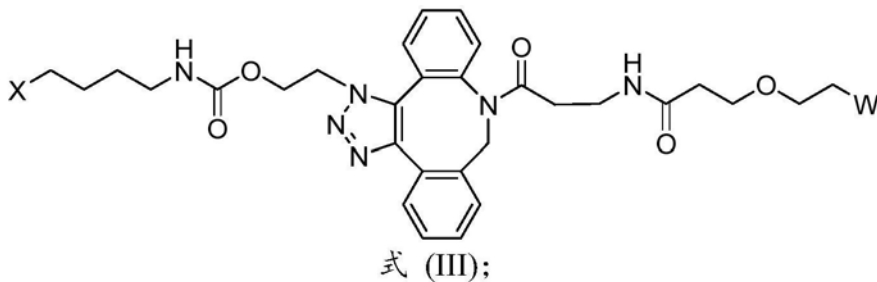
实施方案144.根据实施方案141所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列。

实施方案145.根据实施方案141所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列。

实施方案146.根据实施方案141所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列。

实施方案147. 根据实施方案141所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

实施方案148. 根据实施方案134所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_PEG40]具有式(III)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案149. 根据实施方案148所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

实施方案150. 根据实施方案148所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列。

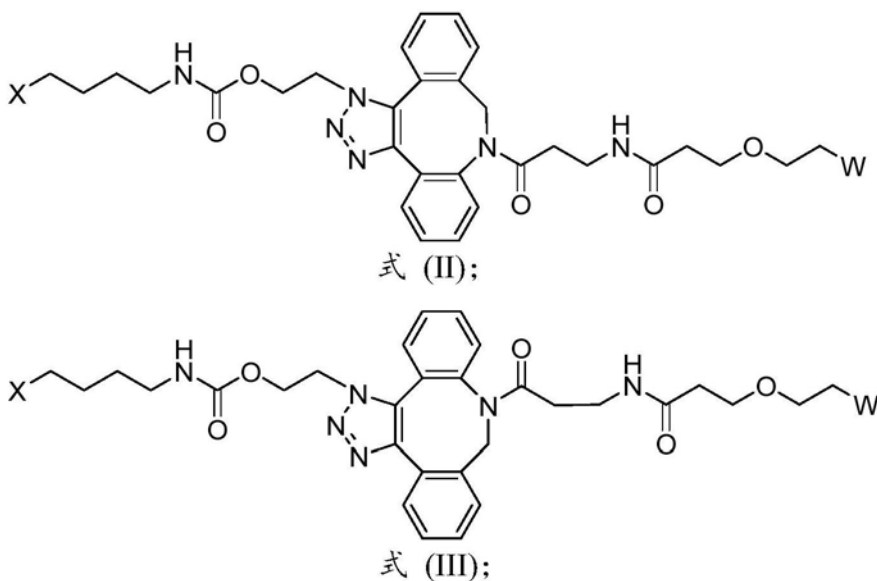
实施方案151. 根据实施方案148所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列。

实施方案152. 根据实施方案148所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列。

实施方案153. 根据实施方案148所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列。

实施方案154. 根据实施方案148所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

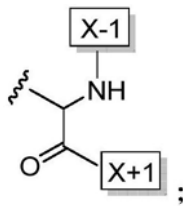
实施方案155. 一种包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



其中:

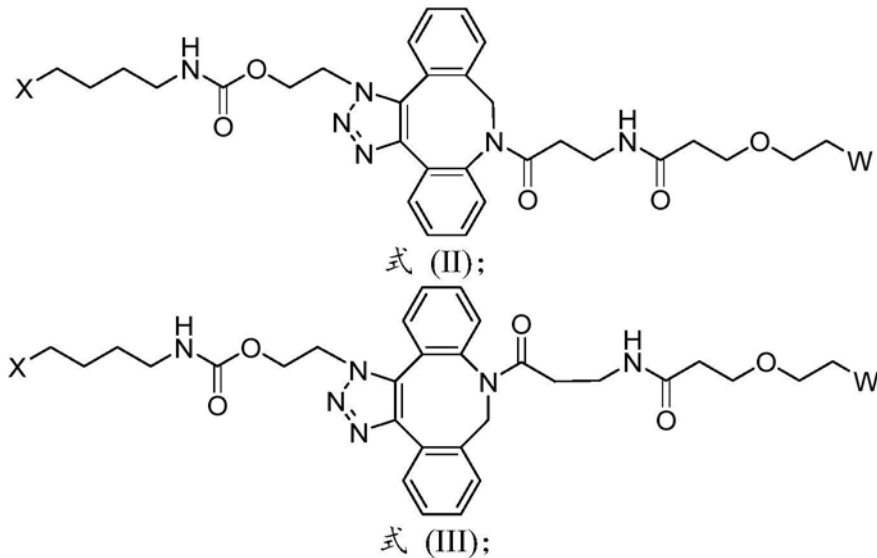
W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

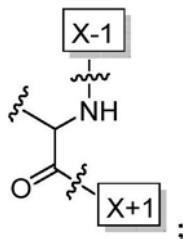
实施方案155.1.一种包含SEQ ID NO:28-33中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



其中：

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案156.根据实施方案155或155.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率为约1:1。

实施方案157.根据实施方案155或155.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率大于1:1。

实施方案158.根据实施方案155或155.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率小于1:

1。

实施方案159.根据实施方案134至158中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案160.根据实施方案134至158中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案161.根据实施方案134至158中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

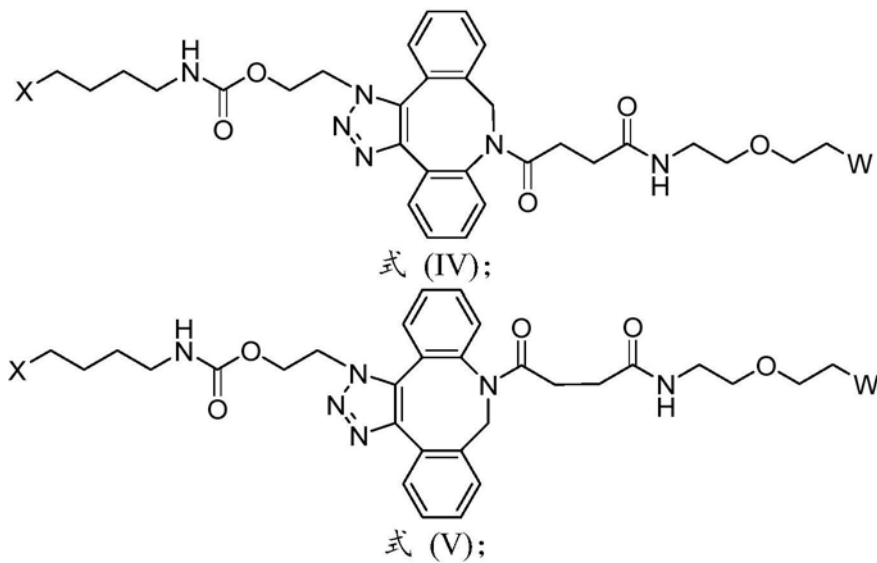
实施方案162.根据实施方案134至158中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案163.根据实施方案162所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

实施方案164.根据实施方案163所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案165.根据实施方案163所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

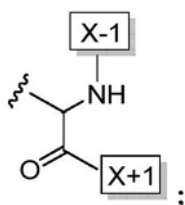
实施方案166.一种包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



其中:

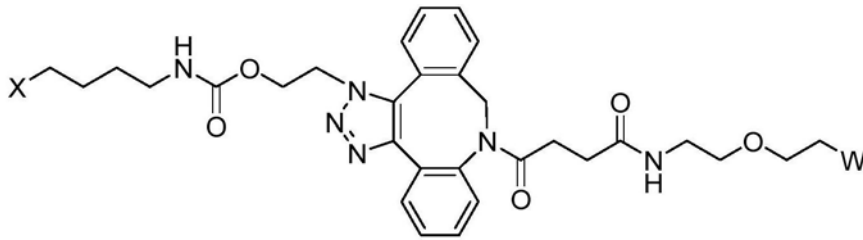
W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

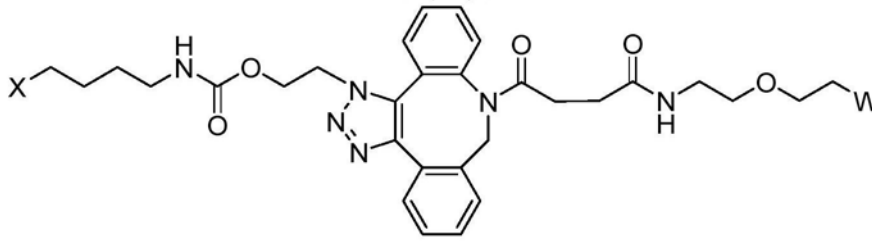


或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案166.1.一种包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式(IV);

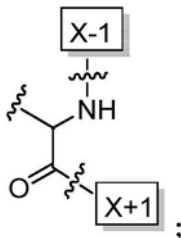


式(V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

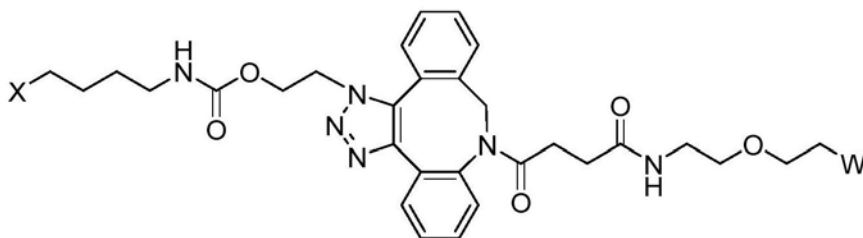


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案167.根据实施方案166或166.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的混合物。

实施方案168.根据实施方案166或166.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG]具有式(IV)的结构:



式(IV);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案169.根据实施方案168所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

实施方案170. 根据实施方案169所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案171. 根据实施方案170所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案172. 根据实施方案171所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案173. 根据实施方案171所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案174. 根据实施方案168所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列。

实施方案175. 根据实施方案174所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案176. 根据实施方案175所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案177. 根据实施方案176所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案178. 根据实施方案176所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案179. 根据实施方案168所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列。

实施方案180. 根据实施方案179所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案181. 根据实施方案180所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案182. 根据实施方案181所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案183. 根据实施方案181所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案184. 根据实施方案168所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

实施方案185. 根据实施方案184所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案186. 根据实施方案185所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案187. 根据实施方案186所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案188. 根据实施方案186所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案189. 根据实施方案168所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有

SEQ ID NO:38的氨基酸序列。

实施方案190.根据实施方案189所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案191.根据实施方案190所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案192.根据实施方案191所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案193.根据实施方案191所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案194.根据实施方案168所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列。

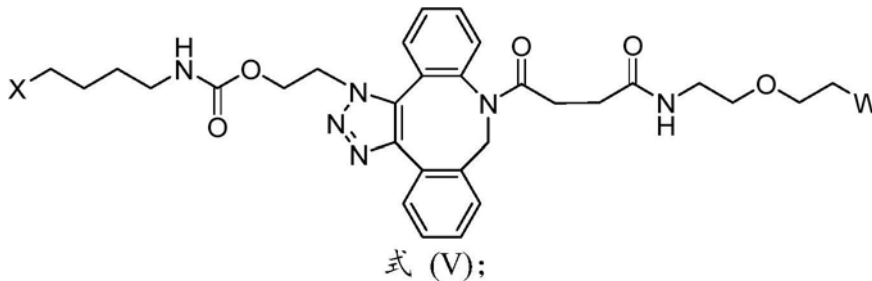
实施方案195.根据实施方案194所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案196.根据实施方案195所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案197.根据实施方案196所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案198.根据实施方案196所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案199.根据实施方案166所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG]具有式(V)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案200.根据实施方案199所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

实施方案201.根据实施方案200所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案202.根据实施方案201所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案203.根据实施方案202所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案204.根据实施方案202所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案205.根据实施方案199所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有

SEQ ID NO:35的氨基酸序列。

实施方案206.根据实施方案205所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案207.根据实施方案206所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案208.根据实施方案207所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案209.根据实施方案207所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案210.根据实施方案199所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列。

实施方案211.根据实施方案210所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案212.根据实施方案211所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案213.根据实施方案212所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案214.根据实施方案212所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案215.根据实施方案199所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

实施方案216.根据实施方案215所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案217.根据实施方案216所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案218.根据实施方案217所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案219.根据实施方案217所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案220.根据实施方案199所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列。

实施方案221.根据实施方案220所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案222.根据实施方案221所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案223.根据实施方案222所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案224.根据实施方案222所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案225. 根据实施方案199所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列。

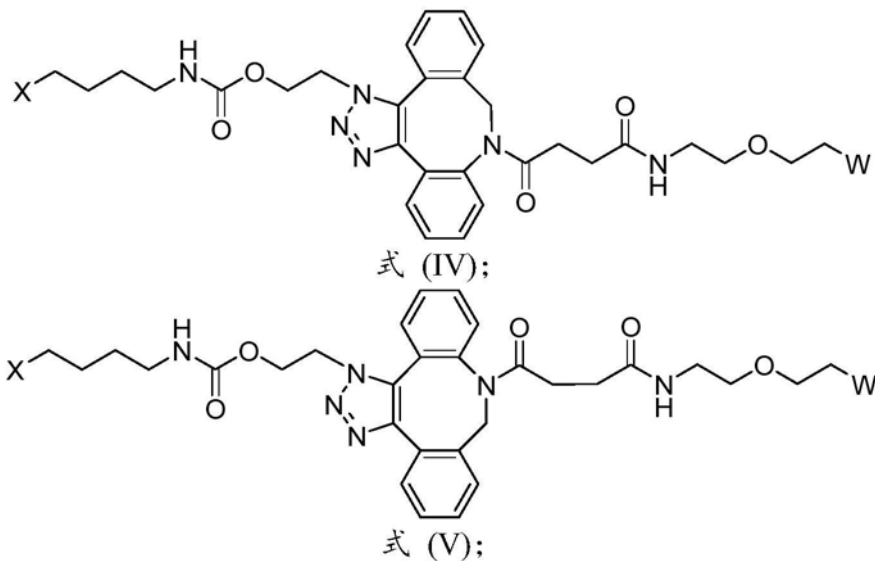
实施方案226. 根据实施方案225所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案227. 根据实施方案226所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案228. 根据实施方案227所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案229. 根据实施方案227所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

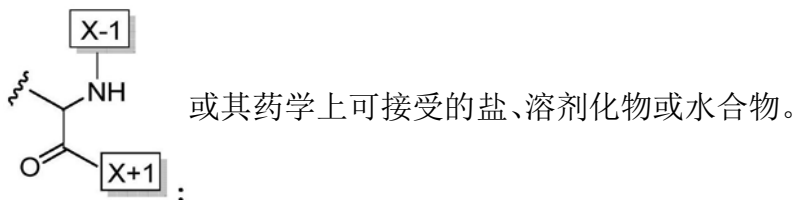
实施方案230. 一种包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[Azk_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



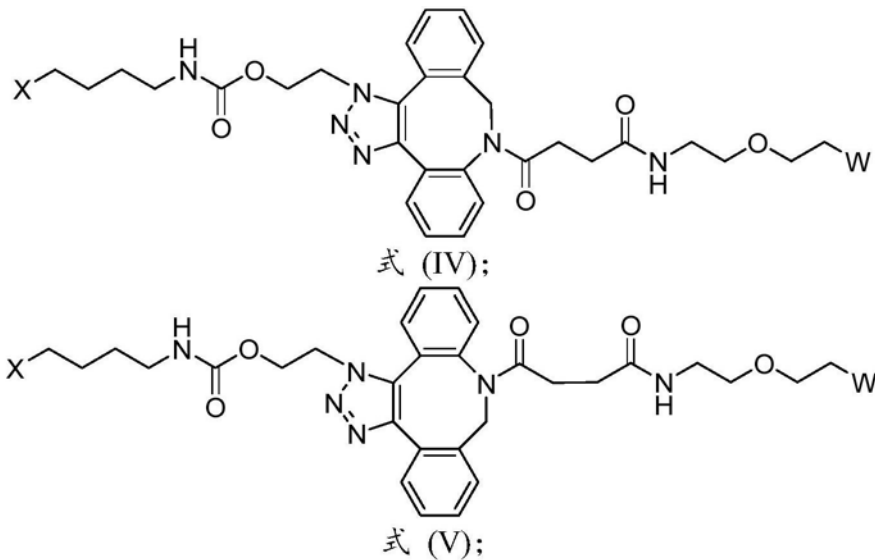
其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构:



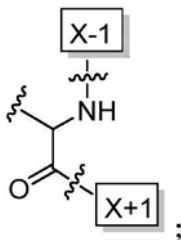
实施方案230.1. 一种包含SEQ ID NO:34-39中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[Azk_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案231.根据实施方案230或230.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率为约1:1。

实施方案232.根据实施方案230或230.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率大于1:1。

实施方案233.根据实施方案230或230.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率小于1:1。

实施方案234.根据实施方案166至233中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案235.根据实施方案166至233中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案236.根据实施方案166至233中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

实施方案237.根据实施方案166至233中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

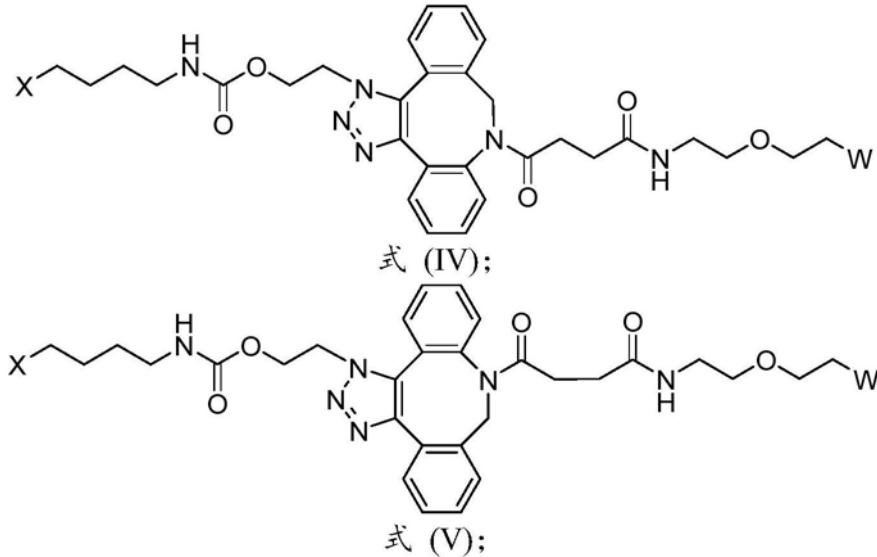
实施方案238.根据实施方案237所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是

线性或分支的。

实施方案239. 根据实施方案238所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案240. 根据实施方案238所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

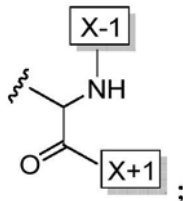
实施方案241. 一种包含SEQ ID NO:40-45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构, 或者式(IV)与式(V)的混合物:



其中:

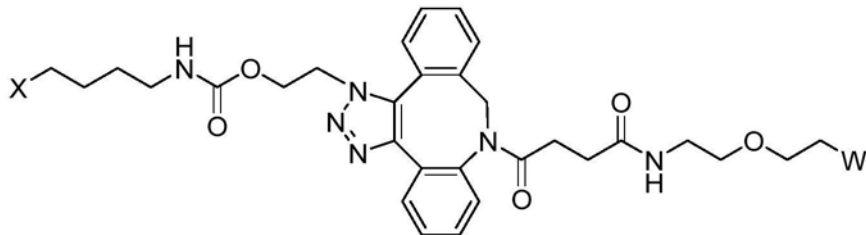
W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构:

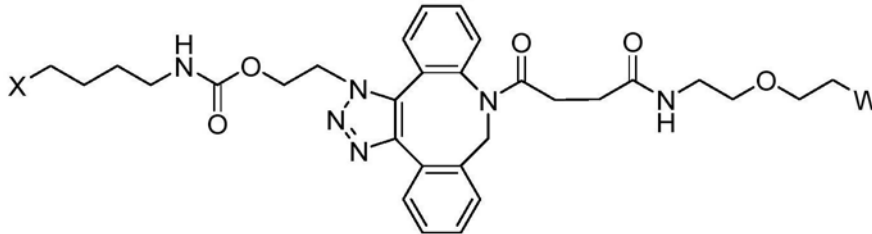


或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案241.1. 一种包含SEQ ID NO:40-45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构, 或者式(IV)与式(V)的混合物:



式 (IV);

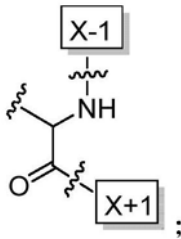


式 (V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案242.根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

实施方案243.根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

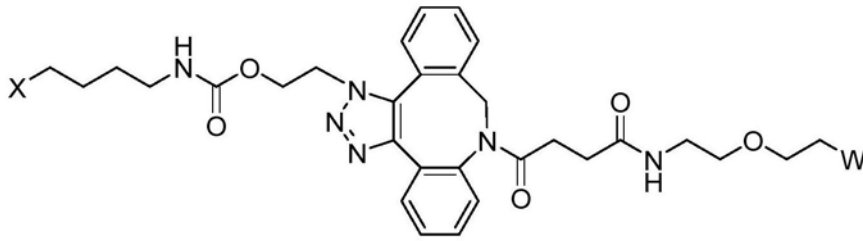
实施方案244.根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

实施方案245.根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。

实施方案246.根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

实施方案247.根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

实施方案248.根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)的结构



式 (IV);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案249. 根据实施方案248所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

实施方案250. 根据实施方案248所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

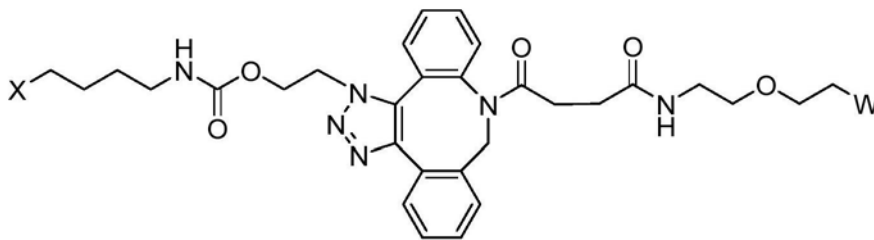
实施方案251. 根据实施方案248所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

实施方案252. 根据实施方案248所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。

实施方案253. 根据实施方案248所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

实施方案254. 根据实施方案248所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

实施方案255. 根据实施方案241或241.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_L1_PEG30]具有式(V)的结构



式 (V);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案256. 根据实施方案255所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

实施方案257. 根据实施方案255所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

实施方案258. 根据实施方案255所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

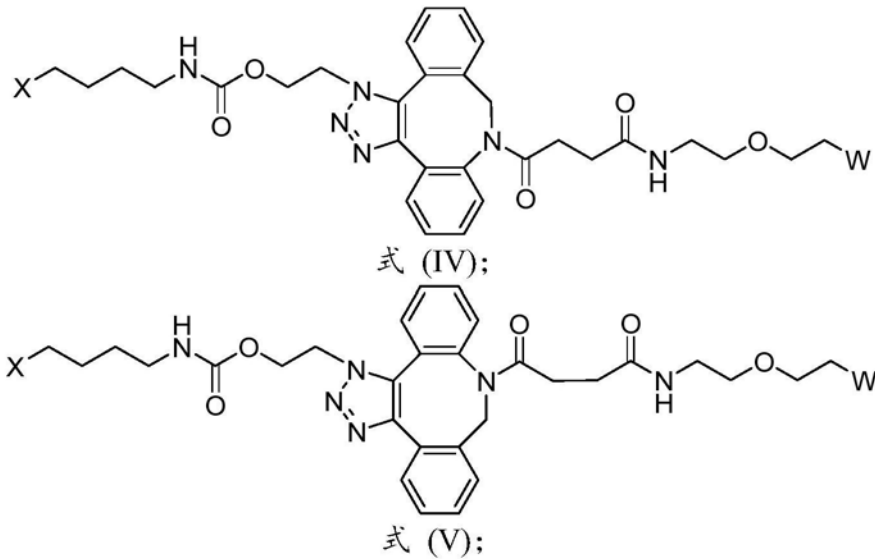
实施方案259. 根据实施方案255所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。

实施方案260. 根据实施方案255所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

实施方案261. 根据实施方案255所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有

SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

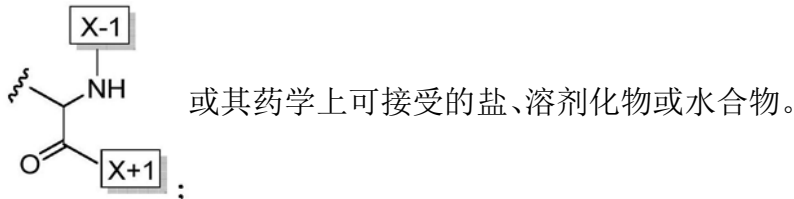
实施方案262. 一种包含SEQ ID NO:40至45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



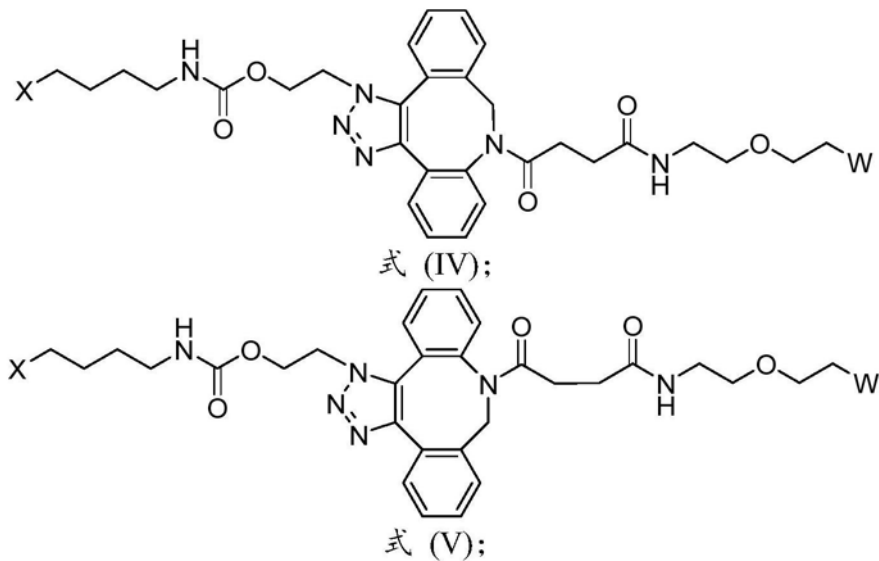
其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



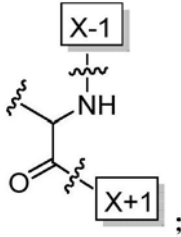
实施方案262.1. 一种包含SEQ ID NO:40至45中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构：



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案263.根据实施方案262或262.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的比例为约1:1。

实施方案264.根据实施方案262或262.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的比例大于1:1。

实施方案265.根据实施方案262或262.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的比例小于1:1。

实施方案266.根据实施方案241至265中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案267.根据实施方案241至265中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案268.根据实施方案241至265中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

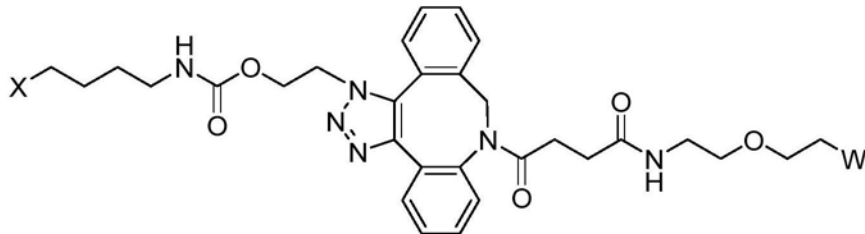
实施方案269.根据实施方案241至265中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案270.根据实施方案269所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

