



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115397456 A

(43) 申请公布日 2022. 11. 25

(21) 申请号 202180010911.0

(22) 申请日 2021.01.28

(30) 优先权数据

62/966,976 2020.01.28 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.07.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/015552 2021.01.28

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2021/155042 EN 2021.08.05

(71) 申请人 基因泰克公司

地址 美国加利福尼亚州

申请人 XENCOR股份有限公司

(72) 发明人 A·J·P·昂格威克尔 V·希瓦

R·亚达夫

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 岑晓东

(51) Int.Cl.

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 38/20 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 14/00 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

权利要求书7页 说明书76页

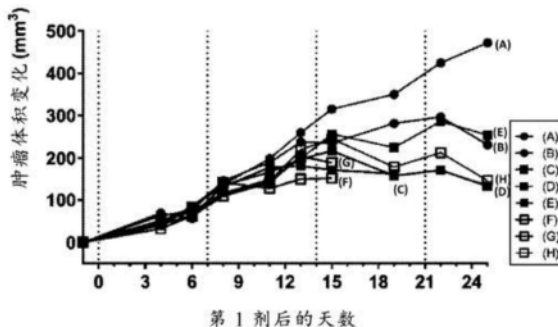
序列表51页 附图19页

(54) 发明名称

用于治疗癌症的IL15/IL15R α 异二聚体Fc融合蛋白

(57) 摘要

本公开提供了通过施用异二聚体蛋白来治疗癌症的方法,所述异二聚体蛋白包含含有IL15蛋白-Fc结构域融合的第一单体和含有IL15R α 蛋白-Fc结构域融合的第二单体。



1. 一种治疗有需要的受试者的实体瘤的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

2. 一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

3. 一种用于诱导NK细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

4. 一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞和NK细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

5. 一种用于诱导受试者的IFN  $\gamma$  产生的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q;S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D,根据EU编号。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/L234V/L235A/G236del,根据EU编号,并且其中所述Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域。

8. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自以下项组成的组的氨基酸取代:L328R;S239K;和S267K,根据EU编号,并且其中所述Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域。

9. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;和E233P/F234V/L235A/G236del,根据EU编号,并且其中所述Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N1D、N4D、D8N、D30N、D61N、E64Q、N65D和Q108E。

11. 根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白和所述IL-15R $\alpha$ 蛋白分别包含选自以下项的一组氨基酸取代或添加:E87C:65DPC;E87C:65DCA;V49C:S40C;L52C:S40C;E89C:K34C;Q48C:G38C;E53C:L42C;C42S:A37C和L45C:A37C。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含选自以下项组成的组的多肽序列:SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2。

13. 根据权利要求1至12中任一项所述的方法,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含选自以下项组成的组的多肽序列:SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4。

14. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸取代

L368D和K370S;其中所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S,根据EU编号;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

15. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;其中所述第二Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S,根据EU编号;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

16. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;其中所述第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、S364K和E357Q;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S,根据EU编号;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

17. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;其中所述第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、L368D和K370S;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S,根据EU编号;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

18. 根据权利要求1至17中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白经由第一接头共价连接至所述第一Fc结构域的N末端。

19. 根据权利要求1至18中任一项所述的方法,其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至所述第二Fc结构域的N末端。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白经由第一接头共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,并且所述IL-15 $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至所述第二Fc结构域的N末端。

21. 根据权利要求18至20中任一项所述的方法,其中所述第一接头和/或所述第二接头独立地为可变长度Gly-Ser接头。

22. 根据权利要求21所述的方法,其中所述第一接头和/或所述第二接头独立地包含选自以下项组成的组的接头:(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) $n$ (SEQ ID NO:39)、(Ser-Ser-Ser-Ser-Gly) $n$ (SEQ ID NO:40)、(Gly-Ser-Ser-Gly-Gly) $n$ (SEQ ID NO:41)和(Gly-Gly-Ser-Gly-Gly) $n$ (SEQ ID NO:42),其中 $n$ 为1与5之间的整数。