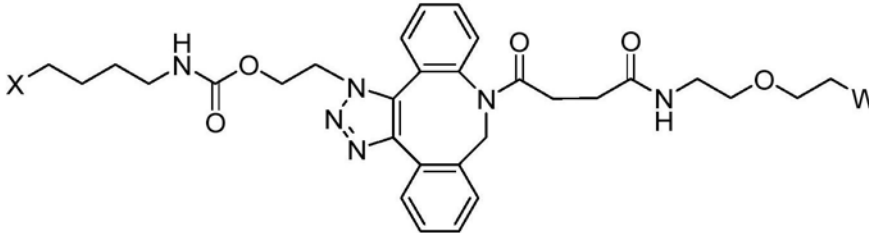
实施方案271.根据实施方案270所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案272.根据实施方案270所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

实施方案273.一种包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)或式(V)的结构,或者是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

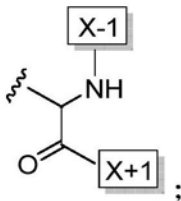


式 (V);

其中:

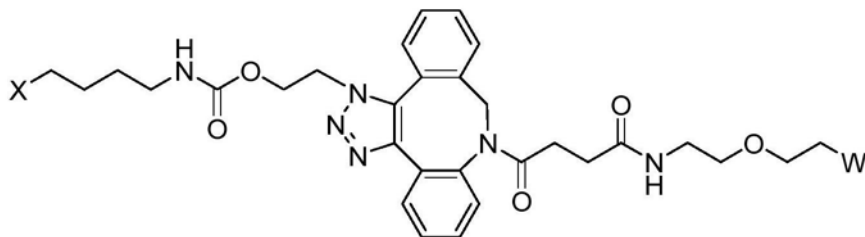
W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

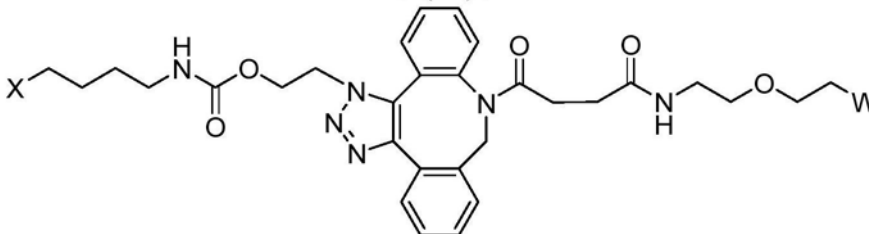


或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案273.1.一种包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)或式(V)的结构,或者是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

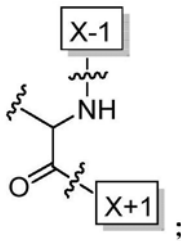


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案274.根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列。

实施方案275.根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

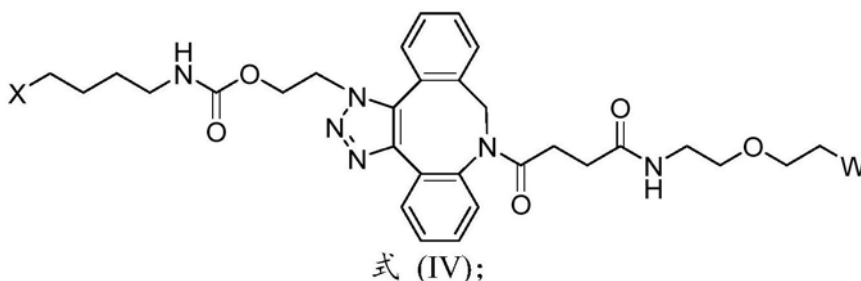
实施方案276.根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

实施方案277.根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

实施方案278.根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列。

实施方案279.根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

实施方案280.根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)的结构:



式 (IV);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案281.根据实施方案280所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列。

实施方案282.根据实施方案280所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

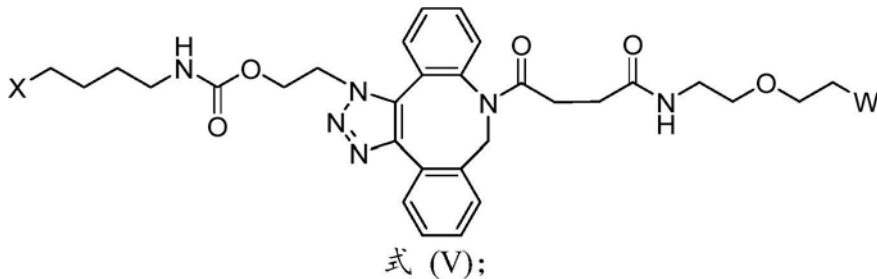
实施方案283.根据实施方案280所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

实施方案284.根据实施方案280所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

实施方案285.根据实施方案280所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列。

实施方案286. 根据实施方案280所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

实施方案287. 根据实施方案273或273.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_L1_PEG40]具有式(V)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案288. 根据实施方案287所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列。

实施方案289. 根据实施方案287所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

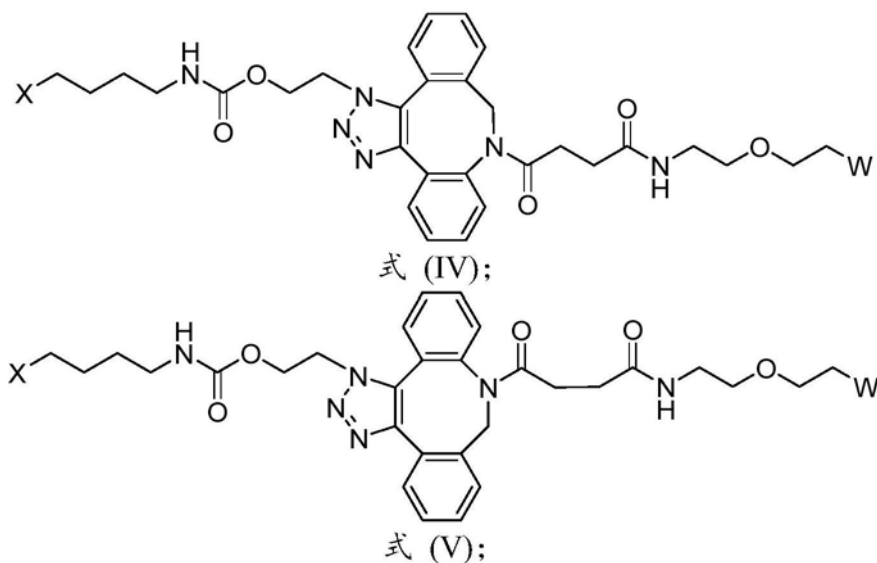
实施方案290. 根据实施方案287所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

实施方案291. 根据实施方案287所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

实施方案292. 根据实施方案287所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列。

实施方案293. 根据实施方案287所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

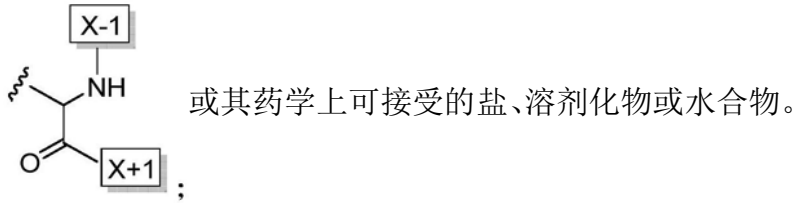
实施方案294. 一种包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_L1_PEG40]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



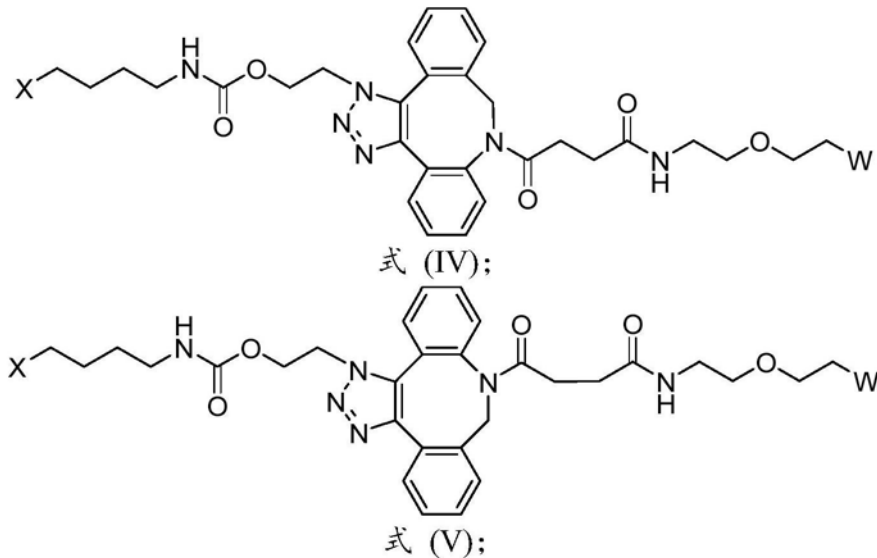
其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构：



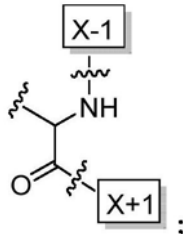
实施方案294.1.一种包含SEQ ID NO:46-51中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案295.根据实施方案294或294.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率为约1:1。

实施方案296.根据实施方案294或294.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率大于1:1。

实施方案297.根据实施方案294或294.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率小于1:1。

实施方案298.根据实施方案273至297中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案299.根据实施方案273至297中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案300.根据实施方案273至297中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

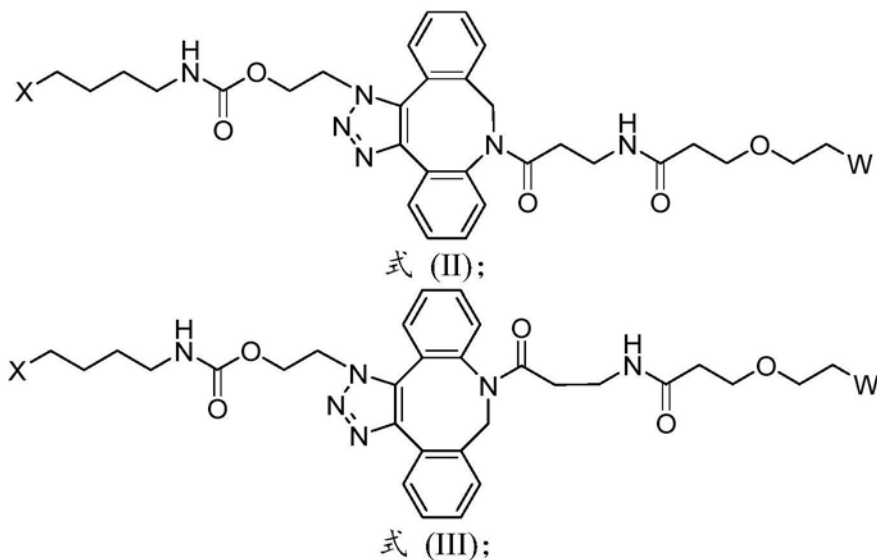
实施方案301.根据实施方案273至297中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案302.根据实施方案301所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

实施方案303.根据实施方案302所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案304.根据实施方案302所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

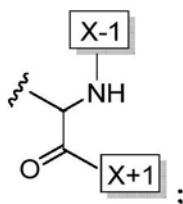
实施方案305.一种包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)的结构,或者式(II)与式(III)的混合物:



其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

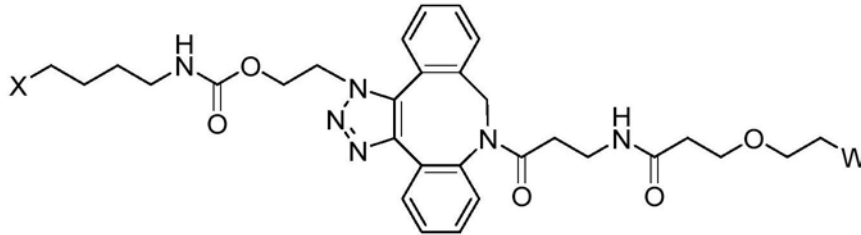
X具有以下结构:



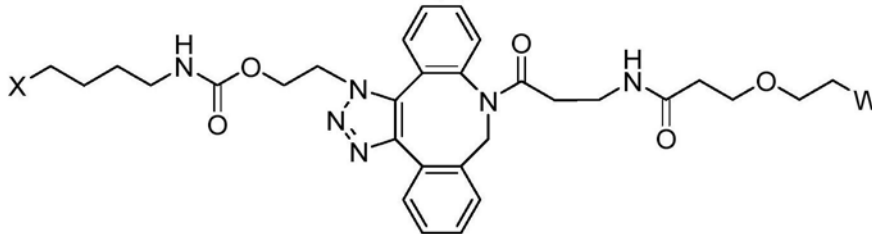
或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案305.1.一种包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合

物,其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)的结构,或者式(II)与式(III)的混合物:



式 (II);

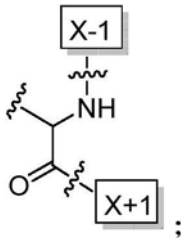


式 (III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

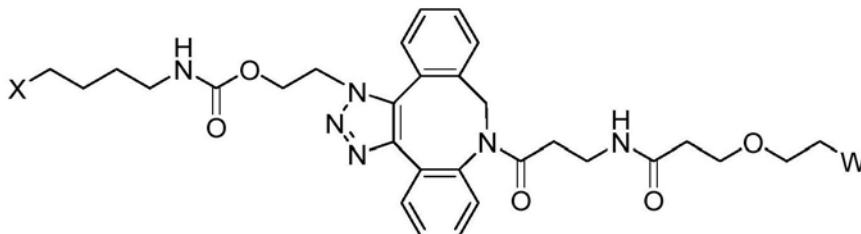


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案306.根据实施方案305或305.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的混合物。

实施方案307.根据实施方案305或305.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG]具有式(II)的结构:



式 (II);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案308.根据实施方案307所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列。

实施方案309.根据实施方案308所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、

10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案310. 根据实施方案309所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案311. 根据实施方案310所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案312. 根据实施方案310所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案313. 根据实施方案307所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列。

实施方案314. 根据实施方案313所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案315. 根据实施方案314所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案316. 根据实施方案315所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案317. 根据实施方案315所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案318. 根据实施方案307所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列。

实施方案319. 根据实施方案318所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案320. 根据实施方案319所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案321. 根据实施方案320所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案322. 根据实施方案320所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案323. 根据实施方案307所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列。

实施方案324. 根据实施方案323所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案325. 根据实施方案324所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案326. 根据实施方案325所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案327. 根据实施方案325所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案328. 根据实施方案307所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列。

实施方案329. 根据实施方案328所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案330. 根据实施方案329所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案331. 根据实施方案330所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案332. 根据实施方案330所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案333. 根据实施方案307所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列。

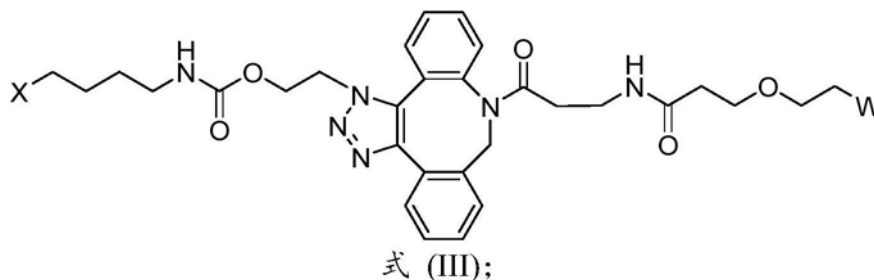
实施方案334. 根据实施方案333所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案335. 根据实施方案334所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案336. 根据实施方案335所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案337. 根据实施方案336所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案338. 根据实施方案305或305.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_PEG]具有式(III)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案339. 根据实施方案338所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列。

实施方案340. 根据实施方案339所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案341. 根据实施方案340所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案342. 根据实施方案341所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案343. 根据实施方案341所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案344. 根据实施方案338所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列。

实施方案345. 根据实施方案344所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案346. 根据实施方案345所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案347. 根据实施方案346所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案348. 根据实施方案346所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案349. 根据实施方案338所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列。

实施方案350. 根据实施方案349所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案351. 根据实施方案350所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案352. 根据实施方案351所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案353. 根据实施方案351所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案354. 根据实施方案338所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列。

实施方案355. 根据实施方案354所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案356. 根据实施方案355所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案357. 根据实施方案356所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案358. 根据实施方案356所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案359. 根据实施方案338所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列。

实施方案360. 根据实施方案359所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案361. 根据实施方案360所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案362. 根据实施方案361所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案363. 根据实施方案361所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案364. 根据实施方案338所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有

SEQ ID NO:69的氨基酸序列。

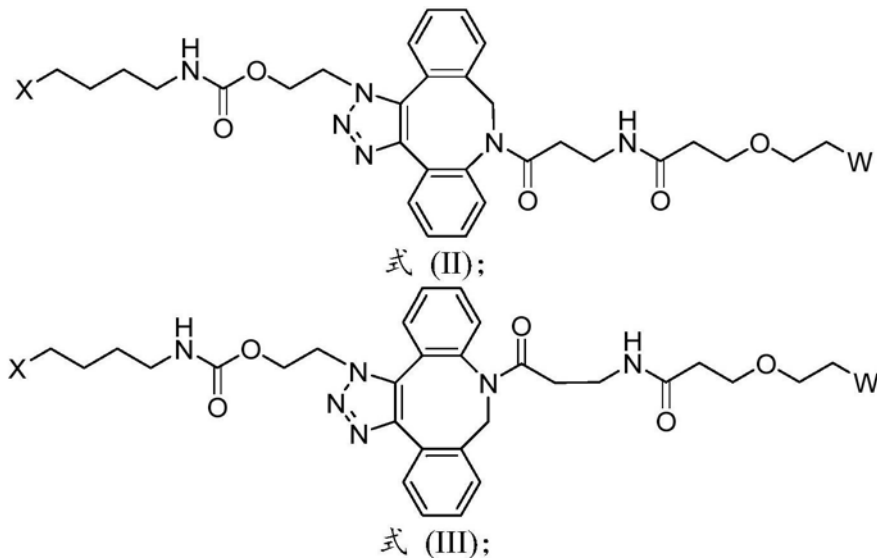
实施方案365. 根据实施方案364所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案366. 根据实施方案365所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案367. 根据实施方案366所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案368. 根据实施方案366所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

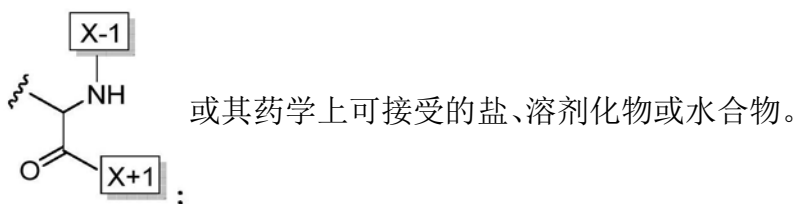
实施方案369. 一种包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



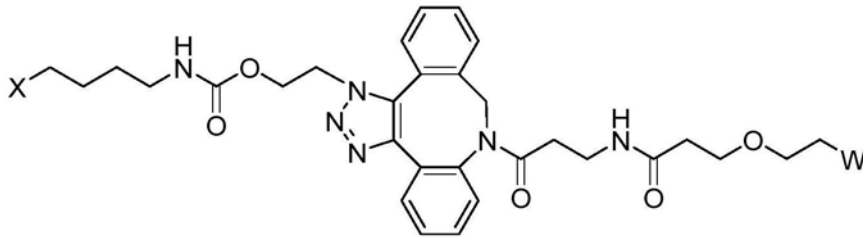
其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

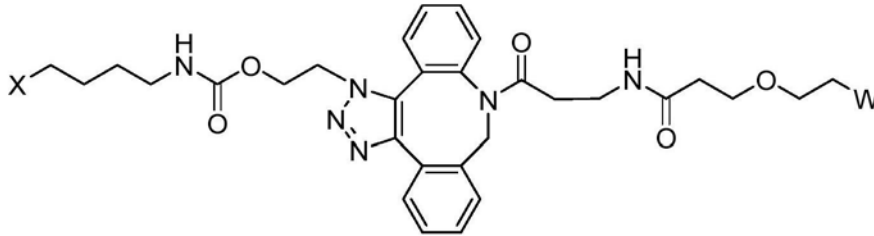
X具有以下结构:



实施方案369.1. 一种包含SEQ ID NO:64-69中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);

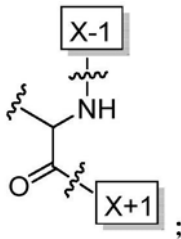


式 (III);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案370.根据实施方案369或369.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构量的量与式(III)的结构量的比率为约1:1。

实施方案371.根据实施方案369或369.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(II)的结构量的量与式(III)的结构量的比率大于1:1。

实施方案372.根据实施方案369或369.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG]的总量的式(IV)的结构量的量与式(V)的结构量的比率小于1:1。

实施方案373.根据实施方案305至372中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案374.根据实施方案305至372中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案375.根据实施方案305至372中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

实施方案376.根据实施方案305至372中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

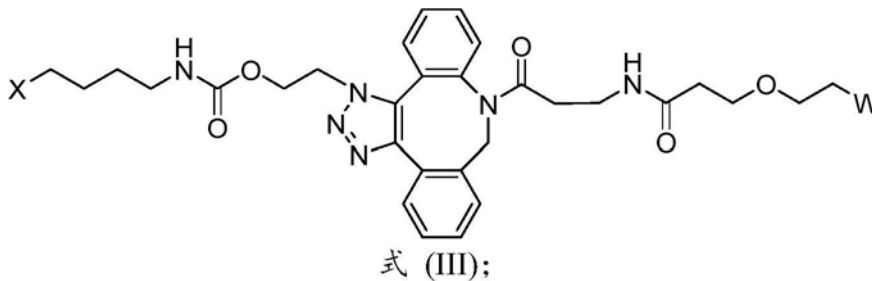
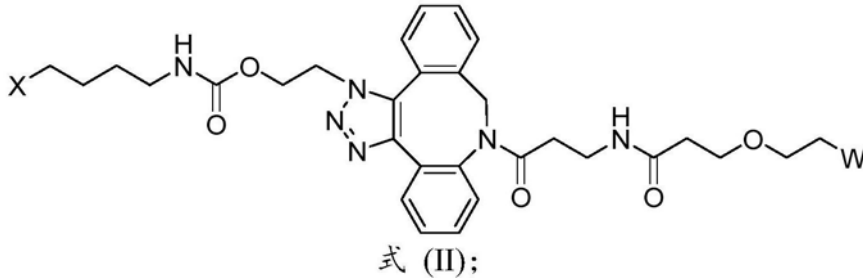
实施方案377.根据实施方案376所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是

线性或分支的。

实施方案378. 根据实施方案377所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案379. 根据实施方案377所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

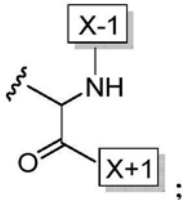
实施方案380. 一种包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构, 或者式(II)与式(III)的混合物:



其中:

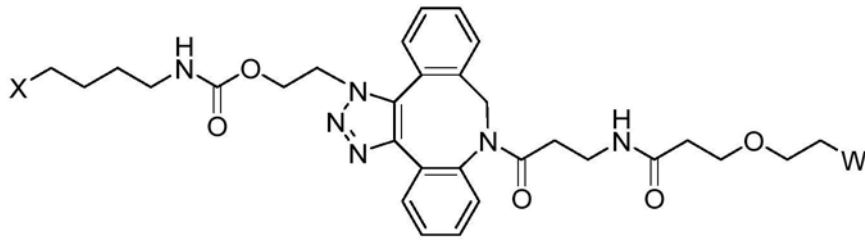
W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构:

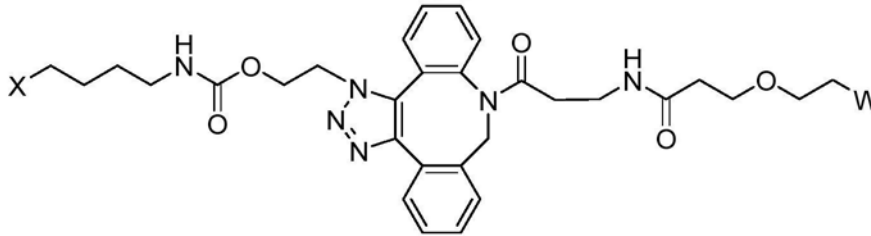


或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案380.1. 一种包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG30]具有式(II)或式(III)的结构, 或者式(II)与式(III)的混合物:



式 (II);

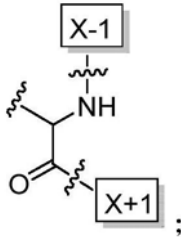


式 (III);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案381.根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列。

实施方案382.根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

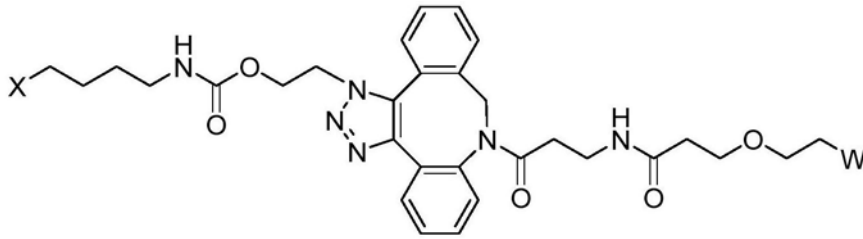
实施方案383.根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列。

实施方案384.根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。

实施方案385.根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

实施方案386.根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列。

实施方案387.根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG30]具有式(II)的结构



式 (II);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案388. 根据实施方案387所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列。

实施方案389. 根据实施方案387所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

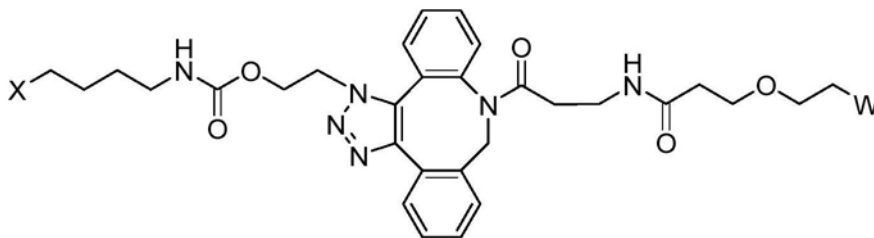
实施方案390. 根据实施方案387所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列。

实施方案391. 根据实施方案387所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。

实施方案392. 根据实施方案387所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

实施方案393. 根据实施方案387所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列。

实施方案394. 根据实施方案380或380.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_PEG30]具有式(III)的结构



式 (III);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案395. 根据实施方案394所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列。

实施方案396. 根据实施方案394所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

实施方案397. 根据实施方案394所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列。

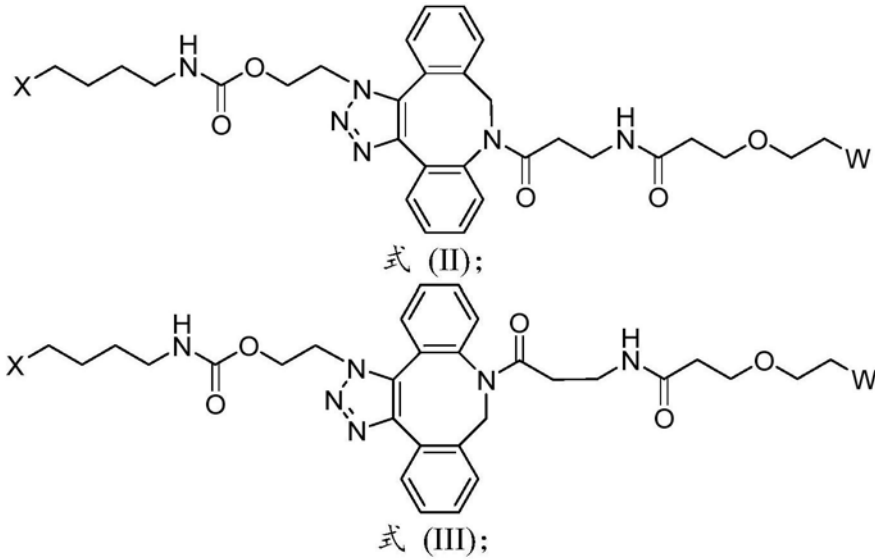
实施方案398. 根据实施方案394所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。

实施方案399. 根据实施方案394所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

实施方案400. 根据实施方案394所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有

SEQ ID NO:75的氨基酸序列。

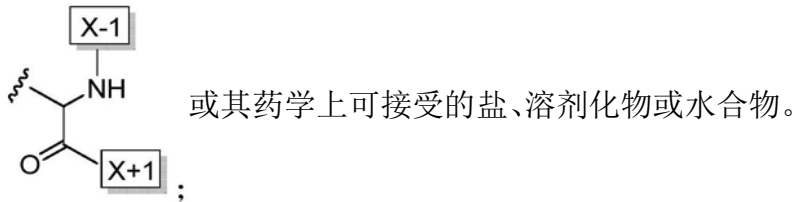
实施方案401. 一种包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_PEG30]是式(II)与式(III)的结构混合物：



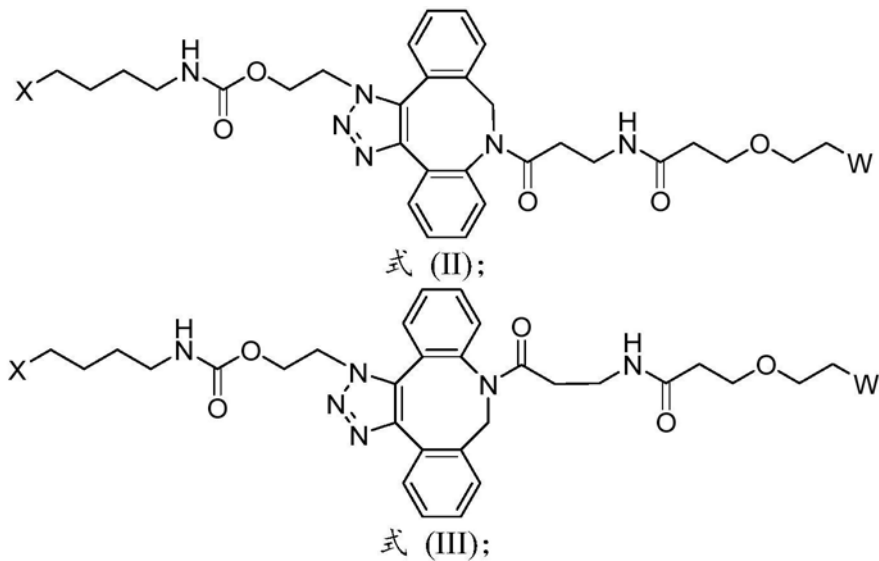
其中：

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



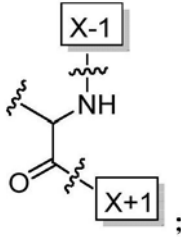
实施方案401.1. 一种包含SEQ ID NO:70-75中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物，其中[AzK_PEG30]是式(II)与式(III)的结构混合物：



其中：

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团；并且

X具有以下结构：



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案402.根据实施方案401或401.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的比例为约1:1。

实施方案403.根据实施方案401或401.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的比例大于1:1。

实施方案404.根据实施方案401或401.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG30]的总量的式(II)的结构与式(III)的结构的比例小于1:1。

实施方案405.根据实施方案380至404中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案406.根据实施方案380至404中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案407.根据实施方案380至404中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

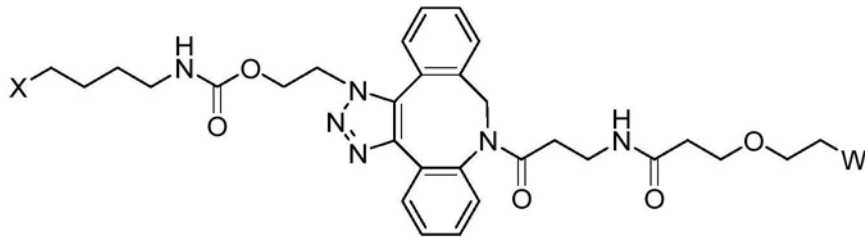
实施方案408.根据实施方案380至404中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案409.根据实施方案408所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

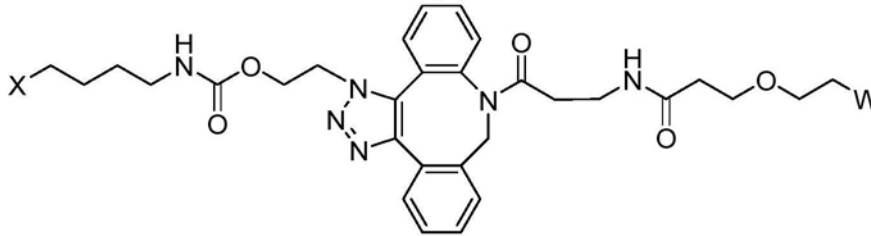
实施方案410.根据实施方案409所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案411.根据实施方案409所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

实施方案412.一种包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式(II)或式(III)的结构,或者是式(II)与式(III)的结构混合物:



式 (II);

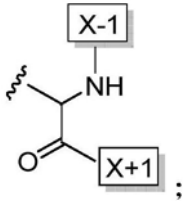


式 (III);

其中:

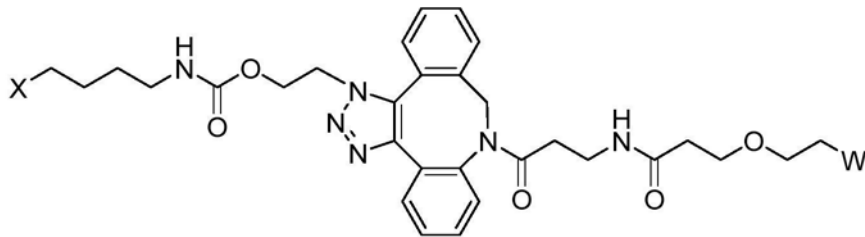
W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

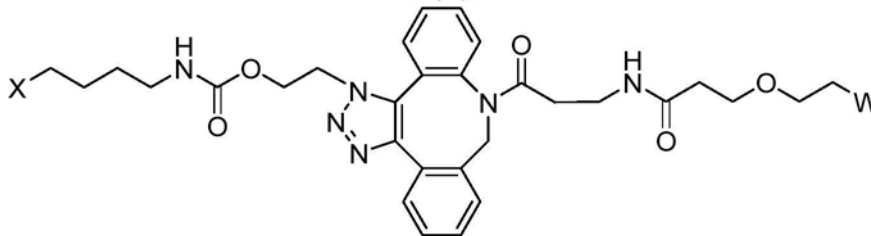


或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案412.1.一种包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]具有式(II)或式(III)的结构,或者是式(II)与式(III)的结构的混合物:



式 (II);

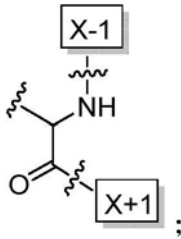


式 (III);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案413.根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列。

实施方案414.根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

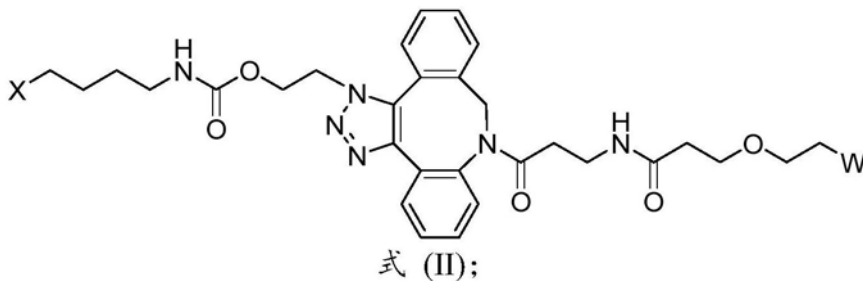
实施方案415.根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列。

实施方案416.根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列。

实施方案417.根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

实施方案418.根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

实施方案419.根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_PEG40]具有式(II)的结构:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案420.根据实施方案419所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列。

实施方案421.根据实施方案419所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

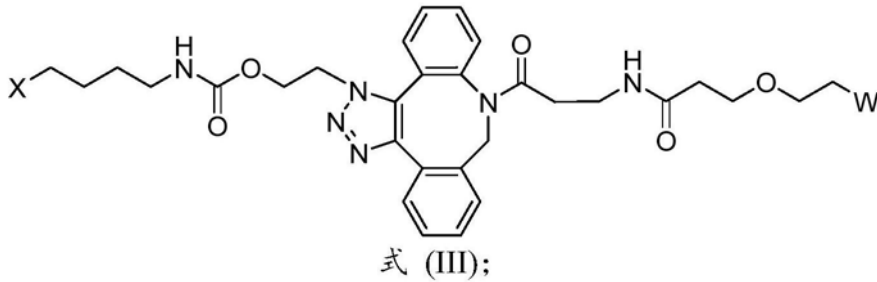
实施方案422.根据实施方案419所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列。

实施方案423.根据实施方案419所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列。

实施方案424.根据实施方案419所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

实施方案425. 根据实施方案419所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

实施方案426. 根据实施方案412或412.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_PEG40]具有式(III)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案427. 根据实施方案426所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列。

实施方案428. 根据实施方案426所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

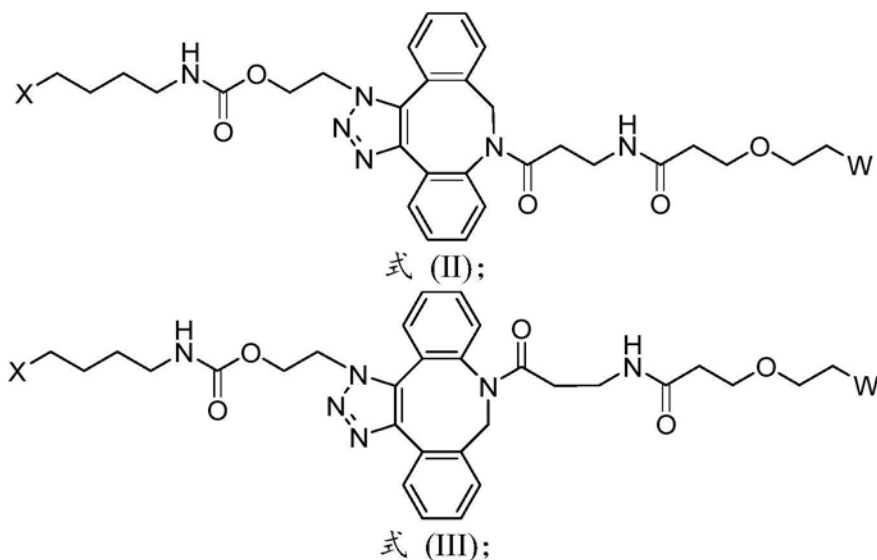
实施方案429. 根据实施方案426所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列。

实施方案430. 根据实施方案426所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列。

实施方案431. 根据实施方案426所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

实施方案432. 根据实施方案426所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

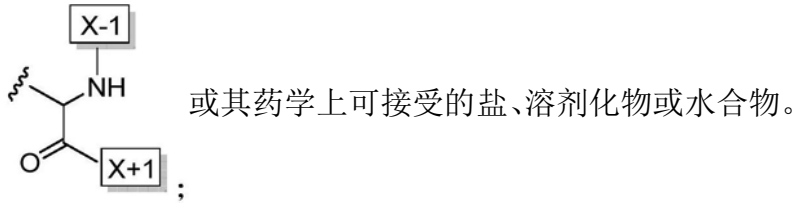
实施方案433. 一种包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



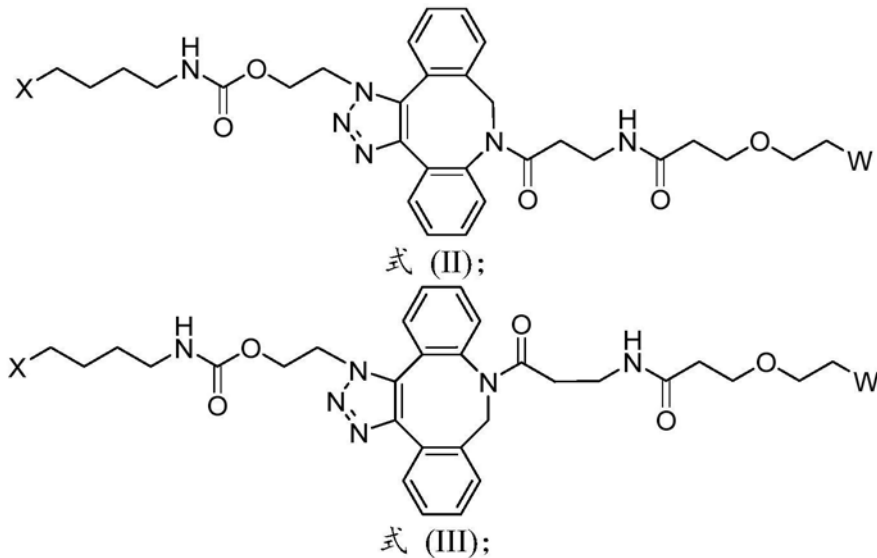
其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构：



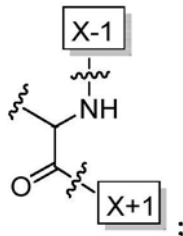
实施方案433.1.一种包含SEQ ID NO:76-81中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_PEG40]是式(II)与式(III)的结构的混合物:



其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案434.根据实施方案433或433.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率为约1:1。

实施方案435.根据实施方案433或433.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率大于1:1。

实施方案436.根据实施方案433或433.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_PEG40]的总量的式(II)的结构的量与式(III)的结构的量的比率小于1:1。

实施方案437.根据实施方案412至436中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案438.根据实施方案412至436中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案439.根据实施方案412至436中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

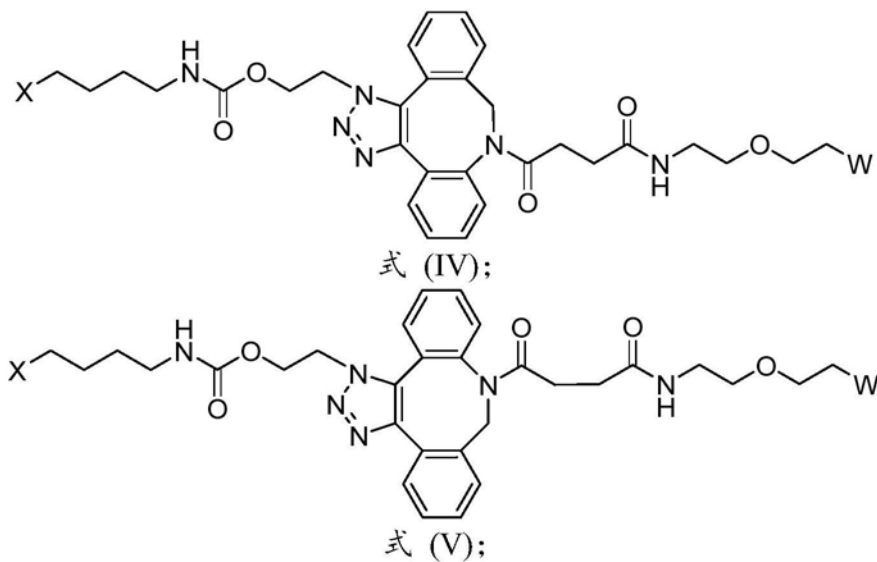
实施方案440.根据实施方案412至436中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案441.根据实施方案440所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

实施方案442.根据实施方案441所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案443.根据实施方案441所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

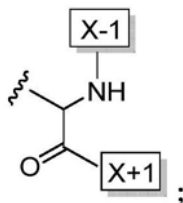
实施方案444.一种包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

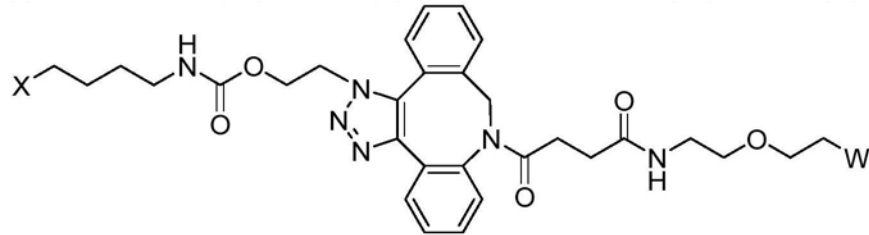
X具有以下结构:



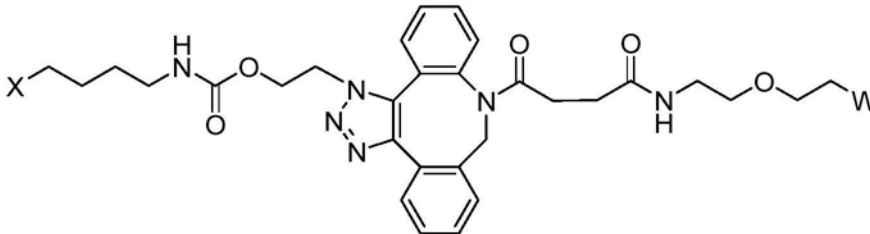
或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案444.1.一种包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合

物,其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)的结构,或者式(IV)与式(V)的混合物:



式(IV);

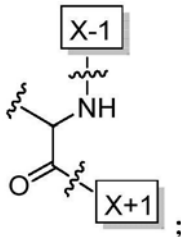


式(V);

其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

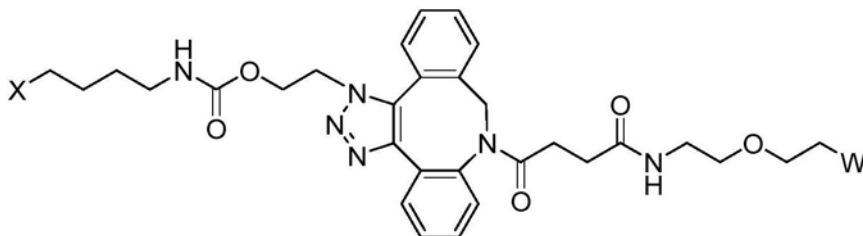


X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案445.根据实施方案444或444.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的混合物。

实施方案446.根据实施方案444或444.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG]具有式(IV)的结构:



式(IV);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案447.根据实施方案446所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

实施方案448.根据实施方案447所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、

10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案449. 根据实施方案448所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案450. 根据实施方案449所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案451. 根据实施方案449所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案452. 根据实施方案446所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:83的氨基酸序列。

实施方案453. 根据实施方案452所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案454. 根据实施方案453所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案455. 根据实施方案454所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案456. 根据实施方案454所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案457. 根据实施方案446所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:84的氨基酸序列。

实施方案458. 根据实施方案457所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案459. 根据实施方案458所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案460. 根据实施方案459所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案461. 根据实施方案459所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案462. 根据实施方案446所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列。

实施方案463. 根据实施方案462所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案464. 根据实施方案463所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案465. 根据实施方案464所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案466. 根据实施方案464所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案467. 根据实施方案446所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列。

实施方案468. 根据实施方案467所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案469. 根据实施方案468所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案470. 根据实施方案469所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案471. 根据实施方案469所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案472. 根据实施方案446所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

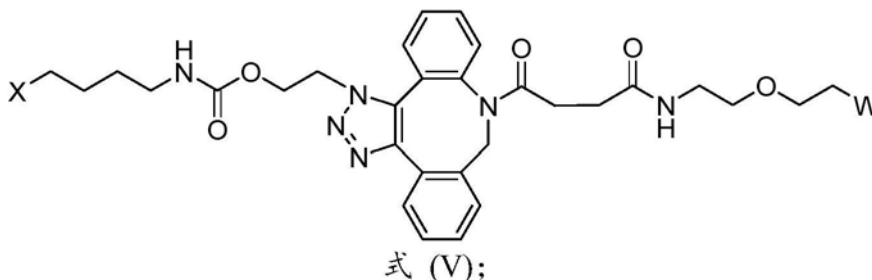
实施方案473. 根据实施方案472所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案474. 根据实施方案473所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案475. 根据实施方案474所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案476. 根据实施方案474所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案477. 根据实施方案444或444.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_L1_PEG]具有式(V)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案478. 根据实施方案477所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

实施方案479. 根据实施方案478所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案480. 根据实施方案479所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案481. 根据实施方案480所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案482. 根据实施方案480所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案483. 根据实施方案477所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:83的氨基酸序列。

实施方案484.根据实施方案483所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案485.根据实施方案484所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案486.根据实施方案485所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案487.根据实施方案485所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案488.根据实施方案477所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:84的氨基酸序列。

实施方案489.根据实施方案488所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案490.根据实施方案489所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案491.根据实施方案490所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案492.根据实施方案490所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案493.根据实施方案477所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列。

实施方案494.根据实施方案493所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案495.根据实施方案494所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案496.根据实施方案495所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案497.根据实施方案495所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案498.根据实施方案477所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列。

实施方案499.根据实施方案498所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案500.根据实施方案499所述的IL-15缀合物,其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案501.根据实施方案500所述的IL-15缀合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案502.根据实施方案500所述的IL-15缀合物,其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案503.根据实施方案477所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有

SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

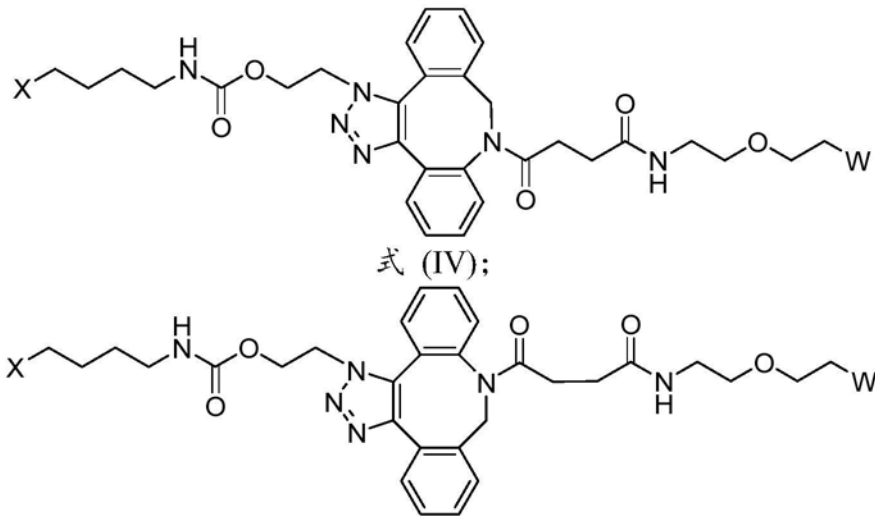
实施方案504. 根据实施方案503所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa和45kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案505. 根据实施方案504所述的IL-15缀合物, 其中W是具有选自30kDa和40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案506. 根据实施方案505所述的IL-15缀合物, 其中W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案507. 根据实施方案505所述的IL-15缀合物, 其中W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团。

实施方案508. 一种包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[Azk_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构混合物:

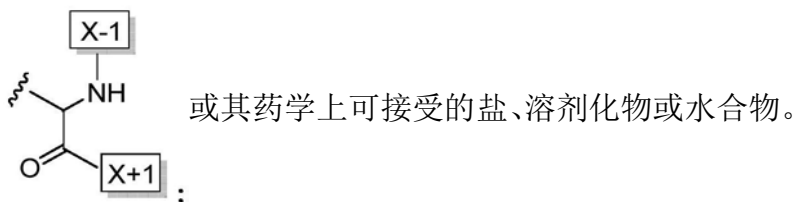


式 (V);

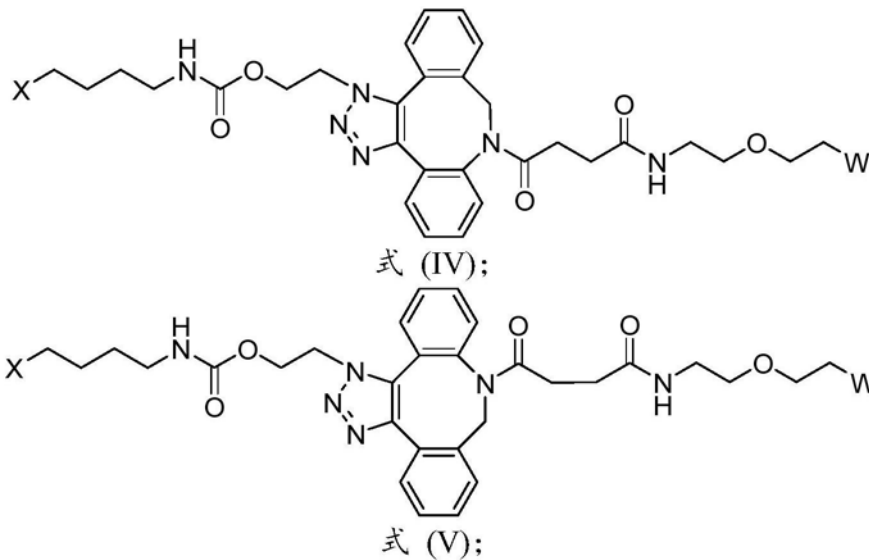
其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构:



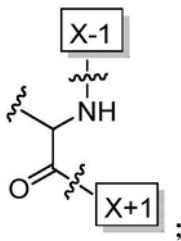
实施方案508.1. 一种包含SEQ ID NO:82-87中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[Azk_L1_PEG]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



其中:

W是具有选自5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa和60kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案509.根据实施方案508或508.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率为约1:1。

实施方案510.根据实施方案508或508.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率大于1:1。

实施方案511.根据实施方案508或508.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG]的总量的式(IV)的结构与式(V)的结构的量的比率小于1:1。

实施方案512.根据实施方案444至511中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案513.根据实施方案444至511中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案514.根据实施方案444至511中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

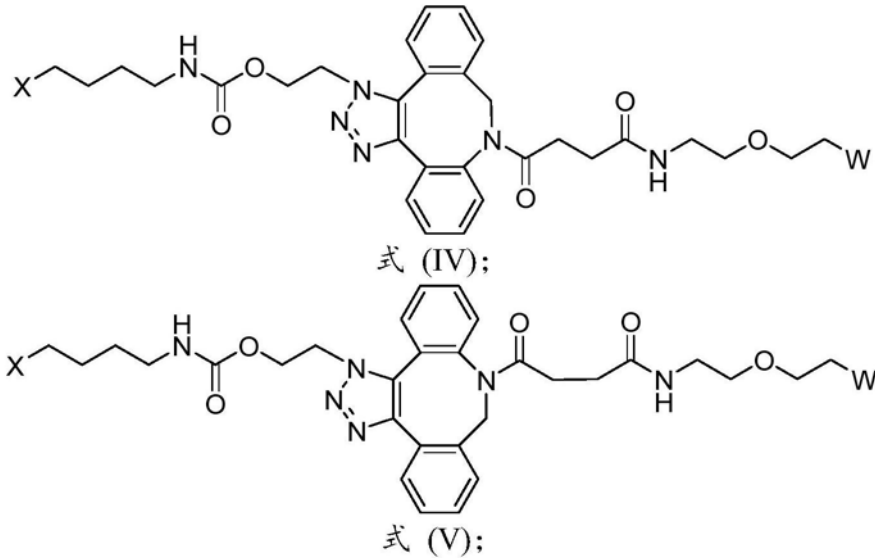
实施方案515.根据实施方案444至511中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案516.根据实施方案515所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

实施方案517. 根据实施方案516所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案518. 根据实施方案516所述的IL-15缀合物, 其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

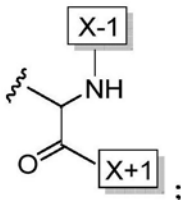
实施方案519. 一种包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构, 或者式(IV)与式(V)的混合物:



其中:

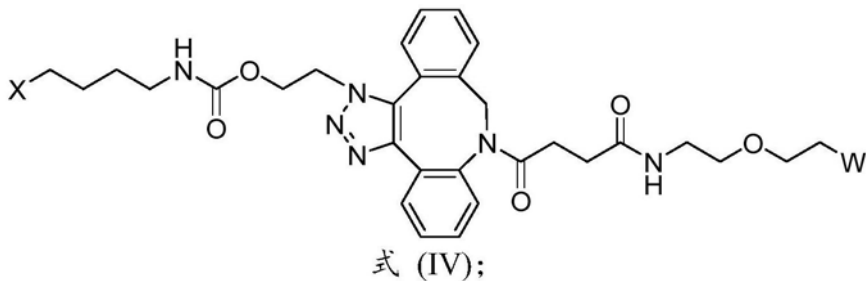
W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