23. 根据权利要求1至22中任一项所述的方法,其中所述异二聚体蛋白选自以下项组成的组:XENP22822、XENP23504、XENP24045、XENP24306、XENP22821、XENP23343、XENP23557、XENP24113、XENP24051、XENP24341、XENP24052、XENP24301和XENP32803蛋白。

24. 一种治疗有需要的受试者的实体瘤的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-

15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

25. 一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

26. 一种用于诱导NK细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

27. 一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞和NK细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

28. 一种用于诱导受试者的IFN  $\gamma$  产生的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

29. 根据权利要求24至28中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q,根据EU编号。

30. 根据权利要求24至28中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S,根据EU编号。

31. 根据权利要求24至30中任一项所述的方法,其中所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D,根据EU编号。

32. 根据权利要求24至30中任一项所述的方法,其中所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D,根据EU编号。

33. 根据权利要求24至32中任一项所述的方法,其中所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T,根据EU编号。

34. 根据权利要求24至33中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。

35. 根据权利要求24至34中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。

36. 根据权利要求24至35中任一项所述的方法,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。

37. 根据权利要求24至36中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白经由第一接头共价连接至所述第一Fc结构域的N末端。

38. 根据权利要求24至37中任一项所述的方法,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至所述第二Fc结构域的N末端。

39. 根据权利要求24至38中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白经由第一接头共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,并且所述IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至所述第二Fc结构域的N末端。

40. 根据权利要求37至39中任一项所述的方法,其中所述第一接头和/或所述第二接头独立地为可变长度Gly-Ser接头。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中所述第一接头和/或所述第二接头独立地包含选自以下项组成的组的接头:(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) $n$ (SEQ ID NO:39)、(Ser-Ser-Ser-Ser-Gly) $n$ (SEQ ID NO:40)、(Gly-Ser-Ser-Gly-Gly) $n$ (SEQ ID NO:41)和(Gly-Gly-Ser-Gly-Gly) $n$ (SEQ ID NO:42),其中 $n$ 为1与5之间的整数。

42. 根据权利要求1至5和24至28中任一项所述的方法,其中所述第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且所述第二单体包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。

43. 根据权利要求1至5和24至28中任一项所述的方法,其中所述第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且所述第二单体包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列。

44. 根据权利要求1至5和24至28中任一项所述的方法,其中所述异二聚体蛋白为XENP24306、XENP32803或它们的组合。

45. 根据权利要求1至44中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用第一异二聚体蛋白和第二异二聚体蛋白的组合。

46. 根据权利要求45所述的方法,其中所述第一异二聚体蛋白包含:

第一单体,所述第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列;和

第二单体,所述第二单体包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列;并且所述第二异二聚

体蛋白包含:第一单体,所述第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列;和第二单体,所述第二单体包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列。

47. 根据权利要求45或46所述的方法,其中同时施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。

48. 根据权利要求45或46所述的方法,其中依次施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。

49. 根据权利要求1、6至24和29至48中任一项所述的方法,其中所述实体瘤为局部晚期、复发性或转移性的。

50. 根据权利要求1、6至24和29至48中任一项所述的方法,其中所述实体瘤选自自由以下项组成的组:鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠道癌、胃癌(gastric cancer)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、脂肪肉瘤、软组织肉瘤、尿路上皮癌、输尿管和肾盂、多发性骨髓瘤、骨肉瘤、肝细胞瘤、黑素瘤、胃部癌(stomach cancer)、乳腺癌、结肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肾细胞癌、肝癌、食道癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝细胞癌、Merkel细胞癌、生殖细胞癌、高微卫星不稳定性癌和头颈部鳞状细胞癌。

51. 根据权利要求50所述的方法,其中所述实体瘤选自黑素瘤、肾细胞癌、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌和三阴性乳腺癌。

52. 根据权利要求51所述的方法,其中所述实体瘤选自黑素瘤、肾细胞癌和非小细胞肺癌。

53. 根据权利要求51所述的方法,其中所述实体瘤选自黑素瘤、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌和三阴性乳腺癌。