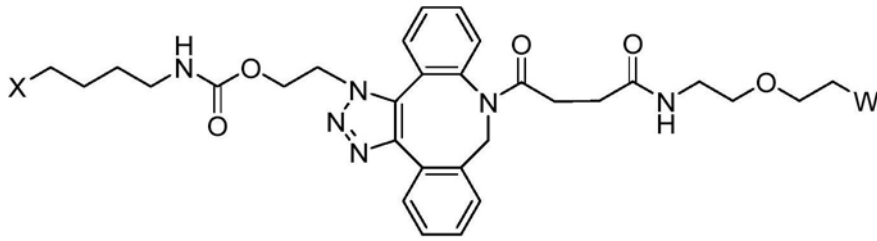
X具有以下结构:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案519.1. 一种包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)或式(V)的结构, 或者式(IV)与式(V)的混合物:



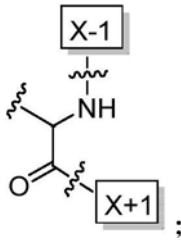


式 (V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案520.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列。

实施方案521.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。

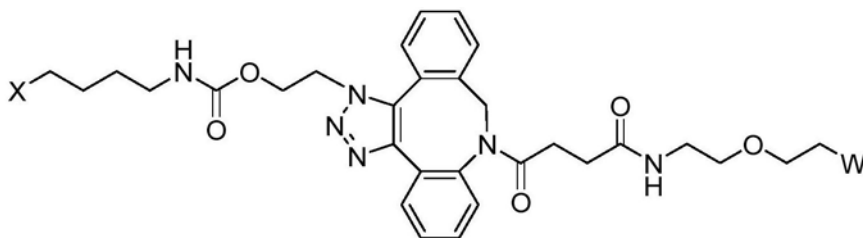
实施方案522.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列。

实施方案523.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列。

实施方案524.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列。

实施方案525.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。

实施方案526.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG30]具有式(IV)的结构



式 (IV);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案527.根据实施方案526所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有

SEQ ID NO:88的氨基酸序列。

实施方案528.根据实施方案526所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。

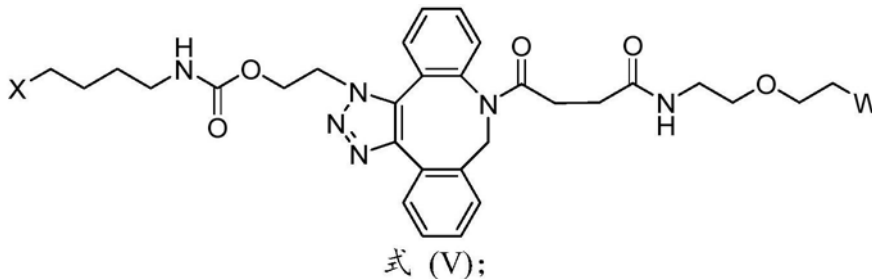
实施方案529.根据实施方案526所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列。

实施方案530.根据实施方案526所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列。

实施方案531.根据实施方案526所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列。

实施方案532.根据实施方案526所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。

实施方案533.根据实施方案519或519.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG30]具有式(V)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案534.根据实施方案533所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列。

实施方案535.根据实施方案533所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。

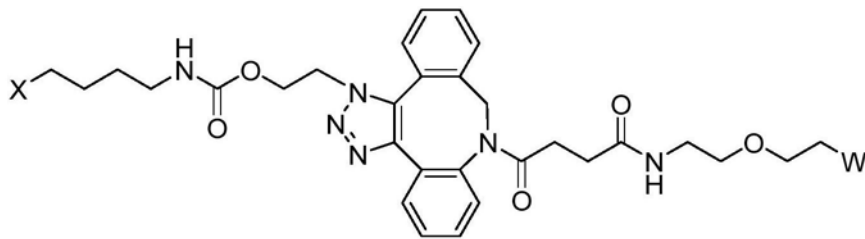
实施方案536.根据实施方案533所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列。

实施方案537.根据实施方案533所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列。

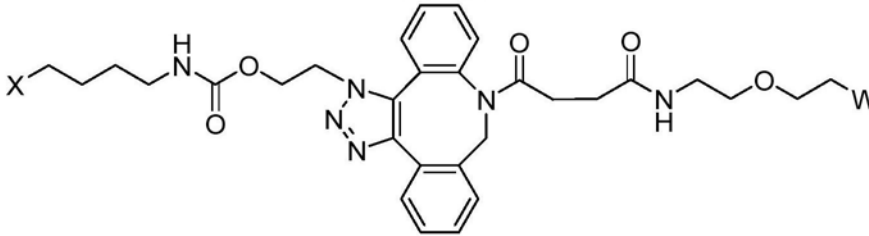
实施方案538.根据实施方案533所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列。

实施方案539.根据实施方案533所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。

实施方案540.一种包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

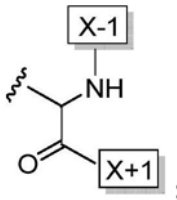


式 (V);

其中:

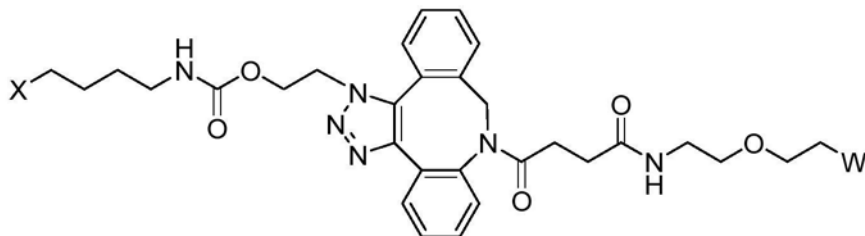
W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

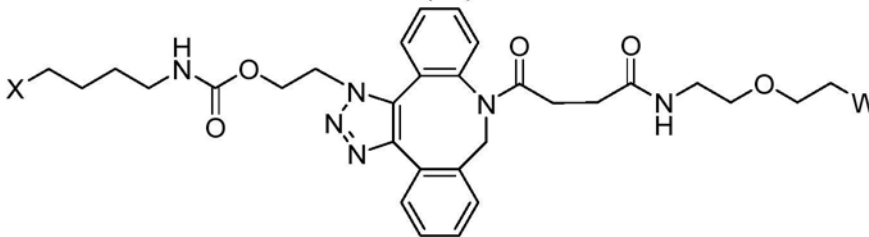


或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案540.1.一种包含SEQ ID NO:88-93中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG30]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

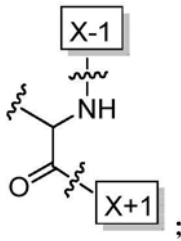


式 (V);

其中:

W是具有30kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案541.根据实施方案540或540.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率为约1:1。

实施方案542.根据实施方案540或540.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率大于1:1。

实施方案543.根据实施方案540或540.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG30]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率小于1:1。

实施方案544.根据实施方案519至543中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案545.根据实施方案519至543中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案546.根据实施方案519至543中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

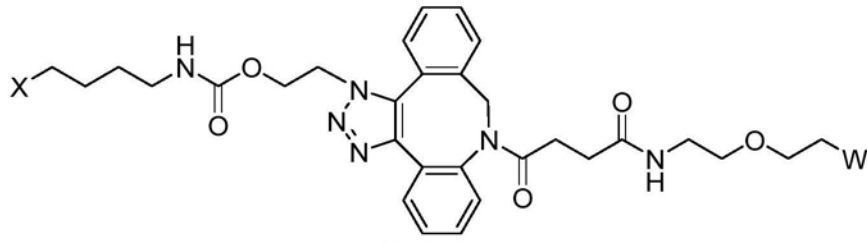
实施方案547.根据实施方案519至543中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案548.根据实施方案547所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

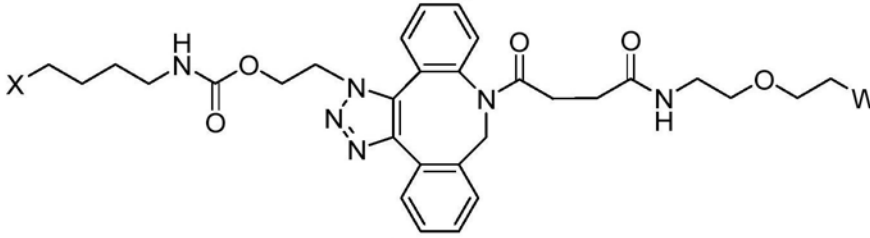
实施方案549.根据实施方案548所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案550.根据实施方案548所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

实施方案551.一种包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)或式(V)的结构,或者是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

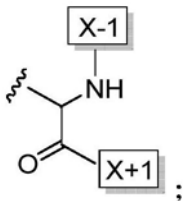


式 (V);

其中:

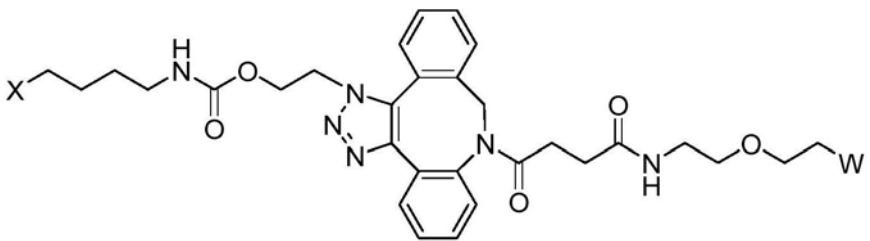
W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:

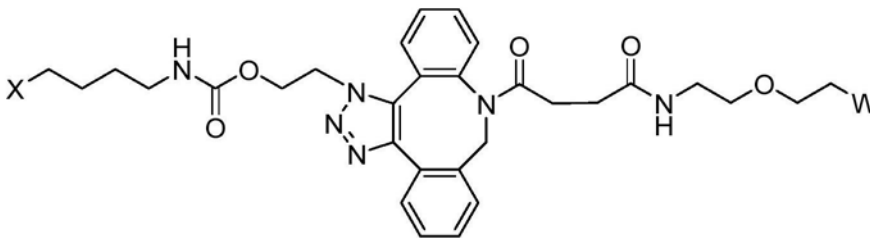


或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案551.1.一种包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)或式(V)的结构,或者是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



式 (IV);

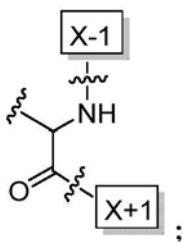


式 (V);

其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点；以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案552.根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。

实施方案553.根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列。

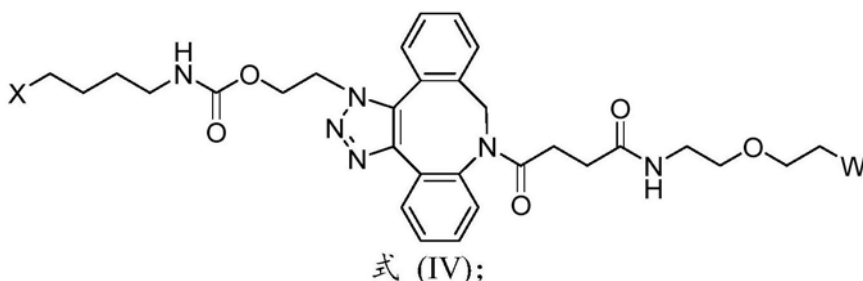
实施方案554.根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列。

实施方案555.根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

实施方案556.根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列。

实施方案557.根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列。

实施方案558.根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物,其中所述[AzK_L1_PEG40]具有式(IV)的结构:



式 (IV);

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案559.根据实施方案558所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。

实施方案560.根据实施方案558所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列。

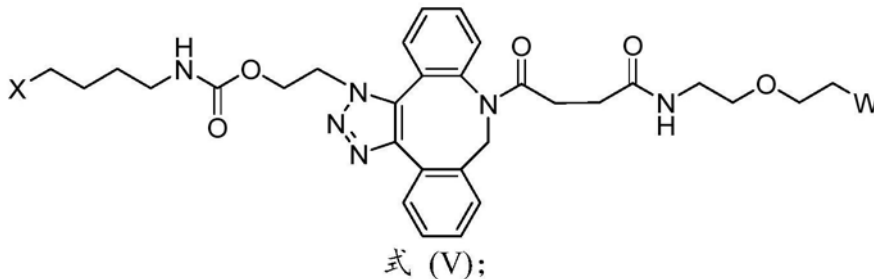
实施方案561.根据实施方案558所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列。

实施方案562.根据实施方案558所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

实施方案563.根据实施方案558所述的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列。

实施方案564. 根据实施方案558所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列。

实施方案565. 根据实施方案551或551.1所述的IL-15缀合物, 其中所述[AzK_L1_PEG40]具有式(V)的结构



或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

实施方案566. 根据实施方案565所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。

实施方案567. 根据实施方案565所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列。

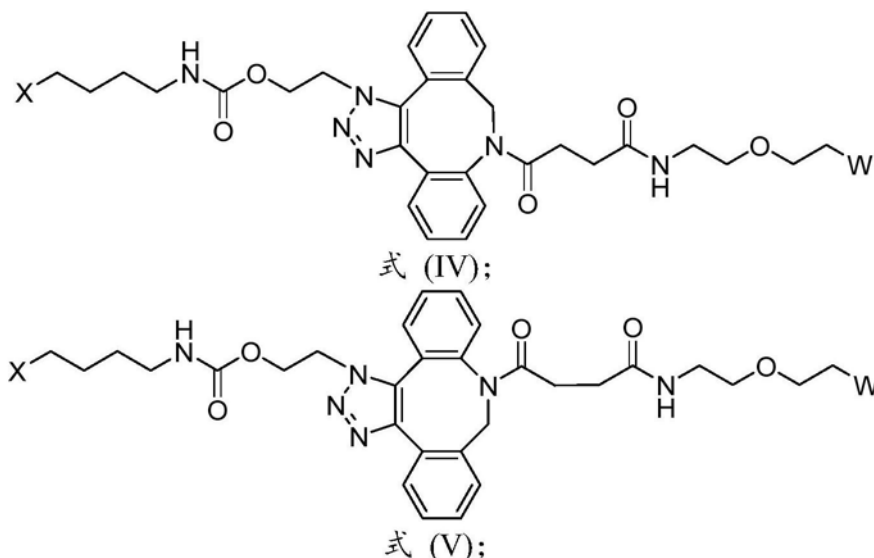
实施方案568. 根据实施方案565所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列。

实施方案569. 根据实施方案565所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

实施方案570. 根据实施方案565所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列。

实施方案571. 根据实施方案565所述的IL-15缀合物, 其中所述IL-15缀合物具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列。

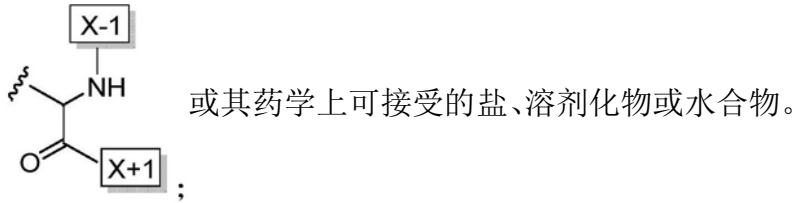
实施方案572. 一种包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物, 其中[AzK_L1_PEG40]是式(IV)与式(V)的结构的混合物:



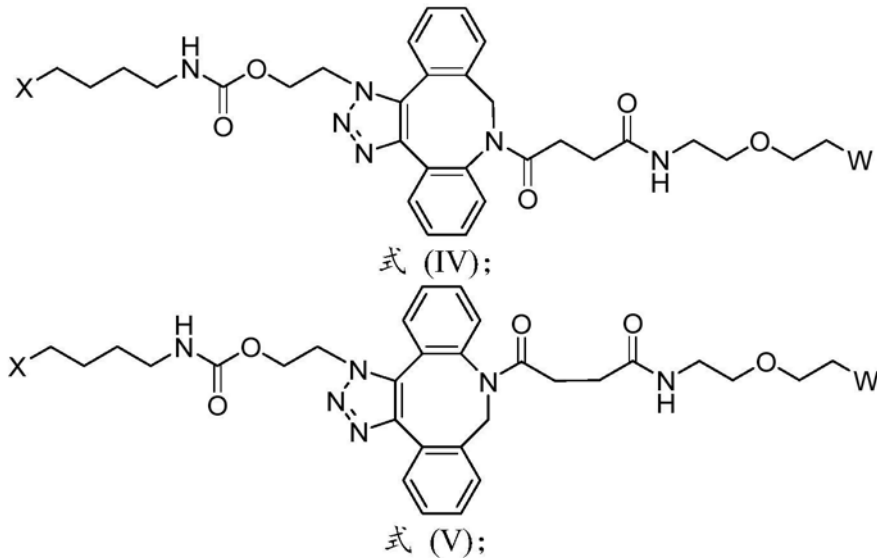
其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团; 并且

X具有以下结构：



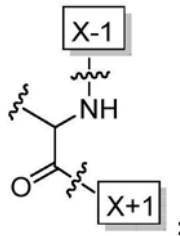
实施方案572.1.一种包含SEQ ID NO:94-99中任一个的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中[AzK_L1_PEG40]是式(IV)与式(V)的结构混合物:



其中:

W是具有40kDa的平均分子量的PEG基团;并且

X具有以下结构:



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案573.根据实施方案572或572.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率为约1:1。

实施方案574.根据实施方案572或572.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率大于1:1。

实施方案575.根据实施方案572或572.1所述的IL-15缀合物,其中在所述IL-15缀合物中构成[AzK_L1_PEG40]的总量的式(IV)的结构量与式(V)的结构量的比率小于1:1。

实施方案576.根据实施方案551至575中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性或分支PEG基团。

实施方案577.根据实施方案551至575中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是线性PEG基团。

实施方案578.根据实施方案551至575中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是分支PEG基团。

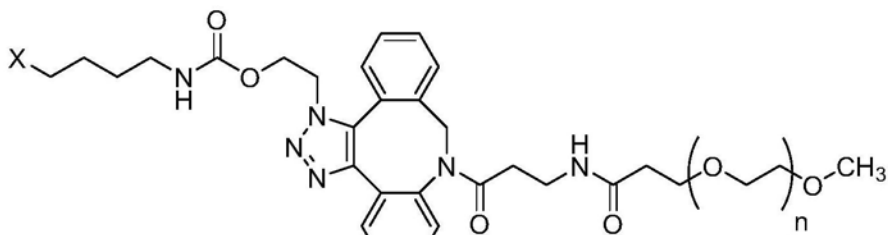
实施方案579.根据实施方案551至575中任一项所述的IL-15缀合物,其中W是甲氧基PEG基团。

实施方案580.根据实施方案579所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性或分支的。

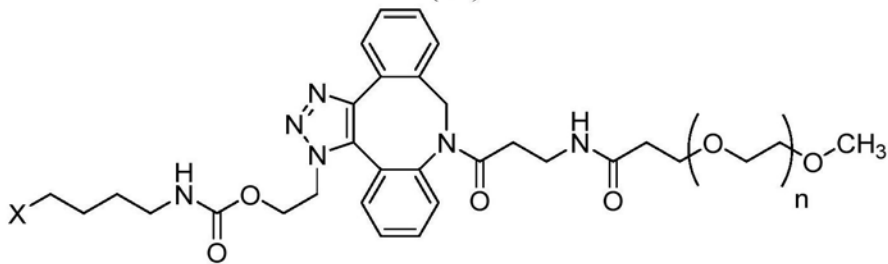
实施方案581.根据实施方案580所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是线性的。

实施方案582.根据实施方案580所述的IL-15缀合物,其中所述甲氧基PEG基团是分支的。

实施方案583.一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或式(VI)与式(VII)的混合物替代:



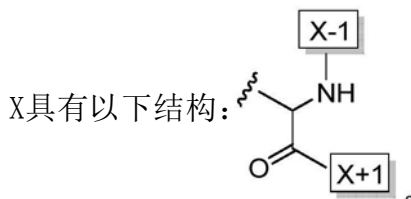
式 (VI);



(VII);

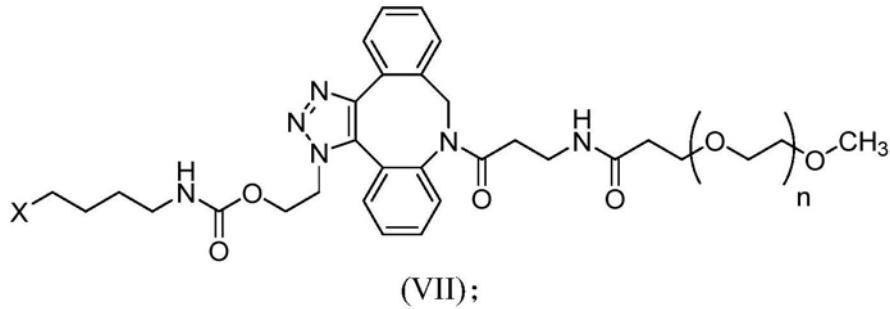
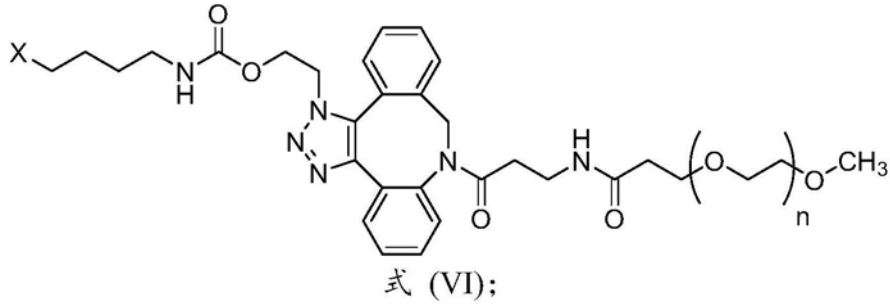
其中:

n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



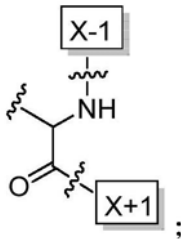
实施方案583.1.一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或式(VI)与式(VII)的混合

物替代:



其中:

n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案584.根据实施方案583或583.1所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。

实施方案585.根据实施方案584所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。

实施方案586.根据实施方案584所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。

实施方案587.根据实施方案584所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。

实施方案588.根据实施方案584所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。

实施方案589.根据实施方案584所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。

实施方案590.根据实施方案584所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。

实施方案591.根据实施方案584所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。

实施方案592.根据实施方案583至591中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约75至约1000。

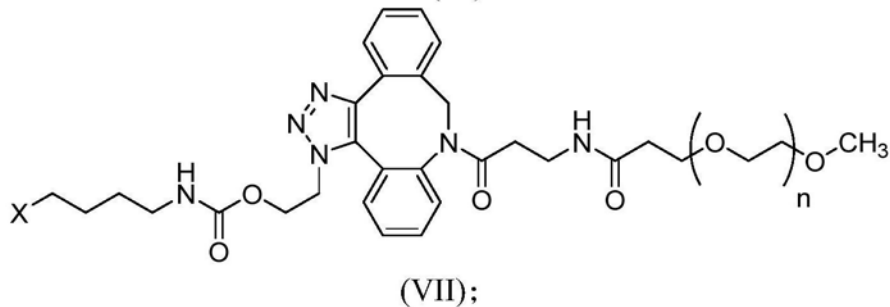
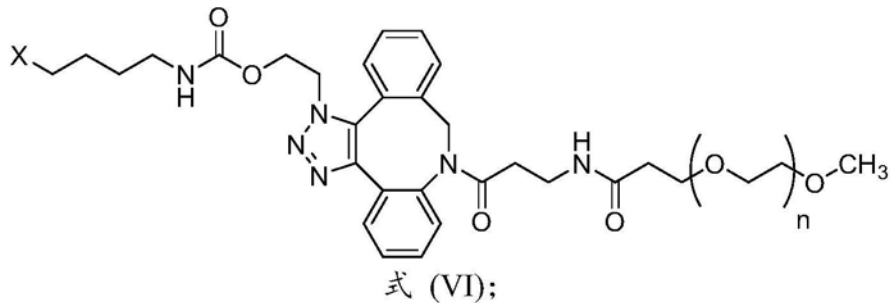
实施方案593.根据实施方案583至591中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约100至约1000。

实施方案594.根据实施方案583至591中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约200至约5000。

实施方案595.根据实施方案583至591中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约500至约1000。

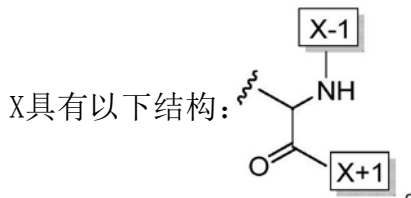
实施方案596.根据实施方案583至591中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约400至约800。

实施方案597.一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或式(VI)与式(VII)的混合物替代:

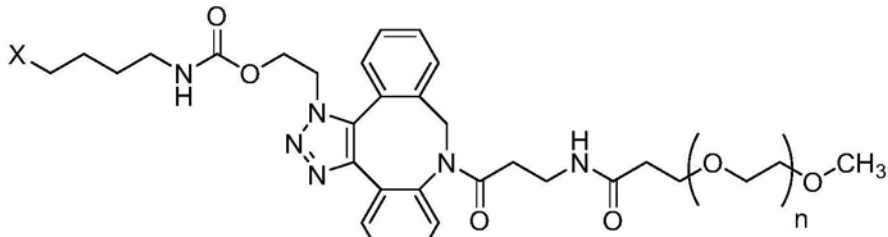


其中:

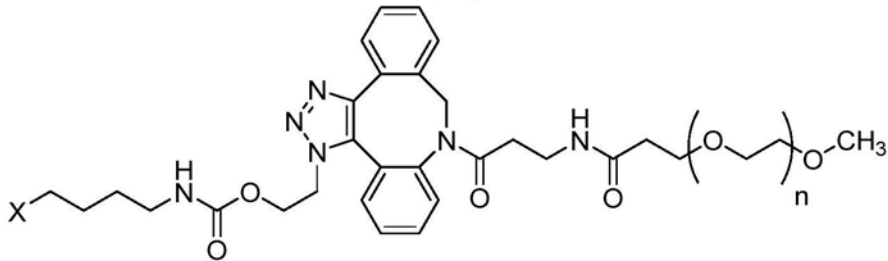
n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



实施方案597.1.一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VI)或(VII)的结构或式(VI)与式(VII)的混合物替代:



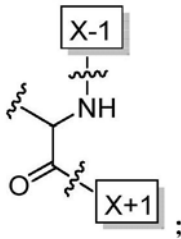
式 (VI);



(VII);

其中:

n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案598.根据实施方案597或597.1所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。

实施方案599.根据实施方案598所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L26、E54和N78。

实施方案600.根据实施方案598所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S19。

实施方案601.根据实施方案598所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。

实施方案602.根据实施方案598所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。

实施方案603.根据实施方案598所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。

实施方案604.根据实施方案598所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。

实施方案605.根据实施方案598所述的IL-15缀合物,其中式(VI)或(VII)的结构

或者(VI)与(VII)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S84。

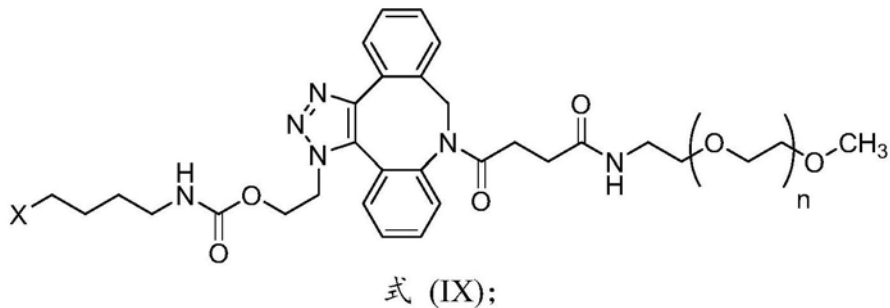
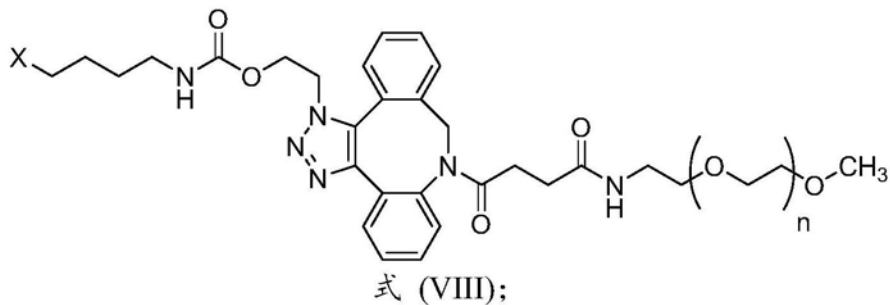
实施方案606.根据实施方案597至605中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约75至约1000。

实施方案607.根据实施方案597至605中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约100至约1000。

实施方案608.根据实施方案597至605中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约200至约5000。

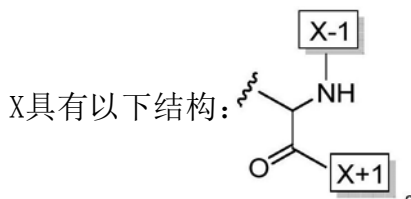
实施方案609.根据实施方案597至605中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约500至约1000。

实施方案610.一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VIII)或(IX)的结构或式(VIII)与式(IX)的混合物替代:

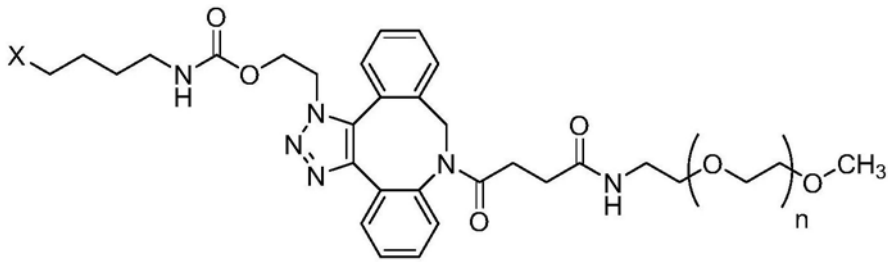


其中:

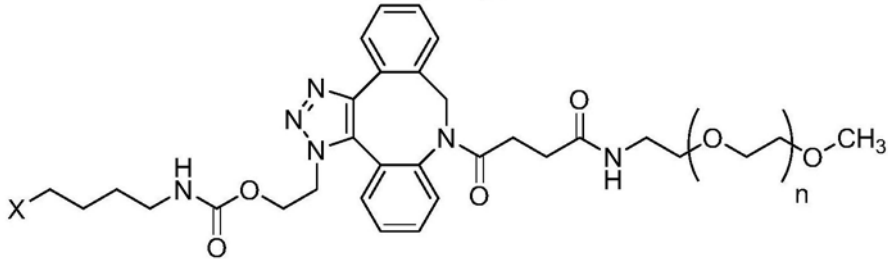
n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



实施方案610.1.一种包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VIII)或(IX)的结构或式(VIII)与式(IX)的混合物替代:



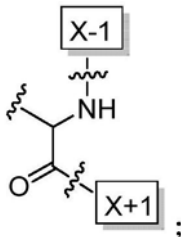
式 (VIII);



式 (IX);

其中:

n 是在从约2至约5000范围内的整数;并且



$X-1$ 表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

$X+1$ 表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案611. 根据实施方案610或610.1所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S18、L25、E46、E53、N77和S83。

实施方案612. 根据实施方案611所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L25、E53和N77。

实施方案613. 根据实施方案611所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S18。

实施方案614. 根据实施方案611所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L25。

实施方案615. 根据实施方案611所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E46。

实施方案616. 根据实施方案611所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E53。

实施方案617. 根据实施方案611所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N77。

实施方案618.根据实施方案611所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S83。

实施方案619.根据实施方案610至618中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约75至约1000。

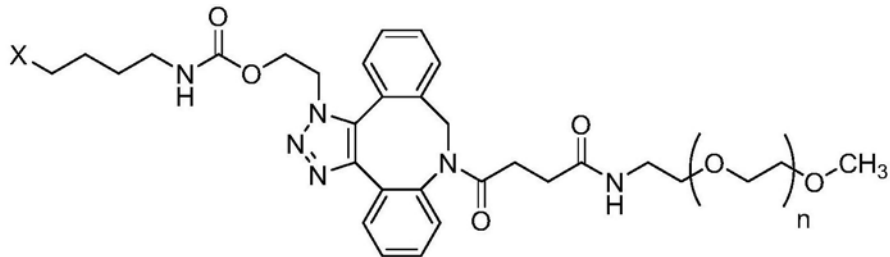
实施方案620.根据实施方案610至618中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约100至约1000。

实施方案621.根据实施方案610至618中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约200至约5000。

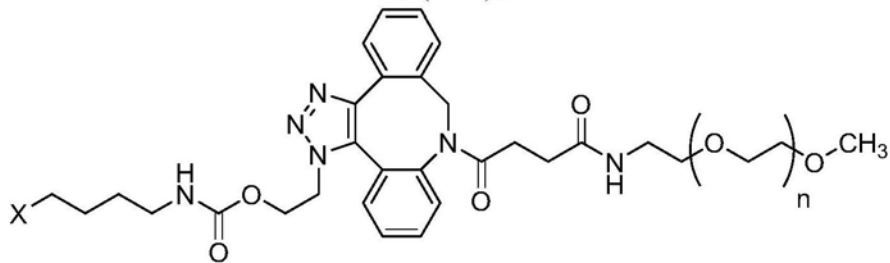
实施方案622.根据实施方案610至618中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约500至约1000。

实施方案623.根据实施方案610至618中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约400至约800。

实施方案624.一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VIII)或(IX)的结构或式(VIII)与式(IX)的混合物替代:



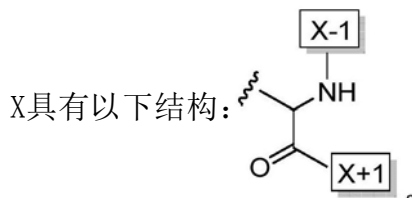
式(VIII);



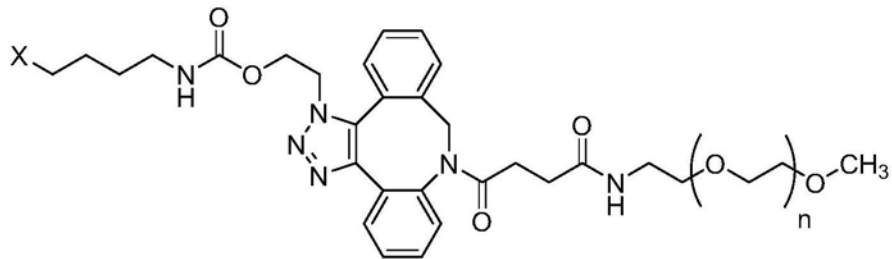
式(IX);

其中:

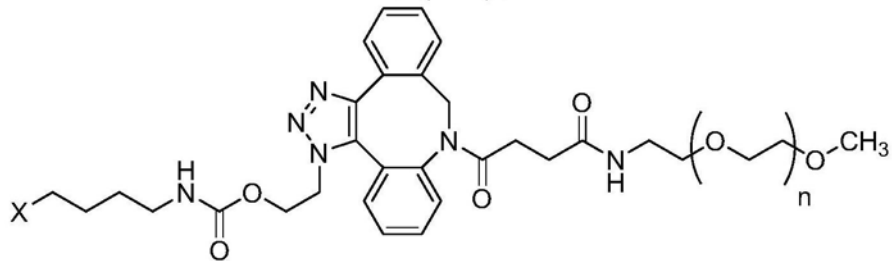
n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



实施方案624.1.一种包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的IL-15缀合物,其中所述IL-15缀合物中的至少一个氨基酸残基被式(VIII)或(IX)的结构或式(VIII)与式(IX)的混合物替代:



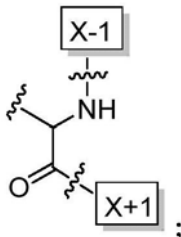
式 (VIII);



式 (IX);

其中:

n是在从约2至约5000范围内的整数;并且



X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点;以及

X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点。

实施方案625. 根据实施方案624或624.1所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自S19、L26、E47、E54、N78和S84。

实施方案626. 根据实施方案625所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置选自L26、E54和N78。

实施方案627. 根据实施方案625所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S19。

实施方案628. 根据实施方案625所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是L26。

实施方案629. 根据实施方案625所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E47。

实施方案630. 根据实施方案625所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是E54。

实施方案631. 根据实施方案625所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是N78。

实施方案632.根据实施方案625所述的IL-15缀合物,其中式(VIII)或(IX)的结构或者(VIII)与(IX)的混合物在所述IL-15缀合物的氨基酸序列中的位置是S84。

实施方案633.根据实施方案624至632中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约75至约1000。

实施方案634.根据实施方案624至632中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约100至约1000。

实施方案635.根据实施方案624至632中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约200至约5000。

实施方案636.根据实施方案624至632中任一项所述的IL-15缀合物,其中n是约500至约1000。

实施方案637.一种治疗受试者癌症的方法,其包括向有需要的受试者施用有效量的根据实施方案1至636中任一项所述的IL-15缀合物。

实施方案638.根据实施方案637所述的方法,其中所述癌症是实体瘤癌症。

实施方案639.根据实施方案638所述的方法,其中所述实体瘤癌症是膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、结直肠癌、食道癌、眼癌、头颈癌、肾癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌或前列腺癌。

实施方案640.根据实施方案637所述的方法,其中所述癌症是恶性血液病。

实施方案641.根据实施方案640所述的方法,其中所述恶性血液病是慢性淋巴细胞白血病(CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、华氏巨球蛋白血症、多发性骨髓瘤、结外边缘区B细胞淋巴瘤、结型边缘区B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、非伯基特高分级B细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤(PMBL)、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前驱B淋巴母细胞性淋巴瘤、B细胞幼淋巴细胞白血病、淋巴浆细胞性淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、浆细胞瘤、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤或淋巴瘤样肉芽肿病。

实施方案642.根据实施方案637所述的方法,其中所述受试者的癌症选自肾细胞癌(RCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、经典型霍奇金淋巴瘤(cHL)、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤(PMBCL)、尿路上皮癌、微卫星不稳定癌、微卫星稳定癌、胃癌、宫颈癌、肝细胞癌(HCC)、梅克尔细胞癌(MCC)、黑色素瘤、小细胞肺癌(SCLC)、食道癌、胶质母细胞瘤、间皮瘤、乳腺癌、三阴性乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低度突变负荷的肿瘤、皮肤鳞状细胞癌(CSCC)、鳞状细胞皮肤癌(SCSC)、低表达至不表达PD-L1的肿瘤、超出其原发解剖学起源部位全身性播散至肝脏和CNS的肿瘤、和弥漫性大B细胞淋巴瘤。

实施方案643.根据实施方案642所述的方法,其中所述受试者的癌症选自肾细胞癌(RCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、尿路上皮癌和黑色素瘤。

实施方案644.根据实施方案637至643中任一项所述的方法,其中每周一次、每两周、每三周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每七周一次或每八周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。

实施方案645.根据实施方案637至644中任一项所述的方法,其中每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。

实施方案646.根据实施方案645所述的方法,其中每周一次向有需要的受试者施

用所述IL-15缀合物。

实施方案647. 根据实施方案645所述的方法, 其中每两周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。

实施方案648. 根据实施方案645所述的方法, 其中每三周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。

实施方案649. 根据实施方案645所述的方法, 其中每四周一次向有需要的受试者施用所述IL-15缀合物。

实施方案650. 一种扩增效应T (Teff) 细胞、记忆T (Tmem) 细胞和自然杀伤 (NK) 细胞群体的方法, 所述方法包括:

(a) 使细胞与根据实施方案1至636中任一项所述的IL-15缀合物接触; 以及

(b) 使所述IL-15与IL-15R β 和IL-15R γ 亚基相互作用以形成IL-15/IL-15R β γ 复合物, 其中所述IL-15缀合物具有降低的对IL-15R α 亚基的亲和力, 并且其中所述IL-15/IL-15R β γ 复合物刺激Teff、Tmem和NK细胞的扩增。

实施方案651. 根据实施方案650所述的方法, 其中所述细胞是真核细胞。

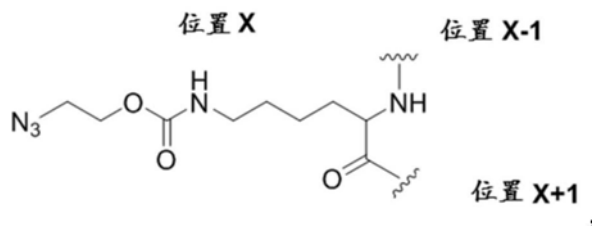
实施方案652. 根据实施方案650所述的方法, 其中所述细胞是哺乳动物细胞。

实施方案653. 根据实施方案652所述的方法, 其中所述细胞是人细胞。

实施方案654. 一种药物组合物, 所述药物组合物包含有效量的根据实施方案1至636中任一项所述的IL-15缀合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

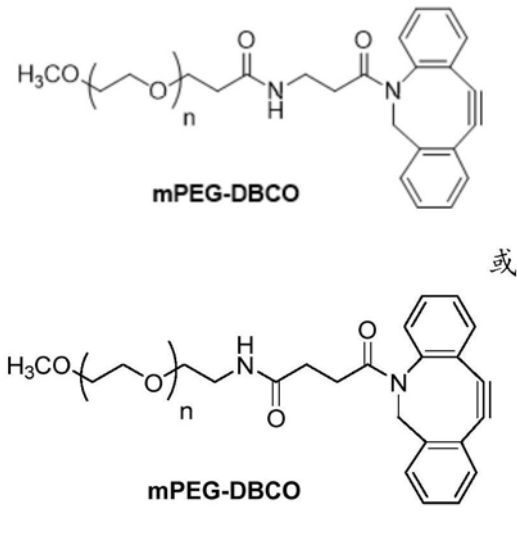
实施方案655. 一种制备IL-15缀合物的方法, 所述方法包括:

使IL-15多肽与mPEG-DBCO反应, 所述IL-15多肽包含下式的非天然氨基酸:



其中所述IL-15多肽包含SEQ ID NO:1或3的氨基酸序列, 其中所述IL-15多肽中的至少一个氨基酸残基被非天然氨基酸替代, 位置X-1表示与前一个氨基酸残基的附接点, 位置X+1表示与后一个氨基酸残基的附接点, 并且位置X表示所述非天然氨基酸所取代的氨基酸的位置,

所述mPEG-DBCO具有式



其中n使得所述mPEG-DBCO包含具有约5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa或50kDa的分子量的PEG，

从而产生所述IL-15缀合物。

实施方案656. 根据实施方案655所述的方法，其中参考SEQ ID NO:1内的氨基酸位置，位置X是S18、L25、E46、E53、N77或S83。

实施方案657. 根据实施方案655或656所述的方法，其中所述IL-15多肽包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列，其中所述IL-15多肽中的至少一个氨基酸残基被所述非天然氨基酸替代。

实施方案658. 根据实施方案655所述的方法，其中参考SEQ ID NO:3内的氨基酸位置，位置X是S19、L26、E47、E54、N78或S84。

实施方案659. 根据实施方案655或658所述的方法，其中所述IL-15多肽包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，其中所述IL-15多肽中的至少一个氨基酸残基被所述非天然氨基酸替代。

实施方案660. 根据实施方案655-659中任一项所述的方法，其中所述PEG具有约30kDa的分子量。

实施方案661. 根据实施方案655-659中任一项所述的方法，其中所述PEG具有约40kDa的分子量。

实施方案662. 根据实施方案655所述的方法，其中所述IL-15缀合物是根据实施方案1-636中任一项所述的IL-15缀合物。

实施例

[0370] 这些实施例仅仅出于说明性目的提供，并且不限制本文提供的权利要求的范围。

实施例1.

[0371] 经修饰的IL-15多肽的表达

[0372] 使用本文公开的方法将IL-15缀合物在大肠杆菌中表达为包涵体，其中制备了编码具有所需氨基酸序列的蛋白质的表达质粒，所述大肠杆菌含有 (a) 包含第一非天然核苷酸和第二非天然核苷酸的非天然碱基对，以在掺入了非天然氨基酸N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸(AzK)的所需位置提供密码子，并且在tRNA中提供匹配反密码子；(b)

编码源自马氏甲烷八叠球菌Py1并且包含非天然核苷酸以提供匹配反密码子代替其天然序列的tRNA的质粒；(c) 编码巴氏甲烷八叠球菌来源的吡咯赖氨酰-tRNA合成酶(Mb Py1RS)的质粒；以及(d) N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸(AzK)。编码所需IL-15变体的氨基酸序列的双链寡核苷酸在例如编码具有SEQ ID NO:1的蛋白质的序列的位置18、25、46、53、77或83处,或者在编码具有SEQ ID NO:3的蛋白质的序列的位置19、26、47、54、78或84处含有密码子AXC,其中X是如本文所公开的非天然核苷酸。在一些实施方案中,细胞进一步包含质粒,所述质粒可以是蛋白质表达质粒或另一种质粒,其编码来自马氏甲烷八叠球菌的正交tRNA基因,所述正交tRNA基因包含AXC匹配的反密码子GYT代替其天然序列,其中Y是如本文所公开的并且可以与密码子中的非天然核苷酸相同或不同的非天然核苷酸。X和Y选自如本文公开的非天然核苷酸脱氧核糖TPT3 (dTPT3)、脱氧核糖NaM (dNaM)、脱氧核糖CNM0 (dCNM0)、核糖TPT3 (TPT3)、核糖NaM (NaM)、核糖CNM0 (CNM0) 以及各自的三磷酸酯(dTPT3TP、dNaMTP、dCNM0TP、TPT3TP、NaMTP和CNM0TP) (还参见例如Feldman等人, Acc. Chem. Res. 2018, 51, 第394至403页; Zhang等人, Nature 2017, 551 (7682), 第644至647页); 以及Zhang等人, PNAS 2017, 114 (6), 第1317至1322页)。

[0373] 使经修饰的IL-15多肽在37°C、250rpm和5小时诱导下生长。培养基组成如表2所示。

表2

名称	组成
生长培养基	2xYT
对于1 L: 2x 2xYT沉淀物, 磷酸二氢钾, 磷酸氢二钾	30.8 mM磷酸氢二钾 19.2 mM磷酸二氢钾 100 ug/mL氨基青霉素 5 ug/mL氯霉素
液体循环高压灭菌以灭菌	50 ug/mL博莱霉素 37.5 uM dTPT3TP 150 uM dNaMTP

[0374] 当表达培养达到OD₆₀₀ 0.85-0.9时,将三磷酸NaM (NaMTP) (以250uM的最终浓度)、三磷酸TPT3 (TPT3TP) (以25uM的最终浓度)和叠氨基赖氨酸(以15mM的终浓度)预先加载在培养物中。在预加载核糖核苷酸和氨基酸后约15-20分钟,添加IPTG,并使蛋白质表达约5小时。

[0375] 包涵体

[0376] 在收集细胞沉淀物后,将沉淀物进一步加工成包涵体。简而言之,将1L细胞沉淀重悬浮于10mL裂解缓冲液(20mM Tris-HCl, pH 8.0; 150mM NaCl; 1mM DTT; 和蛋白酶抑制剂(1粒/50mL))中。重悬浮后,用裂解缓冲液将1L沉淀的体积增加至45mL,并运行通过微流化器2次。然后将样品转移到50mL离心管中,并在4°C以16k rpm离心20分钟。接下来,将沉淀重悬浮于5mL裂解缓冲液中,并用裂解缓冲液将总体积增加至30mL。添加约10%的Triton X-100至最终浓度为0.5%。然后将溶液在4°C以16k rpm离心20分钟,然后将沉淀收集并用30mL裂解缓冲液洗涤3次。使用5mL无针注射器在每次洗涤时使得完全重悬浮。在最终旋转后,弃去上清液,并将沉淀快速冷冻储存在-80°C。

[0377] 溶解和重折叠

[0378] 将约5mL溶解缓冲液添加至包涵体沉淀中。重悬浮后,在溶解缓冲液中体积增加至

30mL。接下来,将样品在4℃下孵育30-60分钟。然后,将样品转移至2x50mL离心管(15mL/管),并且向每个管中添加15mL稀释缓冲液。然后将样品随后于4℃下在缓冲液A1,接着是A2透析缓冲液、A3透析缓冲液、A4透析缓冲液和A5透析缓冲液中透析过夜。透析后,将样品在4℃以4000rpm离心30分钟,并浓缩至约5mL。

[0379] 表3示出了溶解缓冲液。

名称	组成
溶解缓冲液	6 M 盐酸胍 20 mM Tris-HCl, pH 8.0 1 mM DTT 20 mM 咪唑
稀释缓冲液	3 M 盐酸胍 20 mM Tris-HCl, pH 8.0 1 mM DTT 20 mM 咪唑
A1 透析缓冲液	2 M 盐酸胍 20 mM Tris-HCl, pH 8.5 150 mM NaCl 1 mM GSH(还原型谷胱甘肽) 0.1 mM GSSG(氧化型谷胱甘肽) 0.4 M L-精氨酸
A2 透析缓冲液	0.75 M 盐酸胍 20 mM Tris-HCl, pH 8.5 150 mM NaCl 1 mM GSH(还原型谷胱甘肽)
	肽) 0.1 mM GSSG(氧化型谷胱甘肽) 0.4 M L-精氨酸
A3 透析缓冲液	20 mM Tris-HCl, pH 8.5 150 mM NaCl 1 mM GSH(还原型谷胱甘肽) 0.1 mM GSSG(氧化型谷胱甘肽) 0.1 M L-精氨酸
A4 透析缓冲液	20 mM Tris-HCl, pH 8.5 150 mM NaCl
A5 透析缓冲液	20 mM Tris-HCl, pH 7.5 12.5 mM NaCl

[0380] 纯化

[0381] 将样品首先在GE HiLoad 16/600 Superdex 200pg凝胶过滤柱上用1x PBS洗脱缓冲液纯化,随后在GE HiTrapQ阴离子交换柱上纯化以去除游离PEG,然后以反相色谱用20个柱体积的30%-70%洗脱缓冲液的梯度洗脱纯化。

[0382] 表4示出了用于阴离子交换色谱法的缓冲液。表5示出了用于反相色谱法的缓冲液。

表4

名称	组成
运行缓冲液	20 mM Tris-HCl, pH 7.5
洗脱缓冲液	20 mM Tris-HCl, pH 7.5 500 mM NaCl

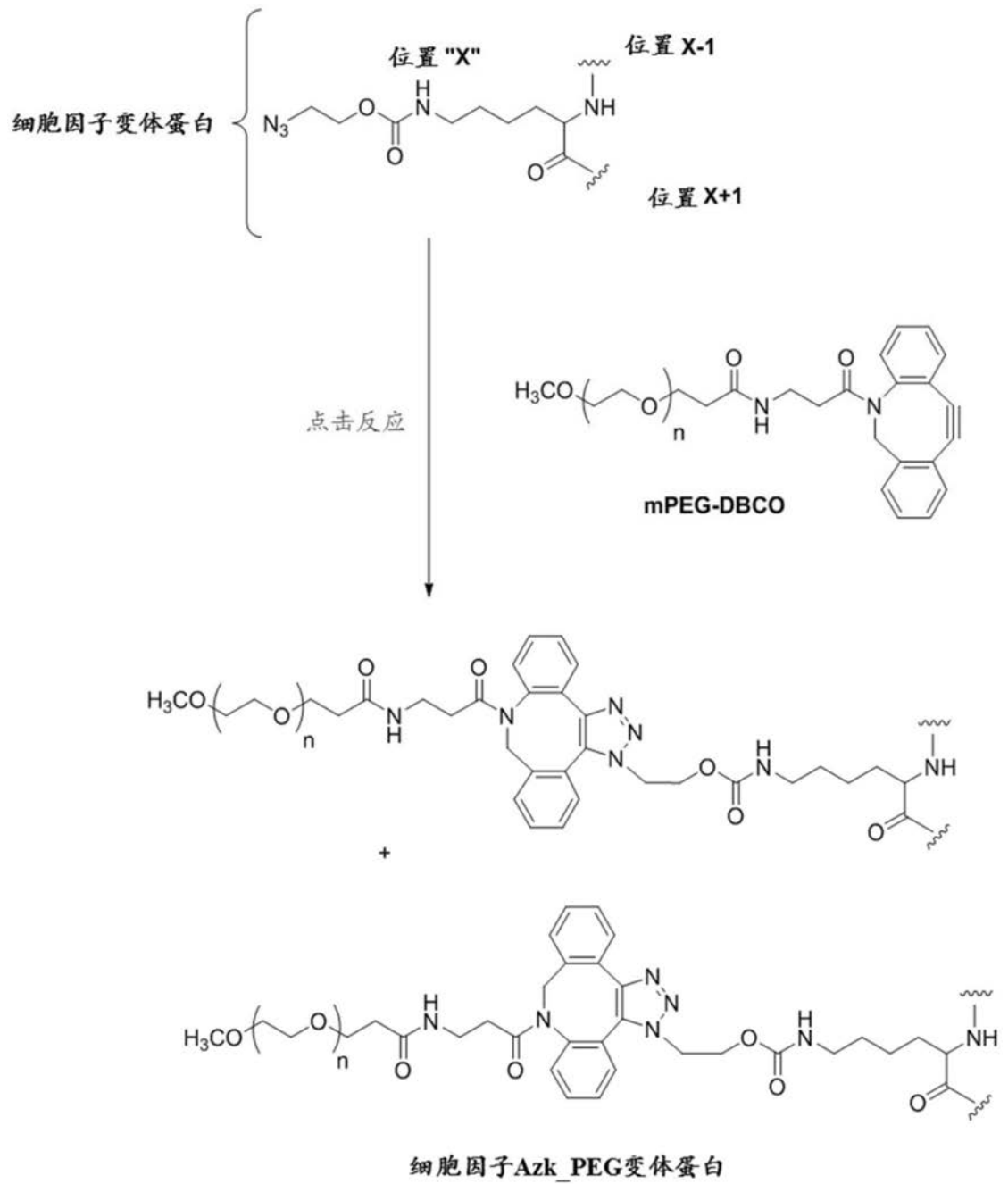
表5

名称	组成
运行缓冲液	4.5%乙腈 0.043% TFA
洗脱缓冲液	90%乙腈 0.028% TFA

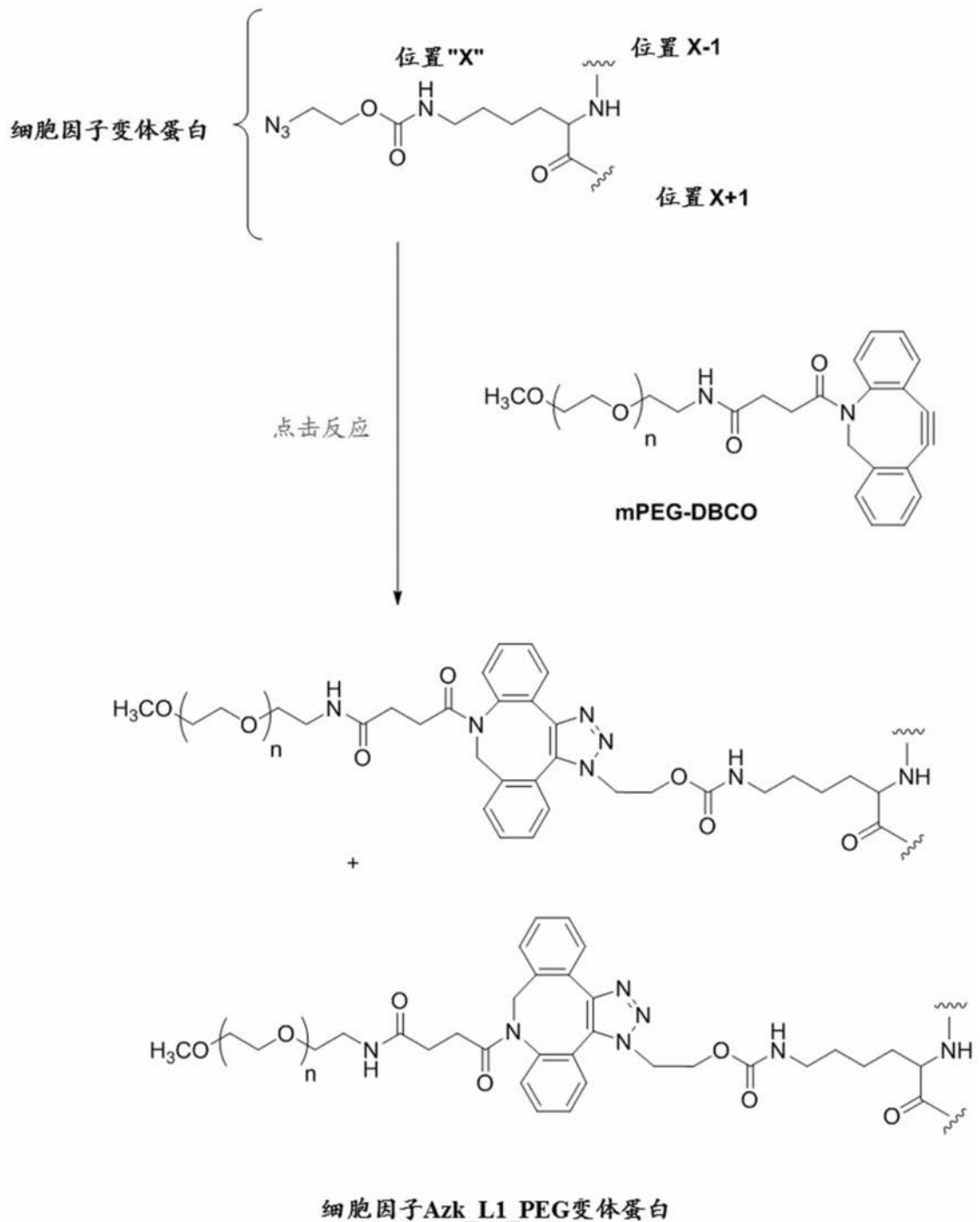
[0383] 缀合

[0384] 纯化后,使用DBCO介导的无铜点击化学将含AzK的IL-15产物进行位点特异性聚乙二醇化,以将稳定的共价mPEG部分附接至AzK(方案1和2)。

[0385] 方案1和2。AzK_PEG白介素变体的示例性合成(其中n指示重复PEG单元的数量)。AzK部分与DBCO炔基部分的反应可提供一种区域异构产物或区域异构产物的混合物。