54. 根据权利要求1、6至24和29至53中任一项所述的方法,其中先前未向所述受试者施用用于治疗所述实体瘤的药剂。

55. 根据权利要求1、6至24和29至53中任一项所述的方法,其中当前正在向所述受试者施用检查点抑制剂。

56. 根据权利要求1、6至24和29至53中任一项所述的方法,其中先前已经向所述受试者施用检查点抑制剂。

57. 根据权利要求55或56所述的方法,其中所述检查点抑制剂靶向PD-1。

58. 根据权利要求55或56所述的方法,其中所述检查点抑制剂靶向PD-L1。

59. 根据权利要求55或56所述的方法,其中所述检查点抑制剂靶向CTLA-4。

60. 根据权利要求1至59中任一项所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:约0.0025mg/kg、约0.005mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.025mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.08mg/kg、约0.1mg/kg、约0.12mg/kg、约0.16mg/kg、约0.2mg/kg、约0.24mg/kg和约0.32mg/kg体重。

61. 根据权利要求60所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:约0.01mg/kg、约0.02mg/kg、约0.04mg/kg和约0.06mg/kg体重。

62. 根据权利要求1至60中任一项所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施

用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:0.0025mg/kg、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.06mg/kg、0.08mg/kg、0.10mg/kg、0.16mg/kg、0.20mg/kg、0.24mg/kg和0.32mg/kg体重。

63. 根据权利要求62所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.04mg/kg和0.06mg/kg体重。

64. 根据权利要求1至63中任一项所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的频率施用所述异二聚体蛋白:Q1W、Q2W、Q3W、Q4W、Q5W和Q6W。

65. 根据权利要求64所述的方法,其中以Q2W的频率施用所述异二聚体蛋白。

66. 根据权利要求1至65中任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括向所述受试者施用靶向PD-L1/PD-1轴的药剂。

67. 根据权利要求66所述的方法,其中靶向所述PD-L1/PD-1轴的所述药剂为抗PD-1抗体。

68. 根据权利要求67所述的方法,其中所述抗PD-1抗体选自纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、西米普利单抗、斯巴达珠单抗、卡瑞利珠单抗、信迪利单抗、替雷利珠单抗、特瑞普利单抗、MDX-1106、AMP-514和AMP-224。

69. 根据权利要求68所述的方法,其中靶向所述PD-L1/PD-1轴的所述药剂为抗PD-L1抗体。

70. 根据权利要求69所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体选自阿维单抗、德瓦鲁单抗、阿特殊单抗、BMS-936559、BMS-39886、KN035、CK-301和MSB0010718C。

## 用于治疗癌症的IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体Fc融合蛋白

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年1月28日提交的美国临时专利申请第62/966,976号的优先权,该临时专利申请的内容在此以全文引用的方式并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表,该序列表已经以ASCII格式以电子方式提交并且以全文引用的方式并入本文中。所述ASCII副本创建于2021年1月28日,命名为000218-0006-W01\_SL.txt,并且大小为110,469个字节。

### 技术领域

[0005] 本公开涉及使用IL15-IL15R异二聚体Fc融合蛋白来治疗癌症的领域。

### 背景技术

[0006] 癌症为全球主要死亡原因,据估计2012年在全球范围内有1400万新增病例和800万死亡人数(Torre等人,Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.2016;25(1):16-27)。到2018年,这一趋势上升,其中增长至新增病例超过1800万,并且死亡人数超过900万(新的全球癌症数据:GLOBOCAN 2018.<https://www.uicc.org/news/new-global-cancer-data-globocan-2018>)。这些趋势表明愈发严重的危机和愈发增长的对癌症治疗有效疗法的需求。近年来,癌症免疫疗法(CIT)已发展成为一种很有前景的肿瘤学方法,并且它广泛包括检查点抑制剂、过继细胞转移、靶向抗体(T/NK细胞接合物)、癌症疫苗和细胞因子。

[0007] 细胞因子可以通过控制白细胞的增殖、分化和存活来加强免疫细胞(Berraondo等人,Br J Cancer 2019;120(1):6-15)。尽管已知细胞因子的生物学及该细胞因子在免疫系统和癌症生物学中的作用,但仅有有限数量的细胞因子已被批准用于在选择适应症中的癌症治疗,该细胞因子包括IFN $\alpha$ (例如,毛细胞白血病和慢性骨髓性白血病等)和IL-2(例如,晚期黑素瘤和转移性RCC)。这部分地与这些细胞因子的耐受性差、治疗指数窄和PK行为差有关(Berraondo等人,2019,同上)。

[0008] 例如,重组IL-2,也称为阿地白介素(Proleukin<sup>®</sup>),作为CIT药剂已在临床上使用了超过二十年。尽管Proleukin<sup>®</sup>作为一种抗肿瘤药剂已被证明具有临床益处,但它仍可诱导主要毒性,例如毛细血管渗漏综合征(CLS),并且接受Proleukin的患者需要在住院环境中进行广泛的监测。IL-2为作用于细胞(诸如分化簇4阳性(CD4<sup>+</sup>)调节性T细胞(Treg)、内皮细胞和活化性T细胞)的经分泌的细胞因子,它们与CD122和CD132在高亲和力三聚体受体复合物中一起表达IL-2R $\alpha$ (CD25)。还已知IL-2诱导活化诱导的细胞死亡(AICD)。Treg功能的增加和AICD的诱导为预期随时间推移而降低抗肿瘤免疫的两个过程。

[0009] 白介素(IL)-15与其他常见的 $\gamma$ 链(CD132)细胞因子(诸如IL-2、IL-4、IL-7、IL-9和IL-21)一样,在调节免疫应答中起到重要作用。除了常见的 $\gamma$ 链,IL-15和IL-2也在其异源三聚体受体复合物中共享 $\beta$ 亚基(CD122),并且具有重叠的生物学效应。然而,IL-15和IL-2具有用于下游信号传导的独特 $\alpha$ 受体亚基。已知IL-15和IL-2在癌症免疫中起到重要作用,

并且其示出通过诱导自然杀伤(NK)细胞和分化簇8阳性(CD8<sup>+</sup>)T细胞的增殖和活化来加强免疫系统。

[0010] 在IL-15R $\alpha$  (CD215)的上下文中,IL-15由单核细胞和树突状细胞反式呈递给主要表达CD122和CD132(中等亲和力的异二聚体受体复合物)的其他细胞,诸如NK细胞和记忆CD8<sup>+</sup> T细胞。因此,当IL-15/IL-15R $\alpha$ 在NK和T细胞上与CD122和CD132结合时,它通过诱导CD8<sup>+</sup> T细胞增殖和记忆CD8<sup>+</sup> T细胞的维持,来导致增强的持久T细胞应答以及增强的NK细胞增殖和细胞毒性。重要的是,IL-15/IL-15R $\alpha$ 对表达CD25的Treg的生物学效应最小,并且IL-15/IL-15R $\alpha$ 被认为与IL-2相关联相比,会导致血管渗漏更少,并且不知道会诱导AICD。

[0011] 因此,与IL-2相比,IL-15作为CIT药剂具有潜在优点。在过去的十年中,若干基于IL-2和IL-15的治疗剂已经在旨在改善临床益处并降低毒性的各种临床试验中进行了测试,诸如重组人IL-15(rhIL-15)和工程化IL-15/IL-15R $\alpha$ -Fc超激动剂(ALT-803)。然而,迄今为止,药代动力学(PK)暴露量、药效学(PD)应答或急性毒性已经限制了它们的临床影响。例如,rhIL-15或rhIL-15/rhIL-15R $\alpha$ 复合物的IV推注施用由于高靶标介导的药物处置(TMDD)和快速肾清除率(CL)(由于约60kDa的小分子尺寸)而导致低PK暴露量;并且需要频繁给药。此外,IV推注施用受到急性毒性(包括CLS和低血压)的限制。与IV推注施用相关联的PK和安全限制导致探索替代性施用途径(诸如皮下(SC)注射或连续IV输注),以改善耐受性和PD作用。虽然这些方法中的一些方法改善了PD应答(即NK和CD8<sup>+</sup> T细胞的扩展)和耐受性,但rhIL-15和ALT-803的SC施用与频繁的注射部位反应相关联,并且对于每个治疗周期,需要在若干天内频繁给药(SC)或连续输注。IL-15通路激动剂的可用临床数据为开发具有经优化的PK曲线和经改善的治疗指数的IL-15治疗剂提供了基本原理。