方案1



方案2

[0386] 在下文的实施例2和3中使用化合物IL-15_L26[AzK_PEG30]、IL-15_E54[AzK_PEG30]和IL-15_N78[AzK_PEG30]。

[0387] 化合物IL-15_L26[AzK_PEG30]是具有SEQ ID NO:71的化合物,其中[AzK_PEG30]是式(II)、式(III)的结构或式(II)与(III)的混合物,其中W是具有30kDa的平均分子量的线性甲氧基PEG基团。通过以下方式制备化合物:首先制备具有SEQ ID NO:3的蛋白质,其中位置26处的亮氨酸残基(L26)(其中位置1是N末端甲硫氨酸残基)被N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸(AzK)替代以提供具有SEQ ID NO:59的化合物。然后允许含AzK的蛋白质在点击化学条件下与包含具有30kDa的平均分子量的甲氧基线性PEG基团的DBCO反应,以

提供包含式 (II)、式 (III) 或者式 (II) 与 (III) 的混合物的具有 SEQ ID NO:71 的产物,其中 W 是具有 30kDa 的平均分子量的甲氧基线性 PEG 基团。还可以将所述化合物定义为包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,其中位置 26 处的赖氨酸残基 (L26) 被式 (VI) 或 (VII) 的结构或者 (VI) 与 (VII) 的混合物替代,并且其中 n 是使得 PEG 基团具有约 30kDa 的分子量的整数。还可以将所述化合物定义为包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,其中位置 26 处的亮氨酸残基 (L26) 被式 (X) 或 (XI) 的结构或者 (X) 与 (XI) 的混合物替代,并且其中 n 是使得 PEG 基团具有约 30kDa 的分子量的整数。

[0388] 化合物 IL-15_E54[AzK_PEG30] 是具有 SEQ ID NO:73 的化合物,其中 [AzK_PEG30] 是式 (II)、式 (III) 的结构或式 (II) 与 (III) 的混合物,其中 W 是具有 30kDa 的平均分子量的线性甲氧基 PEG 基团。通过以下方式制备化合物:首先制备具有 SEQ ID NO:3 的蛋白质,其中位置 54 处的谷氨酸残基 (E54) (其中位置 1 是 N 末端甲硫氨酸残基) 被 N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸 (AzK) 替代以提供具有 SEQ ID NO:61 的化合物。然后允许含 AzK 的蛋白质在点击化学条件下与包含具有 30kDa 的平均分子量的甲氧基线性 PEG 基团的 DBCO 反应,以提供包含式 (II)、式 (III) 或者式 (II) 与 (III) 的混合物的具有 SEQ ID NO:73 的产物,其中 W 是具有 30kDa 的平均分子量的甲氧基线性 PEG 基团。还可以将所述化合物定义为包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,其中位置 54 处的谷氨酸残基 (E54) 被式 (VI) 或 (VII) 的结构或者 (VI) 与 (VII) 的混合物替代,并且其中 n 是使得 PEG 基团具有约 30kDa 的分子量的整数。还可以将所述化合物定义为包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,其中位置 54 处的谷氨酸 (E54) 被式 (X) 或 (XI) 的结构或者 (X) 与 (XI) 的混合物替代,并且其中 n 是使得 PEG 基团具有约 30kDa 的分子量的整数。

[0389] 化合物 IL-15_N78[AzK_PEG30] 是具有 SEQ ID NO:74 的化合物,其中 [AzK_PEG30] 是式 (II)、式 (III) 的结构或式 (II) 与 (III) 的混合物,其中 W 是具有 30kDa 的平均分子量的线性甲氧基 PEG 基团。通过以下方式制备化合物:首先制备具有 SEQ ID NO:3 的蛋白质,其中位置 78 处的天冬酰胺残基 (N78) (其中位置 1 是 N 末端甲硫氨酸残基) 被 N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸 (AzK) 替代以提供具有 SEQ ID NO:62 的化合物。然后允许含 AzK 的蛋白质在点击化学条件下与包含具有 30kDa 的平均分子量的甲氧基线性 PEG 基团的 DBCO 反应,以提供包含式 (II)、式 (III) 或者式 (II) 与 (III) 的混合物的具有 SEQ ID NO:74 的产物,其中 W 是具有 30kDa 的平均分子量的甲氧基线性 PEG 基团。还可以将所述化合物定义为包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,其中位置 78 处的天冬酰胺残基 (N78) 被式 (VI) 或 (VII) 的结构或者 (VI) 与 (VII) 的混合物替代,并且其中 n 是使得 PEG 基团具有约 30kDa 的分子量的整数。还可以将所述化合物定义为包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,其中位置 78 处的天冬酰胺残基 (N78) 被式 (X) 或 (XI) 的结构或者 (X) 与 (XI) 的混合物替代,并且其中 n 是使得 PEG 基团具有约 30kDa 的分子量的整数。

实施例 2

[0390] 在非人灵长类动物 (NHP) 全血中 IL-15 缀合物的离体免疫应答概况分析

[0391] 使用多色流式细胞术 (PrimityBio LLC, 弗里蒙特, 加利福尼亚州) 对采用化合物 IL-15_L26[AzK_PEG30]、IL-15_E54[AzK_PEG30] 和 IL-15_N78[AzK_PEG30] 的情况下食蟹猴全血中 STAT5 磷酸化的浓度-反应概况进行分析,以确定在用每种缀合物刺激后在原代免疫细胞亚群激活方面的区别。将来自 2 个供体的新鲜猴全血用 5 倍稀释系列的天然 IL-15、IL-

15_L26[AzK_PEG30]、IL-15_E54[AzK_PEG30]或IL-15_N78[AzK_PEG30]处理。IL-15_L26[AzK_PEG30]的最高浓度为100 μ g/mL,而IL-15_E54[AzK_PEG30]和IL-15_N78[AzK_PEG30]的最高浓度各自为30 μ g/mL。将经处理的细胞群在37 $^{\circ}$ C下孵育45分钟,之后添加BD Lyse/Fix缓冲液并用表6中所示的荧光抗体组套染色。多色流式细胞术用于检测和定量不同CD8+T和NK细胞子集中的pSTAT5激活。

[0392] 表6. 用于对食蟹猴全血进行流式细胞术研究的染色组套

细胞群	标记物
泛T	CD3
CD4	CD4
CD8	CD8
Treg	FoxP3
Treg (激活)	CD25
记忆/幼稚	CD45RA
NK	CD7
NK	CD16
信号传导	pSTAT5

在NK和效应T细胞(CD3+CD8+)群中,IL-15_N78[AzK_PEG30]和IL-15_E54[AzK_PEG30]相对于天然IL-15而言保持效力,pSTAT5产生的EC₅₀值在天然细胞因子的2至3倍内。相比之下,与天然IL-15相比,CD8+T和NK细胞群中对于IL-15_L26[AzK_PEG30]的pSTAT5诱导,EC₅₀值分别降低约164倍和约115倍。IL-15_L26[AzK_PEG30]的EC₅₀的大幅增加表明该位置处的聚乙二醇化降低了IL-15受体的激动性。化合物的EC₅₀数据示于表7中,并且图1A和图1B中示出了图。

[0393] 表7用天然IL-15或IL-15缀合物处理的食蟹猴全血中的STAT5信号传导的剂量反应(EC₅₀)

化合物	CD8+ T细胞 EC ₅₀ (ng/ml)	NK细胞 EC ₅₀ (ng/ml)
天然IL-15	6.3	1.9
IL-15_N78[AzK_PEG30]	15.7	3.9
IL-15_E54[AzK_PEG30]	9.2	1.8
IL-15_L26[AzK_PEG30]	1,036.7	218.6

[0394] 在小鼠脾细胞中IL-15PEG缀合物的离体免疫应答概况分析

[0395] 使用多色流式细胞术对C57BL6小鼠脾细胞中STAT5磷酸化的浓度-反应概况进行分析,以确定在用化合物IL-15_L26[AzK_PEG30]、IL-15_E54[AzK_PEG30]和IL-15_N78[AzK_PEG30]刺激后的EC₅₀差异。遵循标准方法处理小鼠脾细胞。简而言之,将来自C57BL6小鼠的脾脏切成小块,并通过滤网压制,并且将细胞用PBS洗涤通过滤网。离心后,以沉淀回收细胞。使用RBC裂解缓冲液(Biolegend 420301)裂解红细胞(RBC),并在通过滤网后回收剩余的细胞。离心后,将细胞洗涤一次并重悬浮于完全脾细胞RPMI培养基(RPMI(Gibco Cat3 22-400-089),10%FBS,1%P/S)中。将新鲜制备的脾细胞用5倍稀释系列的天然IL-15、IL-15_L26[AzK_PEG30]、IL-15_E54[AzK_PEG30]或IL-15_N78[AzK_PEG30]在37 $^{\circ}$ C下处理45min。IL-15_L26[AzK_PEG30]化合物的最高起始浓度为200 μ g/mL。IL-15_E54[AzK_PEG30]

和IL-15_N78[AzK_PEG30]化合物的最高起始浓度各自为20 μ g/mL。然后将细胞用Cytotfix (BD 554655)固定,并用表8中所示的荧光抗体组套染色。

[0396] 表8.用于对小鼠脾细胞进行流式细胞术研究的染色组套

细胞群	标记物
泛T	CD3
CD4 T细胞	CD4
CD8 T细胞	CD8
Treg	FoxP3
Treg(激活)	CD25
幼稚T细胞	CD62L
效应/记忆细胞	CD44
NK	CD49b

细胞群	标记物
NK	NKp46
信号传导	pSTAT5

[0397] 在CD8⁺ T细胞群中,天然IL-15和IL-15_N78[AzK_PEG30]化合物示出与未经刺激的细胞中非均一水平的IL-15R α 表达(Ring AM等人Nature Immunol 2012)一致的双相剂量-反应关系。用该化合物的情况下,对于幼稚和效应/记忆CD8⁺ T细胞观察到相同概况。IL-15_L26[AzK_PEG30]和IL-15_E54[AzK_PEG30]化合物是非 α 变体,已在表面等离子体共振研究中展现出所述化合物对IL15R α 具有降低的体外结合。所述化合物展现出与缺乏接合IL-15R α 一致的单相剂量-反应曲线。已知未经刺激的NK细胞具有非常低的IL-15R α 水平,因此化合物的剂量-反应曲线反映了对IL-15R β /IL-2R β 的不同接合。

实施例3

[0398] 示例性IL-15缀合物的体内研究

[0399] 制备化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30] (SEQ ID NO:44),并在体内研究中在C57BL/6小鼠中进行测试。应理解,测试的化合物的样品还可能包含含有N末端甲硫氨酸残基的化合物(IL-15_N78[AzK_L1_PEG30] (SEQ ID NO:92)),预期不会影响研究结果。将小鼠分成5组,如表9所示:(a)对第1组施用媒介物;(b)对第2组以0.1mg/kg的剂量施用静脉内(IV)单剂IL-15_N77[AzK_L1_PEG30];(c)对第3组以0.3mg/kg的剂量施用IV单剂IL-15_N77[AzK_L1_PEG30];(d)对第4组以1mg/kg的剂量施用IV单剂IL-15_N77[AzK_L1_PEG30];和(e)第5组既不接受媒介物也不接受IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]。

[0400] 表9

组	处理	剂量水平 (mg/kg)
1	媒介物	0
2	IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]	0.1
3	IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]	0.3
4	IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]	1.0
5	给药前	不适用

[0401] 在给药后以下时间点抽小鼠全血:8min、15min、30min、1小时、2小时、4小时、8小时、24小时、48小时、72小时、120小时、168小时、240小时和288小时。将血液样品置于K3-

EDTA管中,并将约100 μ L置于微量离心管中,置于冰上,并在1小时内针对血浆处理。使用ELISA测定来测定样品中源自血浆的测试化合物的浓度。将剩余的血液倒置几次,并裂解,并固定用于药效学(PD)生物标记物的染色。PD读出包括在所有时间点NK、CD8⁺ T和Treg细胞的细胞内pSTAT5监测以及表型分析。

[0402] 以非分室方法使用IV推注施用模型来分析测试化合物的组血浆浓度相对于时间的数据。在文献中报道的天然(野生型)IL-15的半衰期($t_{1/2}$)已报道为在小鼠中为约0.64h (Cytokine.2011年12月;56(3):804-810.doi:10.1016/j.cyto.2011.09.028)。取决于在对应的组中施用于小鼠的剂量,测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]的估算半衰期在7.71小时至14.6小时之间。测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]的清除率(Cl_{obs})范围为5.34mL/小时/kg至3.97mL/小时/kg,并且分布体积(Vz_{obs})范围为58.8mL/kg至84.2mL/kg。第2、3和4组小鼠的血浆浓度与时间关系的曲线示于图2中(第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;和第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈)。第2、3和4组小鼠的药代动力学(PK)参数均值如表10中所示。

表10

参数	单位	第2组	第3组	第4组
		均值		
AUC last	h*ng/mL	16955	62024	251431
AUC last_D	h*ng/mL/mg	169548	206745	251431
Cl_{obs}	mL/h/kg	5.34	4.79	3.97
Cmax	ng/mL	2173	5188	23100
Cmax_D	kg*ng/mL/mg	21727	17292	23100
剂量	mg/kg	0.1	0.3	1.0
半衰期($t_{1/2}$)	h	7.71	10.9	14.6
Tmax	h	0.16	0.35	0.31
Vz_{obs}	mL/kg	58.8	75.7	84.2

[0403] 在第2、3和4组的各组中测量STAT5磷酸化和细胞增殖的诱导。结果表明,在C57BL/6小鼠中,IV单剂测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30]诱导NK、CD8⁺和Treg细胞中的STAT5磷酸化,但Ki67的上调限于NK和CD8⁺ T细胞(IV单剂0.1、0.3和1mg/kg)。

[0404] 图3至图5展示了不同外周血细胞群中的pSTAT5%:媒介物=空心圆圈;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形;以及给药前=空心三角形。图3示出了NK细胞群中的pSTAT5%。图4示出了CD8 T细胞群中的pSTAT5%。图5示出了Treg细胞群中的pSTAT5%。

[0405] 在第1、2、3和4组的各组中在不同外周血细胞群中测量Ki67,并且展示于图6至图8中(媒介物=空心圆圈;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;以及第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形)。图6展示了NK细胞群中的Ki67%。图7展示了

CD8⁺ T细胞中的Ki67%。图8展示了Treg细胞群中的Ki67%。结果显示,CD8⁺ T和NK细胞(但不是Treg细胞)中早期增殖分子标记物Ki67的表达增加。

[0406] 在第1、2、3和4组的各组中测量NK和记忆CD8⁺ T细胞群的扩增,并且分别展示于图9和图10中(媒介物=空心圆圈;第2组(0.1mg/kg剂量)=实心圆圈;第3组(0.3mg/kg剂量)=实心正方形;以及第4组(1mg/kg剂量)=实心三角形)。图9展示了相对于给药后天数的NK细胞扩增%。图10展示了相对于给药后天数的记忆CD8⁺ T细胞扩增%。

[0407] 图11A-图11B示出了流式细胞术图,其示出了在C57BL/6小鼠中给予媒介物(图11A)和1mg/kg测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30](图11B)后5天的NK细胞群(从所有外周细胞中门控选出)。图12A-图12B示出了流式细胞术图,其示出了在C57BL/6小鼠中给予媒介物(图12A)和1mg/kg测试化合物IL-15_N77[AzK_L1_PEG30](图12B)后5天的记忆CD8⁺ T群体(从CD3⁺ T细胞中门控选出)。

[0408] 虽然在本文已经显示和描述了本公开文本的优选实施方案,但对于本领域技术人员而言应明显的是,此类实施方案仅通过举例的方式来提供。在不偏离本公开的情况下,许多变化、改变和替换将是本领域的技术人员能想到的。应该理解的是,在此描述的本公开的实施方案的不同替代方案可以用于实施本公开。以下权利要求旨在限定本公开的范围,并且在这些权利要求及其等同物的范围内的方法和结构涵盖在其中。

序列表

<110> 新索思股份有限公司
 <120> 新型IL-15缀合物及其用途
 <130> 01183-0074-00PCT
 <150> US 62/890,741
 <151> 2019-08-23
 <150> US 62/931,663
 <151> 2019-11-06
 <150> US 62/958,177
 <151> 2020-01-07
 <160> 99
 <170> PatentIn 3.5版
 <210> 1
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <220>
 <221> 尚未归类的特征
 <223> IL-15 (成熟形式)
 <400> 1
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser
 <210> 2
 <211> 136
 <212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> IL-15 (前体)

<400> 2

```

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1           5           10           15
Val Ile Met Ser Arg Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys
           20           25           30
Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr
           35           40           45
Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys
           50           55           60
Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser
65           70           75           80
Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu
           85           90           95
Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu
           100          105          110
Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile
           115          120          125
Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
           130          135

```

<210> 3

<211> 115

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> Met-IL-15 (具有N末端甲硫氨酸的成熟形式)

<400> 3

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60

```


<223> 合成的: IL-15_L25X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (25) .. (25)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 5

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5					10						15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Xaa	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35					40						45	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50					55						60	
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70									75	
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
					85									90	
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100											105	
															110

Thr Ser

<210> 6

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E46X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (46) .. (46)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 6

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5					10						15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Xaa	Leu	Gln
			35					40						45	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu

50	55	60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val		
65	70	75
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile		
	85	90
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn		
	100	105
		110

Thr Ser

<210> 7

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E53X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (53) .. (53)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 7

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile		
1	5	10
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His		
	20	25
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln		
	35	40
Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu		
	50	55
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val		
65	70	75
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile		
	85	90
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn		
	100	105
		110

Thr Ser

<210> 8

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N77X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (77) .. (77)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 8

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5					10			15				
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25			30				
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35				40				45				
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50			55				60					
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Xaa	Gly	Asn	Val
65				70				75						80	
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
				85				90					95		
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100					105					110		

Thr Ser

<210> 9

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S83X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (83) .. (83)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 9

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5					10			15				
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25			30				
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35				40				45				
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu

50	55	60																		
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val					
65					70					75					80					
Thr	Glu	Xaa	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile					
					85					90					95					
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn					
					100					105					110					
Thr	Ser																			
<210>	10																			
<211>	114																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			
<220>																				
<223>	合成的: IL-15_S18[AzK]																			
<220>																				
<221>	尚未归类的特征																			
<222>	(18) .. (18)																			
<223>	Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸																			
<400>	10																			
Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile					
1				5						10				15						
Gln	Xaa	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His					
				20						25				30						
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln					
				35						40				45						
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu					
				50						55				60						
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val					
65					70									75						
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile					
					85									90						
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn					
					100									105						
Thr	Ser																			
<210>	11																			
<211>	114																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			
<220>																				

<223> 合成的: IL-15_L25[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (25) .. (25)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 11

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5						10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Xaa	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35				40							45	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50				55							60	
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70						75				80
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
					85						90				95
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100								105				110

Thr Ser

<210> 12

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E46[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (46) .. (46)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 12

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5						10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20						25					30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Xaa	Leu	Gln
			35				40							45	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu

50	55	60																		
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val					
65					70					75					80					
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile					
					85					90					95					
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn					
					100					105					110					
Thr	Ser																			
<210>	13																			
<211>	114																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			
<220>																				
<223>	合成的: IL-15_E53[AzK]																			
<220>																				
<221>	尚未归类的特征																			
<222>	(53) .. (53)																			
<223>	Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸																			
<400>	13																			
Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile					
1				5						10				15						
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His					
				20						25				30						
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln					
				35						40				45						
Val	Ile	Ser	Leu	Xaa	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu					
				50						55				60						
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val					
65					70									75						
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile					
					85									90						
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn					
					100									105						
Thr	Ser																			
<210>	14																			
<211>	114																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			
<220>																				

<223> 合成的: IL-15_N77[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (77) .. (77)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 14

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5					10			15				
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25			30				
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35					40			45				
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50					55			60				
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Xaa	Gly	Asn	Val
65				70				75				80			
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
				85				90				95			
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100					105				110			

Thr Ser

<210> 15

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S83[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (83) .. (83)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 15

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5					10			15				
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25			30				
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35					40			45				
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu

50	55	60																
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val			
65					70					75					80			
Thr	Glu	Xaa	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile			
				85						90					95			
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn			
			100						105						110			
Thr	Ser																	
<210>	16																	
<211>	114																	
<212>	PRT																	
<213>	人工序列																	
<220>																		
<223>	合成的: IL-15_S18[AzK_PEG]																	
<220>																		
<221>	尚未归类的特征																	
<222>	(18) .. (18)																	
<223>	Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的																	
	N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸																	
<400>	16																	
Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile			
1				5						10				15				
Gln	Xaa	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His			
			20							25				30				
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln			
			35						40					45				
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu			
	50									55				60				
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val			
65					70									75			80	
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile			
				85						90					95			
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn			
			100							105					110			
Thr	Ser																	
<210>	17																	
<211>	114																	
<212>	PRT																	
<213>	人工序列																	

<220>

<223> 合成的: IL-15_L25[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (25) .. (25)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 17

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Xaa	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25					30		
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
		35					40						45		
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
	50					55					60				
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70				75					80	
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
				85				90					95		
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100					105					110		

Thr Ser

<210> 18

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E46[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (46) .. (46)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 18

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25					30		

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 19

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E53[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (53) .. (53)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 19

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 20

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N77[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (77) .. (77)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的
N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 20

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn Val
65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 21

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S83[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (83) .. (83)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的
N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 21

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 22

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S18[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (18) .. (18)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 22

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 24

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Xaa	Leu	Gln
			35				40							45	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50				55					60			
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70					75					80
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
				85					90					95	
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100					105						110	

Thr Ser

<210> 25

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E53[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (53) .. (53)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 25

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35				40							45	
Val	Ile	Ser	Leu	Xaa	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50				55					60			
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70					75					80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 26

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N77[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (77) .. (77)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 26

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 27

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S83[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (83) .. (83)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 27

```

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1           5           10           15
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
           20           25           30
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
           35           40           45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
           50           55           60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65           70           75           80
Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
           85           90           95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
           100           105           110

```

Thr Ser

<210> 28

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S18[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (18) .. (18)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 28

```

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1           5           10           15
Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
           20           25           30
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
           35           40           45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

```

50	55	60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val		
65	70	75
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile		80
	85	90
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn		95
	100	105
		110
Thr Ser		
<210> 29		
<211> 114		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: IL-15_L25[AzK_PEG40]		
<220>		
<221> 尚未归类的特征		
<222> (25) .. (25)		
<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的		
N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸		
<400> 29		
Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile		
1	5	10
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val His		15
	20	25
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln		30
	35	40
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu		45
	50	55
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val		60
65	70	75
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile		80
	85	90
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn		95
	100	105
		110
Thr Ser		
<210> 30		
<211> 114		
<212> PRT		
<213> 人工序列		

<220>

<223> 合成的: IL-15_E46[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (46) .. (46)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 30

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5						10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Xaa	Leu	Gln
			35					40						45	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50					55						60	
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70					75					80
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
					85					90					95
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100							105					110

Thr Ser

<210> 31

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E53[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (53) .. (53)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 31

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1			5						10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 32

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N77[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (77) .. (77)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 32

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 33

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S83[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (83) .. (83)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 33

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80

Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 34

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S18[AzK_L1_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (18) .. (18)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 34

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15
 Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 35

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_L25[AzK_ L1_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (25) .. (25)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 35

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 37

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35				40							45	
Val	Ile	Ser	Leu	Xaa	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50				55					60			
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70					75					80
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
				85						90					95
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100						105						110

Thr Ser

<210> 38

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N77[AzK_L1_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (77) .. (77)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 38

Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His
			20					25						30	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
			35				40							45	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu
			50				55					60			
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Xaa	Gly	Asn	Val
65					70					75					80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 39

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S83[AzK_ L1_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (83) .. (83)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 39

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 40

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S18[AzK_ L1_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (18) .. (18)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的
N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 40

```

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1           5           10           15
Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
           20           25           30
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
           35           40           45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
           50           55           60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65           70           75           80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
           85           90           95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
           100           105           110

```

Thr Ser

<210> 41

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_L25[AzK_L1_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (25) .. (25)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的
N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 41

```

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1           5           10           15
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
           20           25           30
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
           35           40           45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

```

50	55	60																		
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val					
65	70	75	80																	
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile					
	85	90	95																	
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn					
	100	105	110																	
Thr	Ser																			
<210>	42																			
<211>	114																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			
<220>																				
<223>	合成的: IL-15_E46[AzK_ L1_PEG30]																			
<220>																				
<221>	尚未归类的特征																			
<222>	(46) .. (46)																			
<223>	Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的																			
	N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸																			
<400>	42																			
Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile					
1	5	10	15																	
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His					
	20	25	30																	
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Xaa	Leu	Gln					
	35	40	45																	
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu					
	50	55	60																	
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val					
65	70	75	80																	
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile					
	85	90	95																	
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn					
	100	105	110																	
Thr	Ser																			
<210>	43																			
<211>	114																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 45

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S83[AzK_ L1_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (83) .. (83)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的
 N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 45

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 46

<211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-15_S18[AzK_L1_PEG40]
 <220>
 <221> 尚未归类的特征
 <222> (18) .. (18)
 <223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的
 N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸
 <400> 46
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser
 <210> 47
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-15_L25[AzK_L1_PEG40]
 <220>
 <221> 尚未归类的特征
 <222> (25) .. (25)
 <223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的
 N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸
 <400> 47
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 48

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E46[AzK_L1_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (46) .. (46)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 48

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 52

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S19X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (19) .. (19)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 52

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110

Asn Thr Ser

115

<210> 53

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_L26X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (26) .. (26)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 53

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
65           70           75           80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90           95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 54

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E47X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (47) .. (47)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 54

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60