[0012] 因此,仍然需要一种CIT药剂,特别是需要IL-15通路激动剂。

## 发明内容

[0013] 在第一方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中的实体瘤的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

[0014] 在第二方面,本公开提供了一种用于诱导受试者中CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二

Fc结构域包含选自由以下项组成的组的一组氨基酸取代：S267K/L368D/K370S；S267K/S364K/E357Q；S364K/E357Q；L368D/K370S；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；S364K；T411E/K360E/Q362E；D401K；L368D/K370S；S364K/E357L；K370S；S364K/E357Q；S267K/S364K/E357Q；S267K/L368D/K370S；L368D/K370S；S364K/E357Q；S364K；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；D401K；T411E/K360E/Q362E；S364K/E357L；L368D/K370S；和S364K/E357Q；K370S，根据EU编号。

[0015] 在第三方面，本公开提供了用于诱导受试者中NK细胞增殖的方法，该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白，其中异二聚体蛋白包含 (i) 第一单体，该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域，其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端，和(ii) 第二单体，该第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域，其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端；其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下项组成的组的一组氨基酸取代：S267K/L368D/K370S；S267K/S364K/E357Q；S364K/E357Q；L368D/K370S；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；S364K；T411E/K360E/Q362E；D401K；L368D/K370S；S364K/E357L；K370S；S364K/E357Q；S267K/S364K/E357Q；S267K/L368D/K370S；L368D/K370S；S364K/E357Q；S364K；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；D401K；T411E/K360E/Q362E；S364K/E357L；L368D/K370S；和S364K/E357Q；K370S，根据EU编号。

[0016] 在第四方面，本公开提供了用于诱导受试者中CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞和NK细胞增殖的方法，该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白，其中异二聚体蛋白包含 (i) 第一单体，该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域，其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端，和(ii) 第二单体，该第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域，其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端；其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下项组成的组的一组氨基酸取代：S267K/L368D/K370S；S267K/S364K/E357Q；S364K/E357Q；L368D/K370S；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；S364K；T411E/K360E/Q362E；D401K；L368D/K370S；S364K/E357L；K370S；S364K/E357Q；S267K/S364K/E357Q；S267K/L368D/K370S；L368D/K370S；S364K/E357Q；S364K；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；S364K；L368E/K370S；D401K；T411E/K360E/Q362E；S364K/E357L；L368D/K370S；和S364K/E357Q；K370S，根据EU编号。

[0017] 在第五方面，本公开提供了用于诱导受试者中IFN $\gamma$ 产生的方法，该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白，其中异二聚体蛋白包含 (i) 第一单体，该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域，其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端，和(ii) 第二单体，该第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域，其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端；其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下项组成的组的一组氨基酸取代：S267K/L368D/K370S；S267K/S364K/E357Q；S364K/E357Q；L368D/K370S；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；S364K；T411E/K360E/Q362E；D401K；L368D/K370S；S364K/E357L；K370S；S364K/E357Q；S267K/S364K/E357Q；S267K/L368D/K370S；L368D/K370S；S364K/E357Q；S364K；L368D/K370S；S364K；L368E/K370S；D401K；T411E/K360E/Q362E；S364K/E357L；L368D/K370S；和S364K/E357Q；K370S，根据EU编号。

[0018] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。

[0019] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/L234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自以下项组成的组的氨基酸取代:L328R;S239K;和S267K,并且其中Fc结构域衍生自IgG2Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;和E233P/F234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域。

[0020] 在一些实施例中,IL-15蛋白包含选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N1D、N4D、D8N、D30N、D61N、E64Q、N65D和Q108E。

[0021] 在一些实施例中,IL-15蛋白和IL-15R $\alpha$ 蛋白分别包含选自以下项的一组氨基酸取代或添加:E87C:65DPC;E87C:65DCA;V49C:S40C;L52C:S40C;E89C:K34C;Q48C:G38C;E53C:L42C;C42S:A37C和L45C:A37C。

[0022] 在一些实施例中,IL-15蛋白包含选自以下项组成的组的多肽序列:SEQ ID NO:2(全长人IL-15)和SEQ ID NO:1(截短的人IL-15)。在一些实施例中,所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含选自以下项组成的组的多肽序列:SEQ ID NO:3(全长人IL-15R $\alpha$ )和SEQ ID NO:4(人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域)。

[0023] 在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;第二Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0024] 在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;第二Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0025] 在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、S364K和E357Q;根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0026] 在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、L368D和K370S;根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0027] 在一些实施例中,IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端。在一些实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。在一些实施例中,IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端,并且IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。

[0028] 在一些实施例中,第一接头和/或第二接头独立地为可变长度Gly-Ser接头。在一些实施例中,第一接头和/或第二接头独立地包含选自由以下项组成的组的接头:(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) $n$ (SEQ ID NO:39)、(Ser-Ser-Ser-Ser-Gly) $n$ (SEQ ID NO:40)、(Gly-Ser-Ser-Ser-Gly-Gly) $n$ (SEQ ID NO:41)和(Gly-Gly-Ser-Gly-Gly) $n$ (SEQ ID NO:42),其中 $n$ 为1与5之间的整数。

[0029] 在一些实施例中,异二聚体蛋白选自由以下项组成的组:XENP22822、XENP23504、XENP24045、XENP24306、XENP22821、XENP23343、XENP23557、XENP24113、XENP24051、XENP24341、XENP24052、XENP24301和XENP32803蛋白。在一些实施例中,异二聚体蛋白为XENP24306。在一些实施例中,异二聚体蛋白为XENP32803。在一些实施例中,异二聚体蛋白为XENP24306和XENP32803的组合。

[0030] 在第六方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中的实体瘤的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N和E64Q。

[0031] 在第七方面,本公开提供了一种用于诱导受试者中CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N和E64Q。

[0032] 在第八方面,本公开提供了一种用于诱导受试者中NK细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N和E64Q。

[0033] 在第九方面,本公开提供了用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞和NK细胞增殖的方法,

该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N和E64Q。

[0034] 在第十方面,本公开提供了一种用于诱导受试者中IFN $\gamma$ 产生的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N和E64Q。

[0035] 在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q。

[0036] 在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S。

[0037] 在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。

[0038] 在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。

[0039] 在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。

[0040] 在一些实施例中,IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。

[0041] 在一些实施例中,IL-15蛋白包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。

[0042] 在一些实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。

[0043] 在一些实施例中,第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。

[0044] 在一些实施例中,第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列。

[0045] 在一些实施例中,IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端。

[0046] 在一些实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。在一些实施例中,IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端,并且IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。

[0047] 在一些实施例中,第一接头和/或第二接头独立地为可变长度Gly-Ser接头。在一些实施例中,第一接头和/或第二接头独立地包含选自以下项组成的组的接头:(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) $n$ (SEQ ID NO:39)、(Ser-Ser-Ser-Ser-Gly) $n$ (SEQ ID NO:40)、(Gly-

Ser-Ser-Gly-Gly)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:41)和(Gly-Gly-Ser-Gly-Gly)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:42),其中n为1与5之间的整数。

[0048] 在本文所公开的方法的一些实施例中,第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,异二聚体蛋白为XENP24306。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,异二聚体蛋白为XENP32803。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,使用XENP24306和XENP32803的组合。

[0049] 在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的介于约50%至约100%、约70%至约95%、约80%至约90%或约80%至约85%之间。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的介于约1%至约50%、约5%至约30%、约10%至约20%或约15%至约20%之间。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约85%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约15%。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约84%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约16%。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约83%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约17%。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约82%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约18%。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约81%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约19%。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约80%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约20%。

[0050] 在本文所公开的任何方法的一些实施例中,向受试者施用两种或更多种异二聚体蛋白的组合。在一些实施例中,向受试者施用第一异二聚体蛋白和第二异二聚体蛋白的组合。