```


<220>

<223> 合成的: IL-15_N78X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (78) .. (78)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 56

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn
65           70           75           80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90           95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 57

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S84X

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (84) .. (84)

<223> Xaa是非天然氨基酸

<400> 57

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu

```

	35		40		45															
Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val					
	50						55						60							
Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn					
65					70					75				80						
Val	Thr	Glu	Xaa	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn					
				85					90					95						
Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile					
				100				105						110						

Asn Thr Ser

115

<210> 58

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S19[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (19) .. (19)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 58

Met	Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu					
1				5					10					15						
Ile	Gln	Xaa	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val					
				20					25					30						
His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu					
				35					40					45						
Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val					
	50						55						60							
Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn					
65					70					75				80						
Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn					
				85					90					95						
Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile					
				100				105						110						

Asn Thr Ser

115

<210> 59

<211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-15_L26[AzK]
 <220>
 <221> 尚未归类的特征
 <222> (26) .. (26)
 <223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸
 <400> 59
 Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115
 <210> 60
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-15_E47[AzK]
 <220>
 <221> 尚未归类的特征
 <222> (47) .. (47)
 <223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸
 <400> 60
 Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115

<210> 61

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E54[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (54) .. (54)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 61

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110

Asn Thr Ser

115

<210> 62

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N78[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (78) .. (78)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 62

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu

1 5 10 15

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val

20 25 30

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu

35 40 45

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val

50 55 60

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn

65 70 75 80

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn

85 90 95

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile

100 105 110

Asn Thr Ser

115

<210> 63

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S84[AzK]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (84) .. (84)

<223> Xaa是[AzK] = N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 63

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115

<210> 64

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S19[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (19) .. (19)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 64

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110

Asn Thr Ser
 115

<210> 65

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_L26[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (26) .. (26)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 65

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110

Asn Thr Ser
 115

<210> 66

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E47[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (47) .. (47)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 66

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
65           70           75           80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90           95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 67

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E54[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (54) .. (54)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 67

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30

```


115

<210> 69

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S84[AzK_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (84) .. (84)

<223> Xaa是[AzK_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 69

Met	Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu
1				5					10					15	
Ile	Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val
			20					25					30		
His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu
			35					40					45		
Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val
		50					55					60			
Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn
65					70					75				80	
Val	Thr	Glu	Xaa	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn
				85					90					95	
Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile
				100				105						110	
Asn	Thr	Ser													

115

<210> 70

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S19[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (19) .. (19)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 70

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1 5 10 15

Ile Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
65 70 75 80

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110

Asn Thr Ser
 115

<210> 71

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_L26[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (26) .. (26)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 71

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1 5 10 15

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn

<220>

<223> 合成的: IL-15_E54[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (54) .. (54)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 73

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10          15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25          30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40          45
Gln Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55          60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
65           70           75          80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90          95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 74

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N78[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (78) .. (78)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 74

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10          15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val

```

	20		25		30										
His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu
	35		40		45										
Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val
	50		55		60										
Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Xaa	Gly	Asn
65			70		75										80
Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn
			85		90										95
Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile
			100		105										110
Asn	Thr	Ser													
	115														

<210> 75

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S84[AzK_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (84) .. (84)

<223> Xaa是[AzK_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 75

Met	Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu
1			5						10					15	
Ile	Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val
			20						25					30	
His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu
			35						40					45	
Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val
			50						55					60	
Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn
65					70									75	80
Val	Thr	Glu	Xaa	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn
					85									90	95
Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile
					100									105	110

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 77

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
65           70           75           80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90           95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 78

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E47[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (47) .. (47)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 78

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60

```


<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N78[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (78) .. (78)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 80

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10          15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25          30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40          45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55          60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn
65           70           75          80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90          95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 81

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S84[AzK_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (84) .. (84)

<223> Xaa是[AzK_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 81

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10          15

```

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115

<210> 82

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S19[AzK_L1_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (19) .. (19)

<223> [AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 82

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile

100	105	110
Asn Thr Ser		
115		
<210> 83		
<211> 115		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: IL-15_L26[AzK_ L1_PEG]		
<220>		
<221> 尚未归类的特征		
<222> (26) .. (26)		
<223> Xaa是[AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的 N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸		
<400> 83		
Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu		
1 5 10 15		
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val		
20 25 30		
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu		
35 40 45		
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val		
50 55 60		
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn		
65 70 75 80		
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn		
85 90 95		
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile		
100 105 110		
Asn Thr Ser		
115		
<210> 84		
<211> 115		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: IL-15_E47[AzK_ L1_PEG]		
<220>		
<221> 尚未归类的特征		

<222> (47) .. (47)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 84

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
65           70           75           80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90           95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 85

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E54[AzK_L1_PEG]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (54) .. (54)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 85

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val

```


Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110

Asn Thr Ser
 115

<210> 90

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E47[AzK_ L1_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (47) .. (47)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 90

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu
 35 40 45

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110

Asn Thr Ser
 115

<210> 91

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E54[AzK_ L1_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (54) .. (54)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的
N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 91

```
Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
65           70           75           80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90           95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115
```

<210> 92

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_N78[AzK_L1_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (78) .. (78)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的
N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 92

```
Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
```

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115

<210> 93

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S84[AzK_L1_PEG30]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (84) .. (84)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG30] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 93

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Xaa Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115

<210> 94

<211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-15_S19[AzK_L1_PEG40]
 <220>
 <221> 尚未归类的特征
 <222> (19) .. (19)
 <223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的
 N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸
 <400> 94
 Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Xaa Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115
 <210> 95
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-15_L26[AzK_L1_PEG40]
 <220>
 <221> 尚未归类的特征
 <222> (26) .. (26)
 <223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的
 N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸
 <400> 95

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Xaa Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 85 90 95
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 100 105 110
 Asn Thr Ser
 115

<210> 96

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_E47[AzK_ L1_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (47) .. (47)

<223> Xaa是[AzK_ L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 96

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 20 25 30
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Xaa Leu
 35 40 45
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 50 55 60
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 65 70 75 80
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn

	85	90	95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile			
	100	105	110
Asn Thr Ser			
	115		
<210> 97			
<211> 115			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的: IL-15_E54[AzK_ L1_PEG40]			
<220>			
<221> 尚未归类的特征			
<222> (54) .. (54)			
<223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的 N6-((2-叠氮基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸			
<400> 97			
Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu			
1	5	10	15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val			
	20	25	30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu			
	35	40	45
Gln Val Ile Ser Leu Xaa Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val			
	50	55	60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn			
65	70	75	80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn			
	85	90	95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile			
	100	105	110
Asn Thr Ser			
	115		
<210> 98			
<211> 115			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的: IL-15_N78[AzK_ L1_PEG40]			

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (78) .. (78)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] =

稳定缀合至PEG的N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 98

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
           35           40           45
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
           50           55           60
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Xaa Gly Asn
65           70           75           80
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
           85           90           95
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
           100          105          110
Asn Thr Ser
           115

```

<210> 99

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-15_S84[AzK_L1_PEG40]

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (84) .. (84)

<223> Xaa是[AzK_L1_PEG40] = 稳定缀合至PEG的

N6-((2-叠氨基乙氧基)-羰基)-L-赖氨酸

<400> 99

```

Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
1           5           10           15
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
           20           25           30
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu

```


CD8 + T 细胞

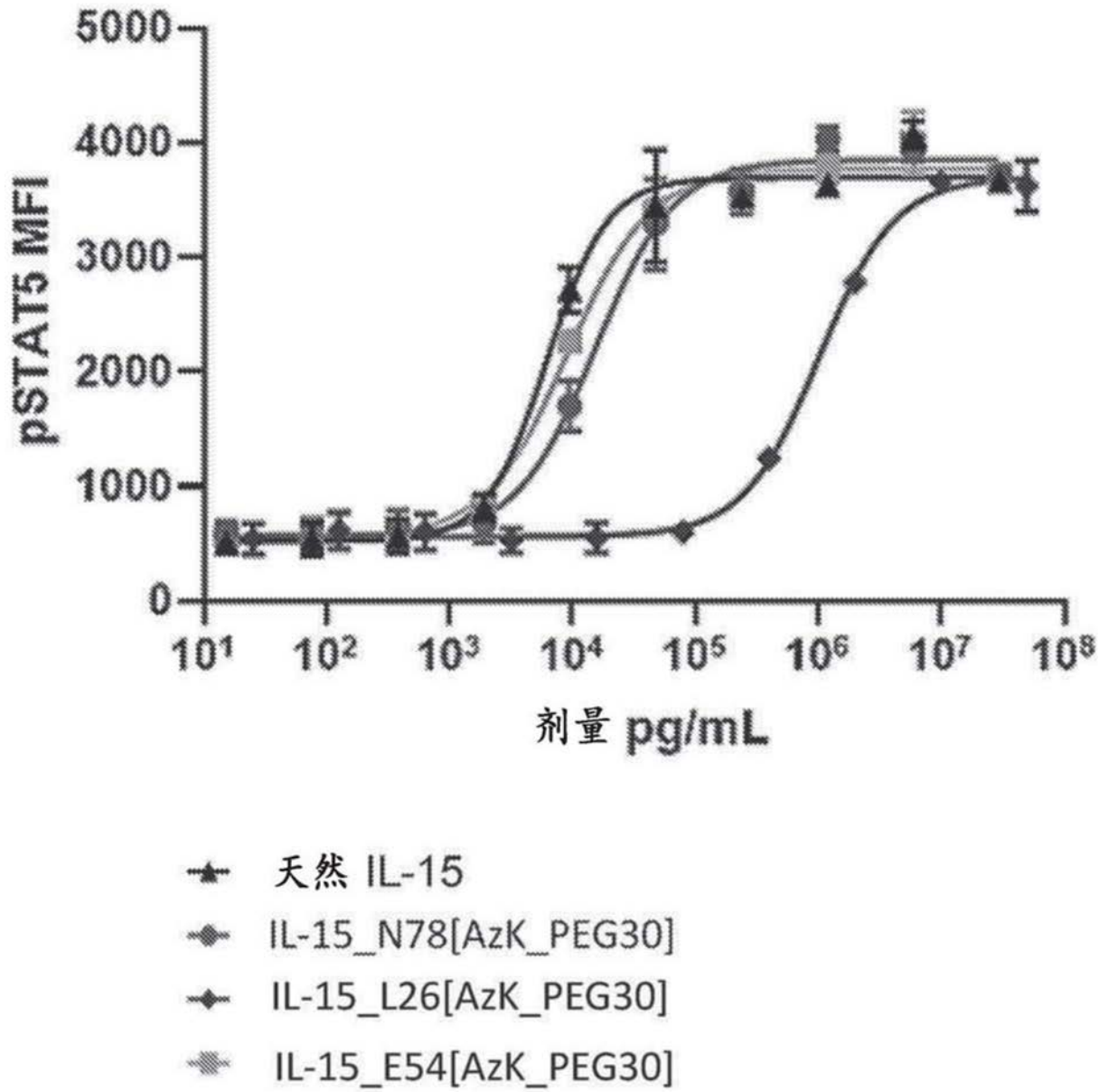
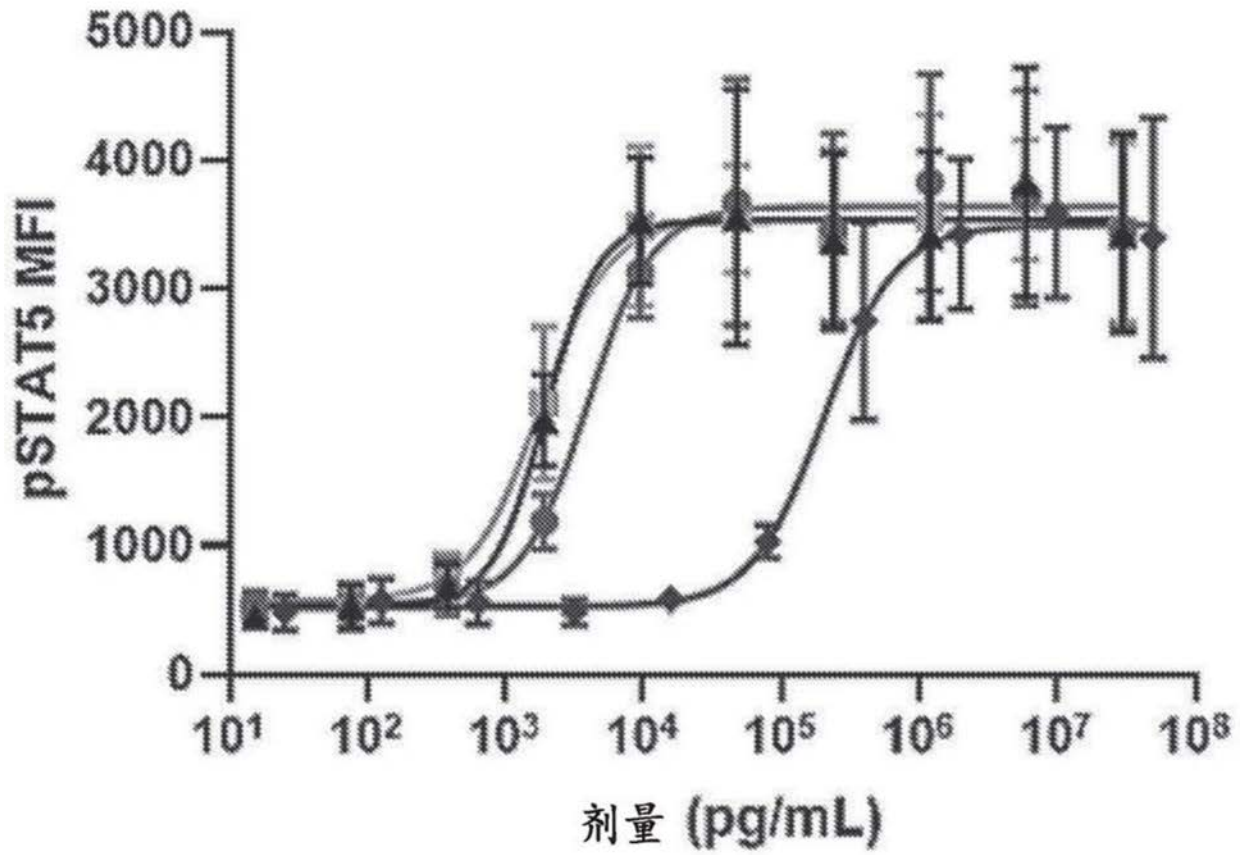


图1A

NK 细胞



- ▲ 天然 IL-15
- ◆ IL-15_N78[AzK_PEG30]
- ◻ IL-15_L26[AzK_PEG30]
- ✱ IL-15_E54[AzK_PEG30]

图1B

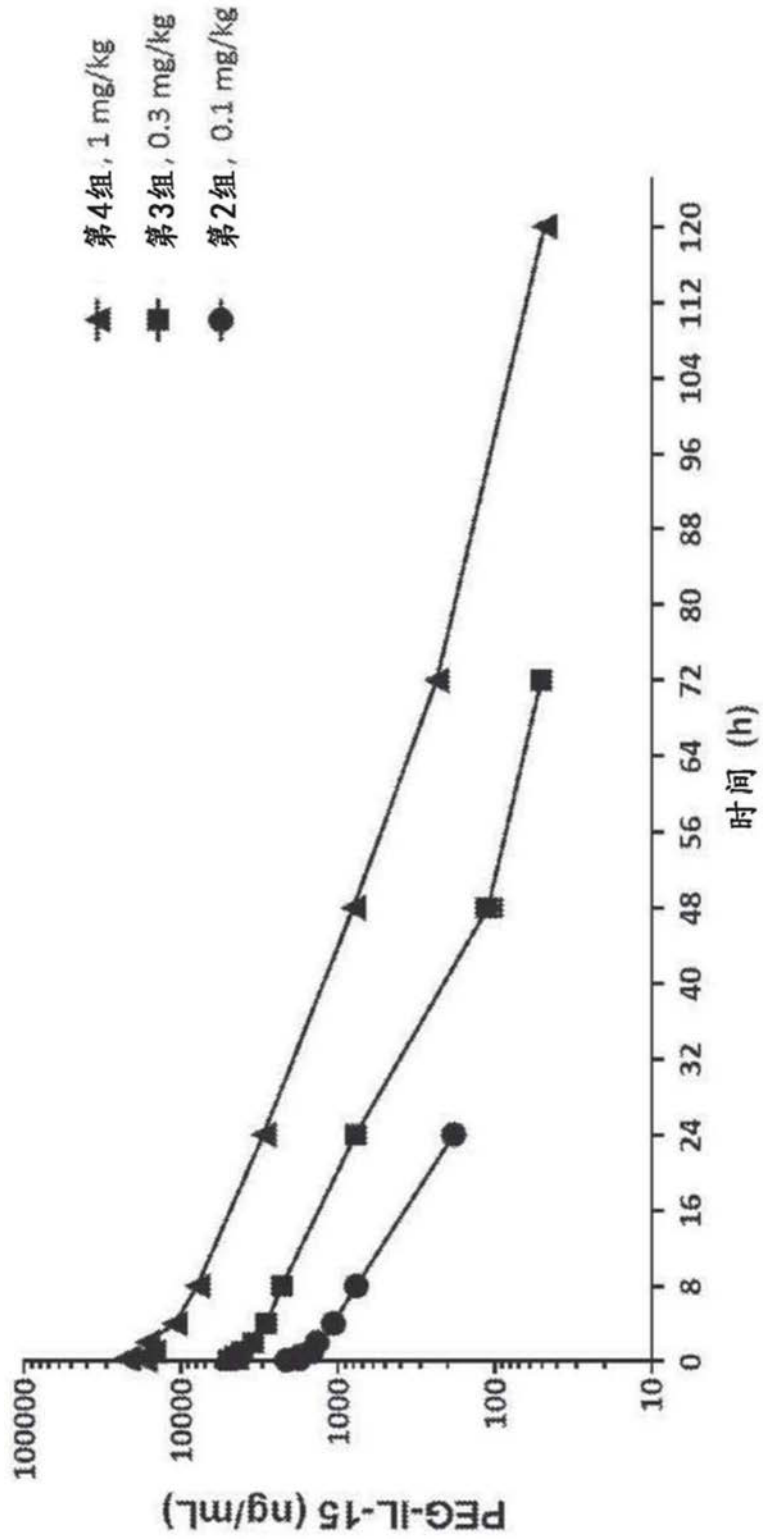


图2

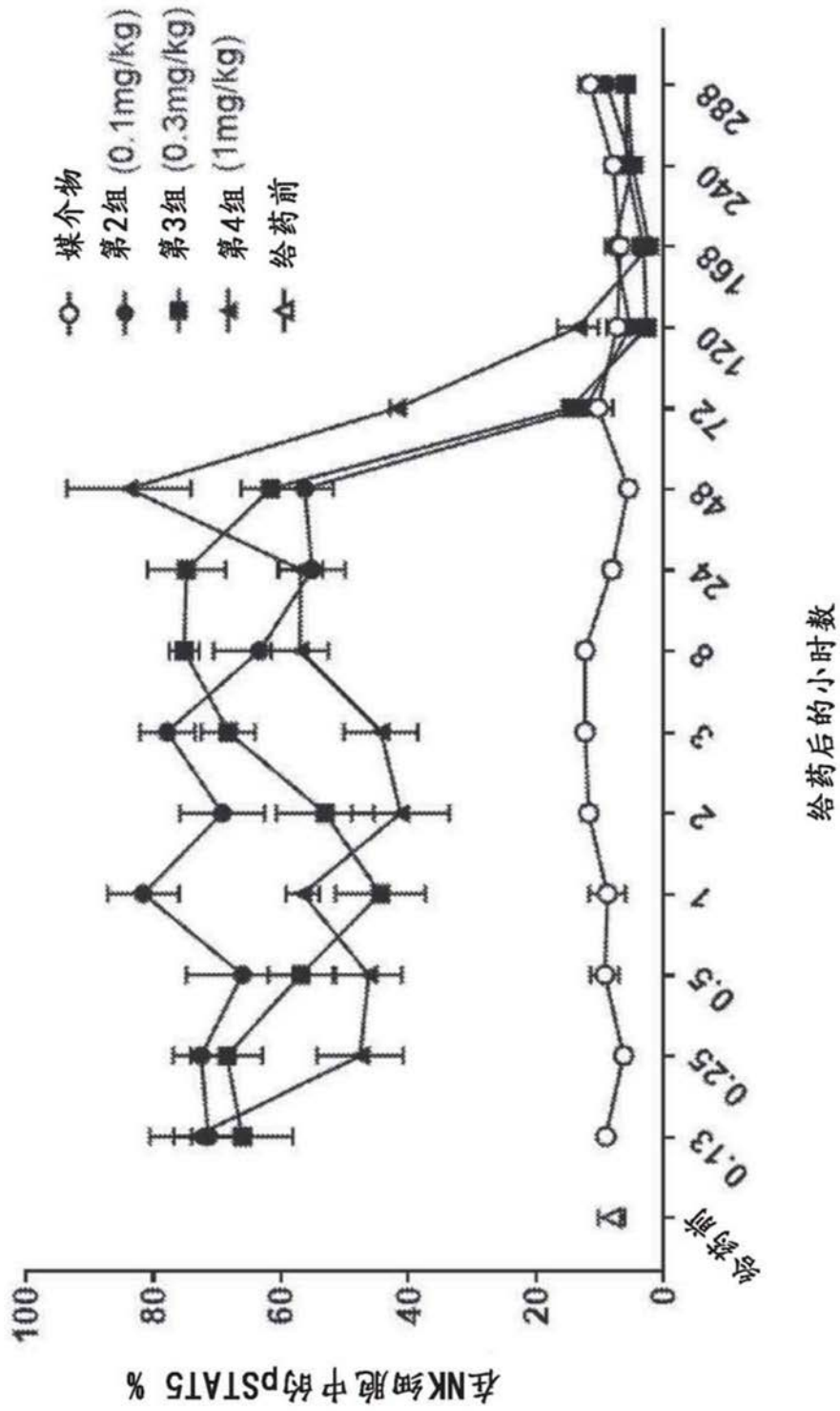


图3

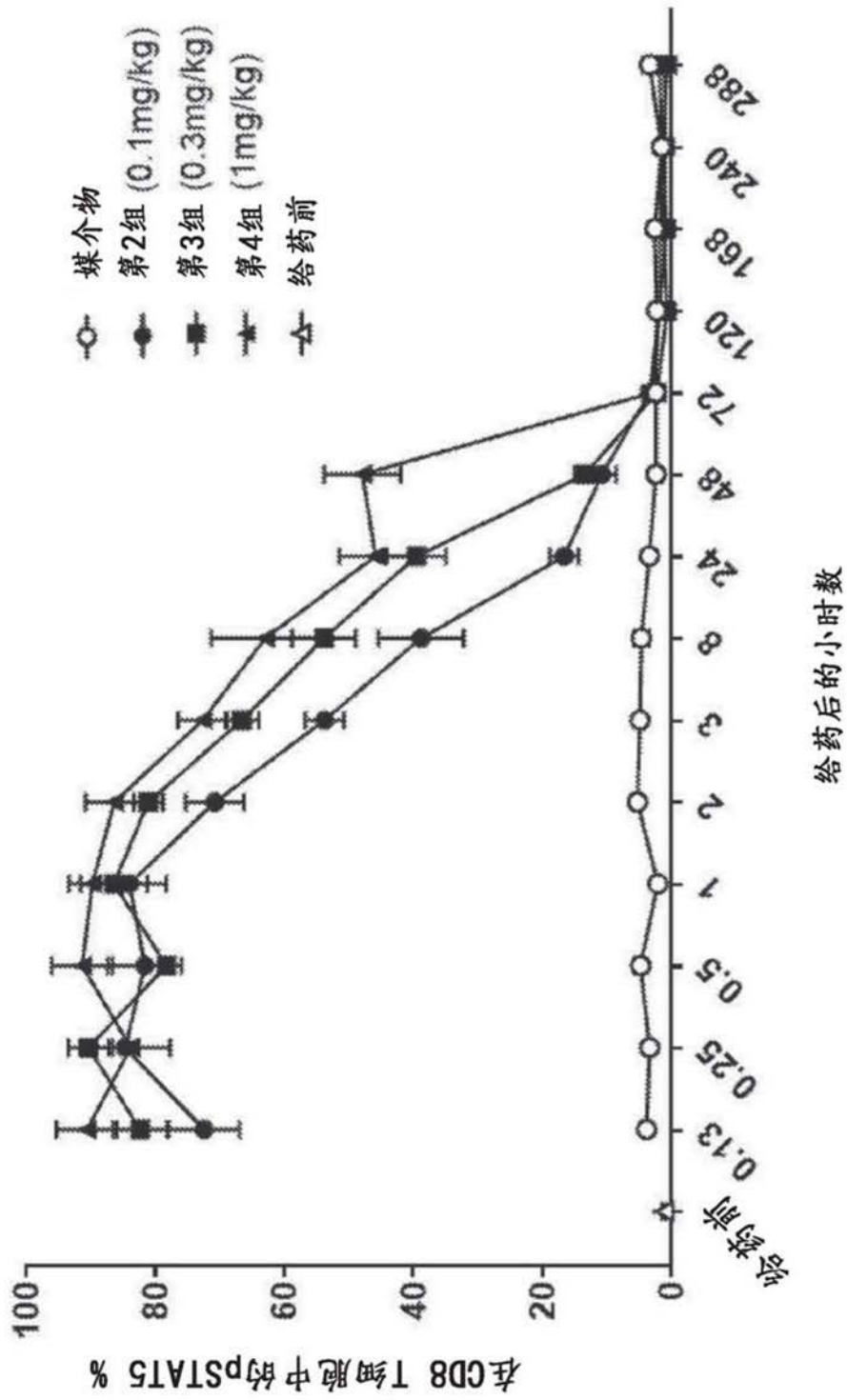


图4

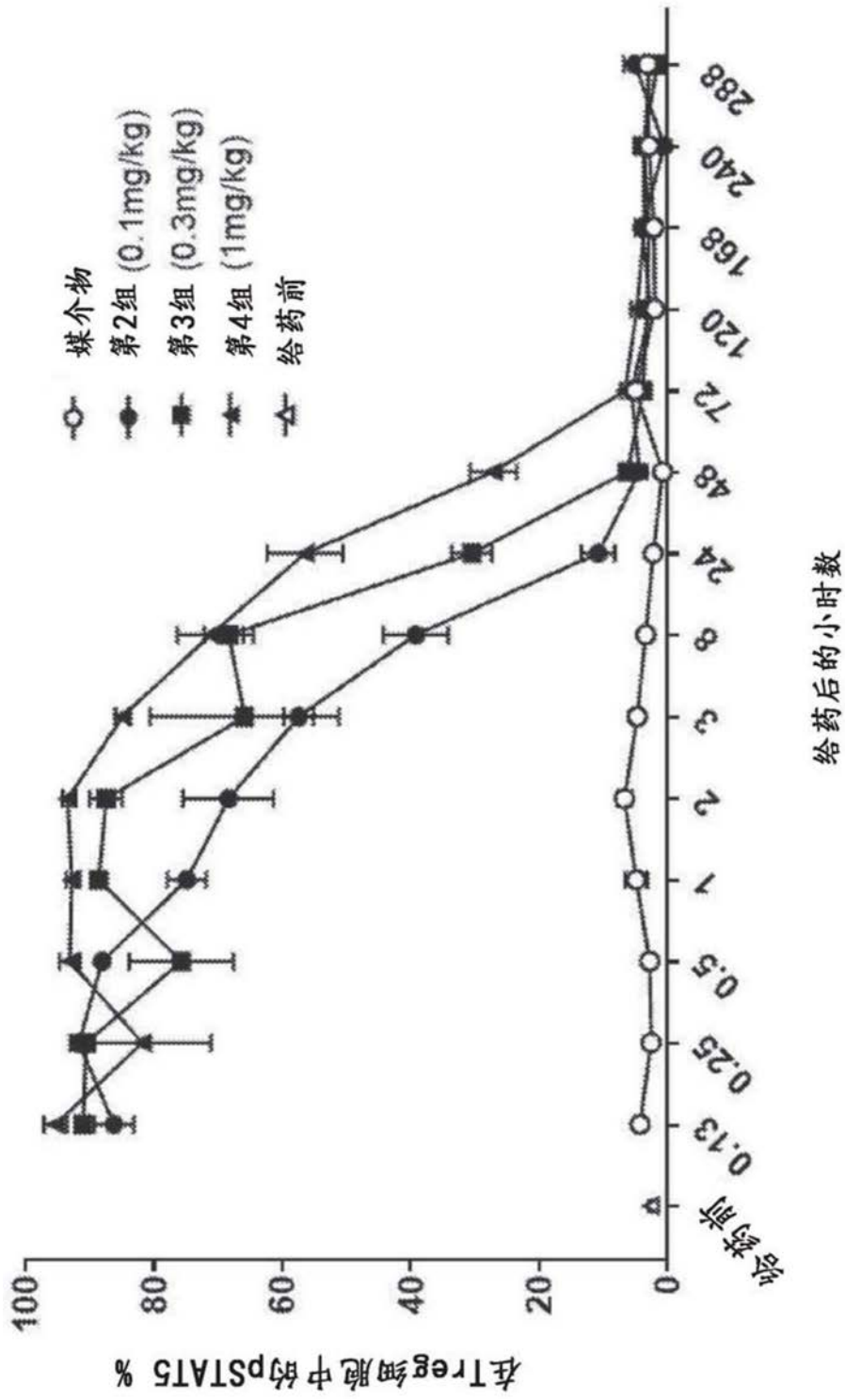


图5

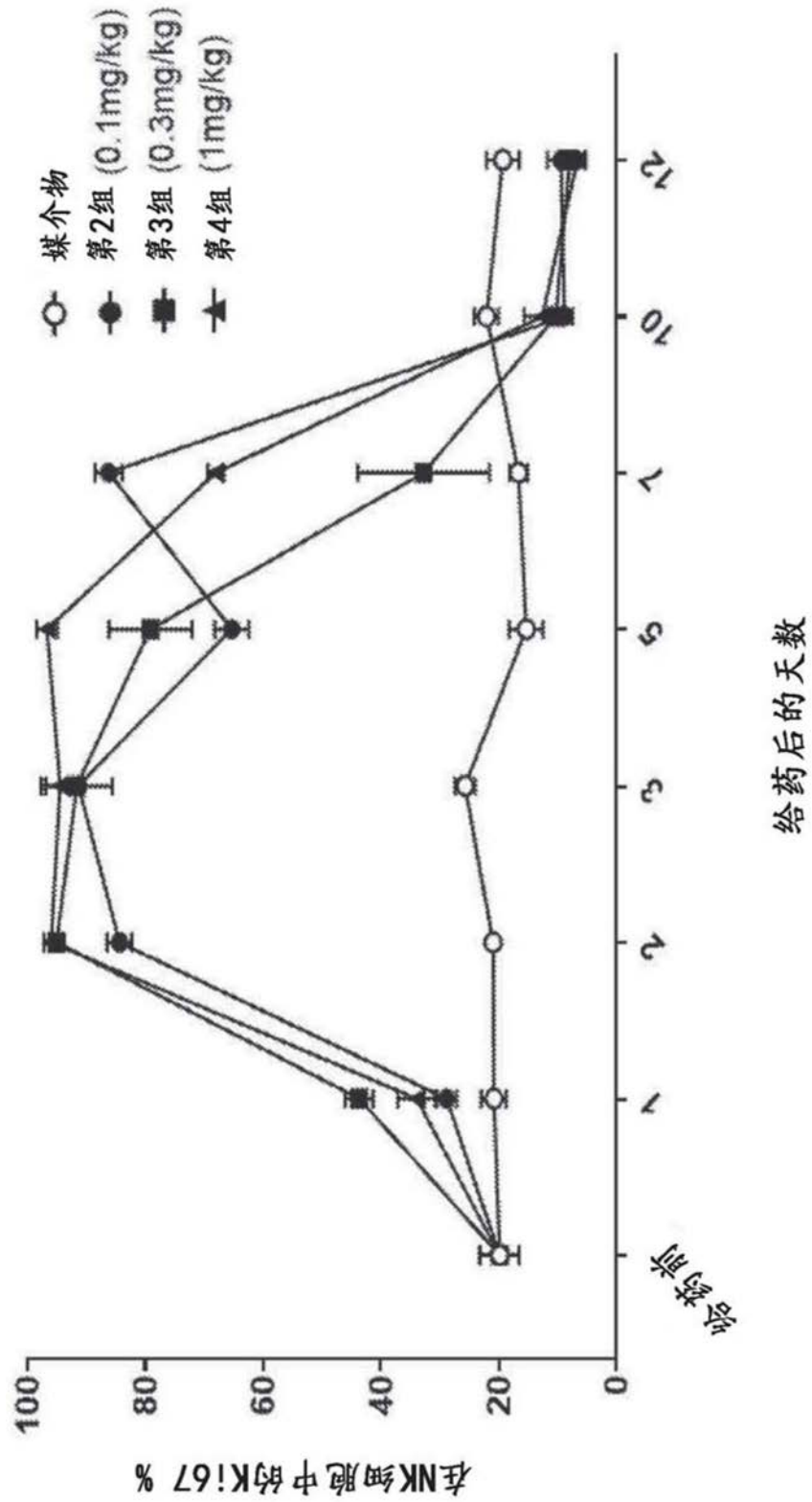


图6

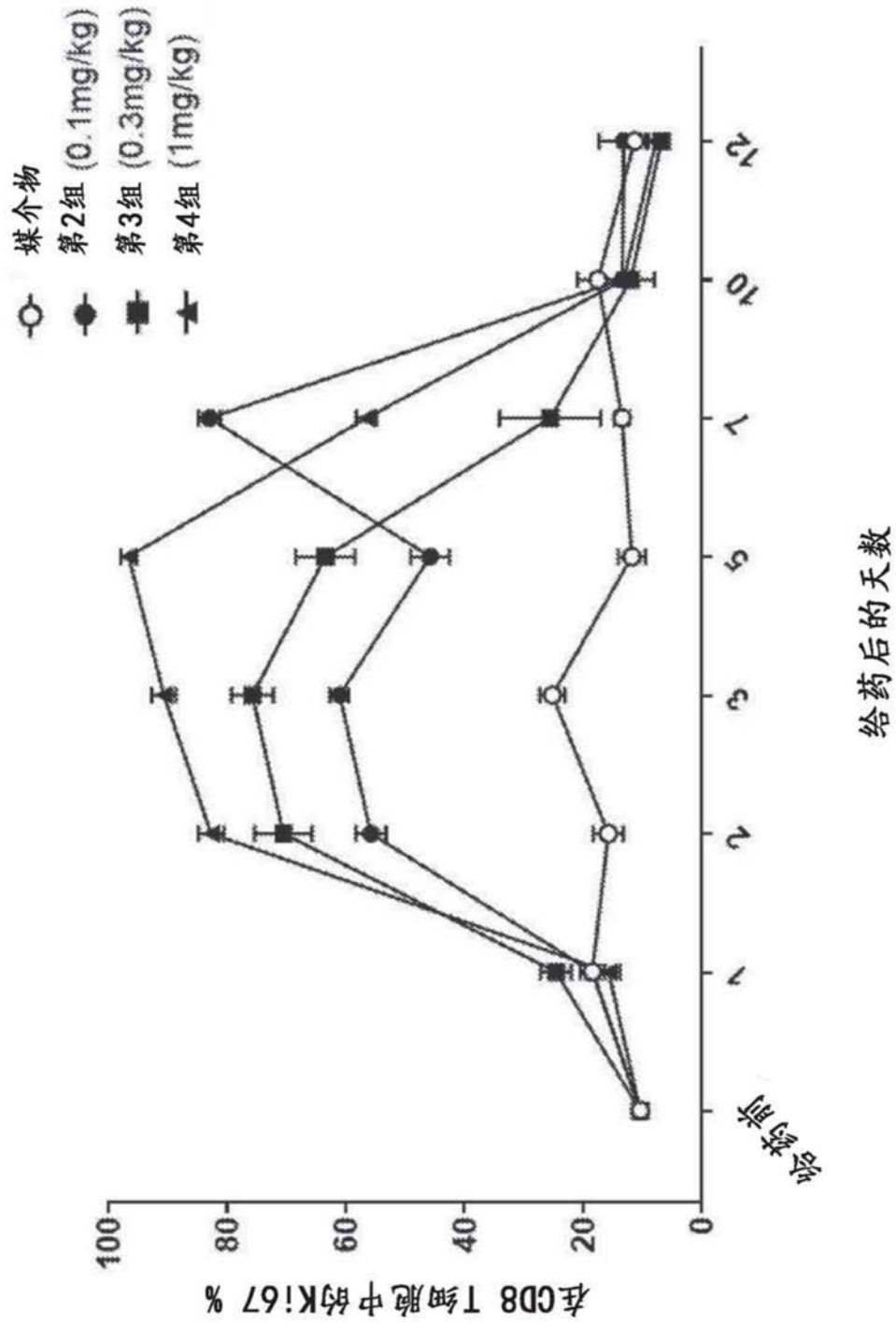


图7

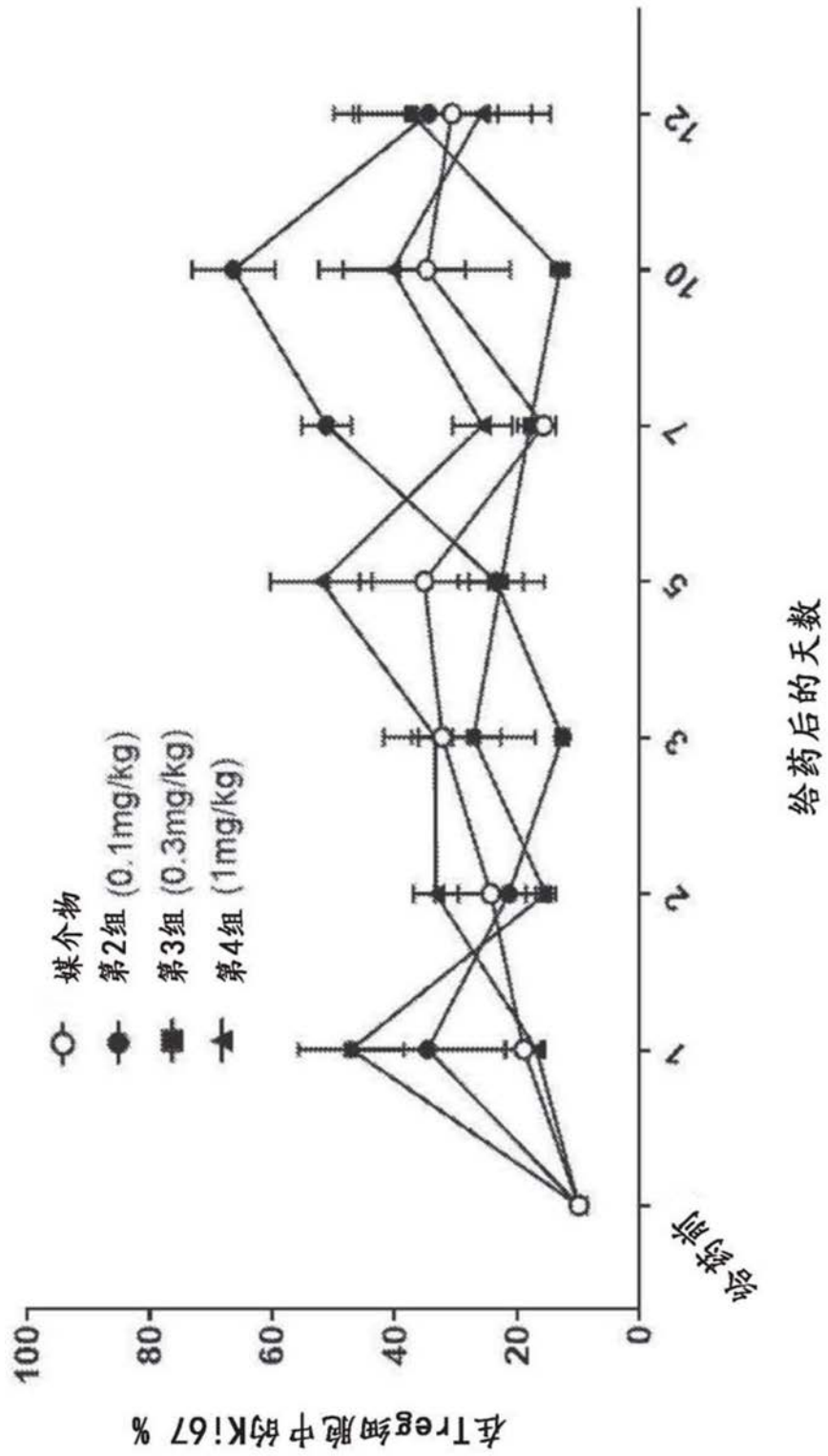


图8

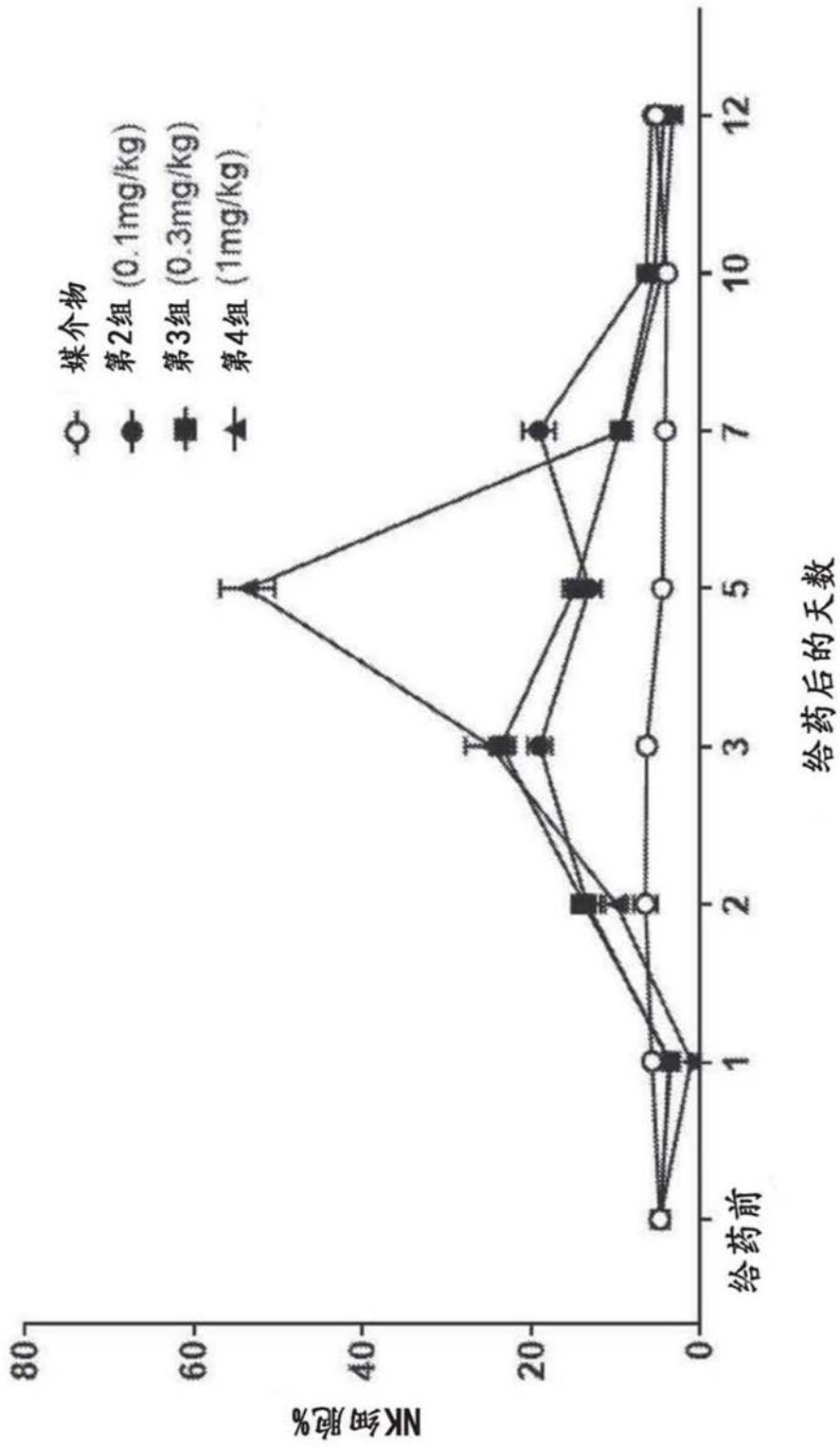


图9

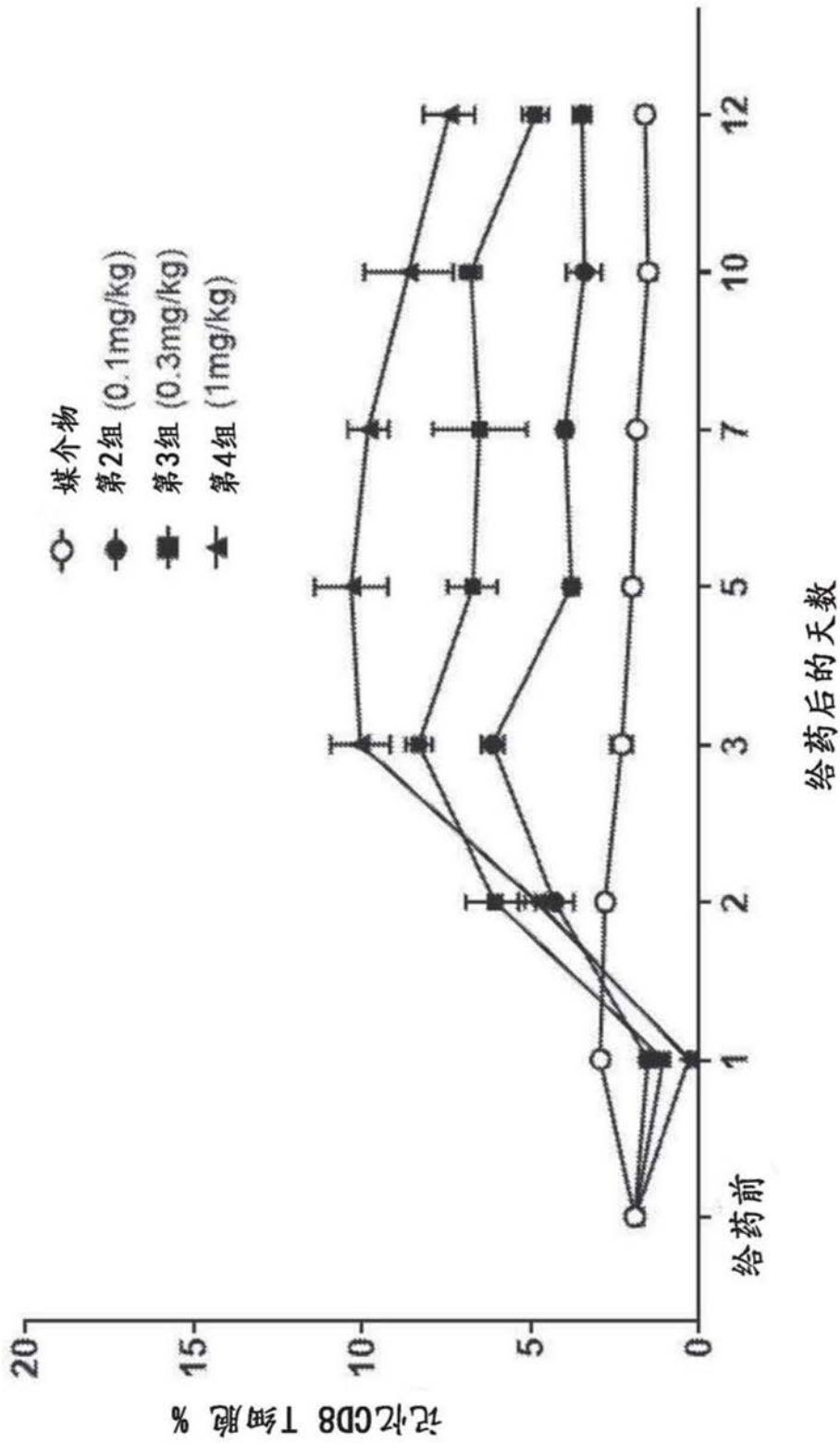


图10

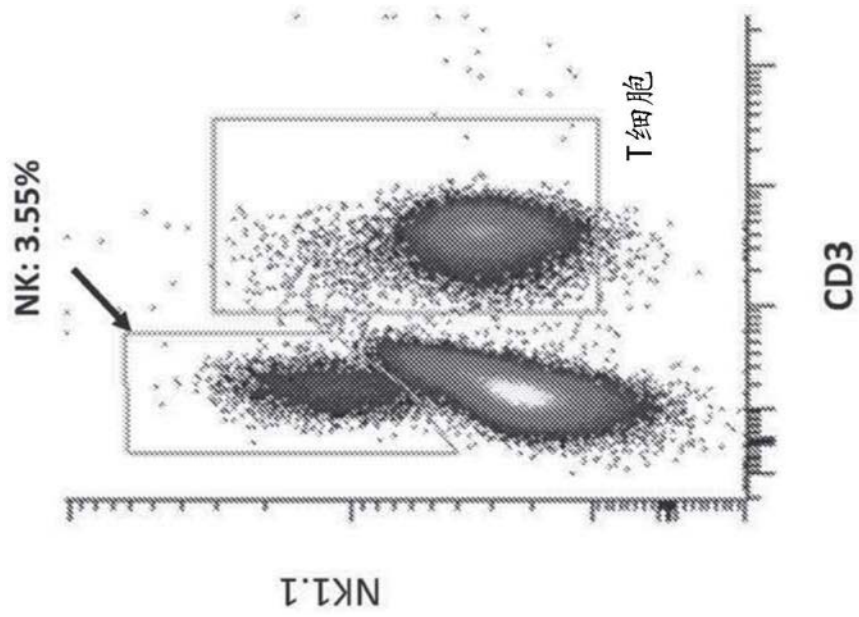


图11A

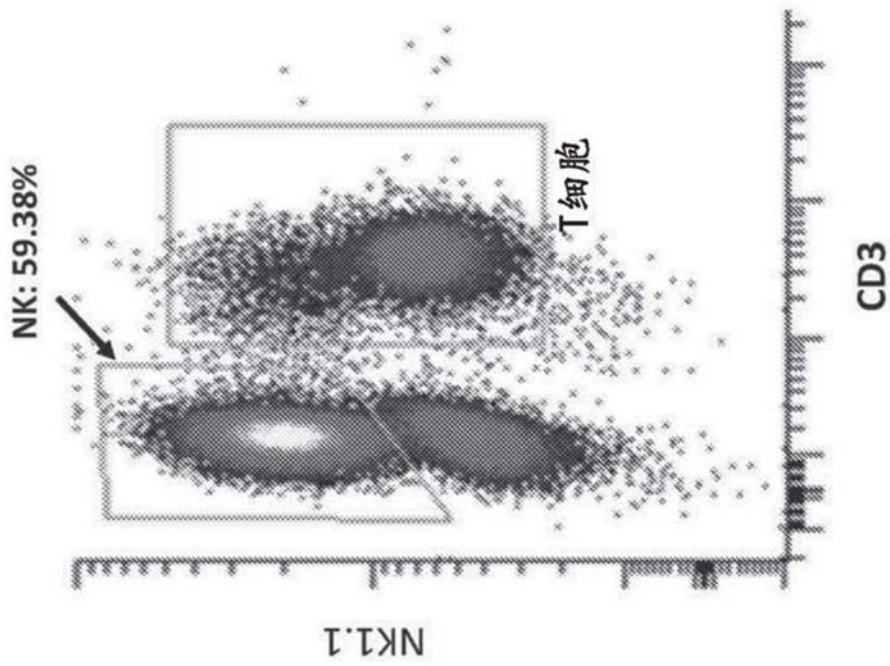


图11B

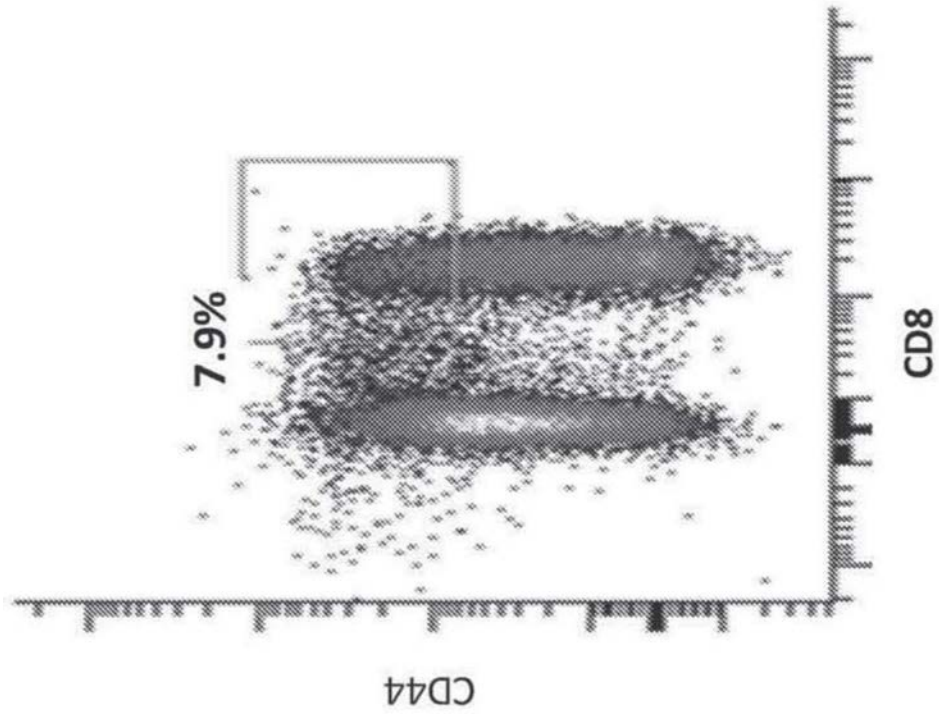


图12A

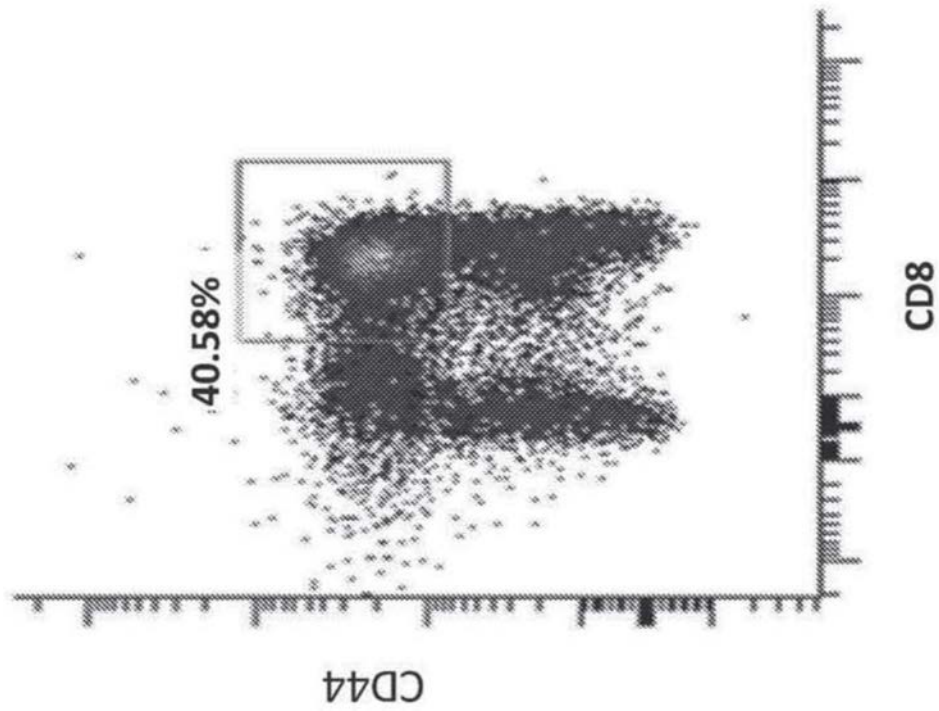


图12B