[0051] 在一些实施例中,第一异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的第二单体;并且第二异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的第二单体。

[0052] 在一些实施例中,同时施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。在一些实施例中,依次施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。在一些实施例中,在相同组合物中施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。在一些实施例中,在分离的组合物中施用第一异二聚体蛋白和第二异二聚体蛋白。

[0053] 在一些实施例中,待通过本文所公开的任何方法治疗的实体瘤为局部晚期的、复发性的或转移性的。在一些实施例中,所述实体瘤选自以下项组成的组:鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠道癌、胃癌(gastric cancer)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、脂肪肉瘤、软组织肉瘤、尿路上皮癌、输尿管和肾盂、多发性骨髓瘤、骨肉瘤、肝细胞瘤、黑素瘤、胃部癌(stomach cancer)、乳腺癌、结肠

癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肾细胞癌、肝癌、食道癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝细胞癌、Merkel细胞癌、生殖细胞癌、高微卫星不稳定性癌和头颈部鳞状细胞癌。在一些实施例中，所述实体瘤选自黑素瘤、肾细胞癌、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌和三阴性乳腺癌。在一些实施例中，所述实体瘤选自黑素瘤、肾细胞癌和非小细胞肺癌。在一些实施例中，所述实体瘤选自黑素瘤、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌和三阴性乳腺癌。

[0054] 在一些实施例中，先前未向受试者施用用于治疗该病症的药剂。在一些实施例中，当前正在向受试者施用检查点抑制剂。在一些实施例中，先前已经向受试者施用检查点抑制剂。在一些实施例中，检查点抑制剂靶向PD-1。在一些实施例中，检查点抑制剂靶向PD-L1。在一些实施例中，检查点抑制剂靶向CTLA-4。

[0055] 在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白：约0.0025mg/kg、约0.005mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.025mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.08mg/kg、约0.10mg/kg、约0.12mg/kg、约0.16mg/kg、约0.20mg/kg、约0.24mg/kg和约0.32mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白：约0.01mg/kg、约0.02mg/kg、约0.04mg/kg、约0.06mg/kg、约0.09mg/kg、约0.135mg/kg和约0.2025mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的频率施用异二聚体蛋白：Q1W、Q2W、Q3W、Q4W、Q5W和Q6W。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白：0.0025mg/kg、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.06mg/kg、0.08mg/kg、0.10mg/kg、0.16mg/kg、0.20mg/kg、0.24mg/kg和0.32mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白：0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.04mg/kg、0.06mg/kg、0.09mg/kg、0.135mg/kg和0.2025mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的频率施用异二聚体蛋白：Q1W、Q2W、Q3W、Q4W、Q5W和Q6W。

[0056] 在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白的组合（例如XENP24306+XENP32803）：约0.0025mg/kg、约0.005mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.025mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.08mg/kg、约0.10mg/kg、约0.12mg/kg、约0.16mg/kg、约0.20mg/kg、约0.24mg/kg和约0.32mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白的组合（例如XENP24306+XENP32803）：约0.01mg/kg、约0.02mg/kg、约0.04mg/kg、约0.06mg/kg、约0.09mg/kg、约0.135mg/kg和约0.2025mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的频率施用异二聚体蛋白的组合：Q1W、Q2W、Q3W、Q4W、Q5W和Q6W。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白的组合（例如XENP24306+XENP32803）：0.0025mg/kg、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.06mg/kg、0.08mg/kg、0.10mg/kg、0.16mg/kg、0.20mg/kg、0.24mg/kg和0.32mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的剂量施用异二聚体蛋白的组合（例如XENP24306+XENP32803）：0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.04mg/kg、0.06mg/kg、0.09mg/kg、0.135mg/kg和0.2025mg/kg体重。在一些实施例中，以选自由以下项组成的组的频率施用异二聚体蛋白的组合：Q1W、Q2W、Q3W、Q4W、Q5W和Q6W。

[0057] 在一些实施例中，本文所公开的方法进一步包括向受试者施用靶向PD-L1/PD-1轴

的药剂。在一些实施例中，靶向PD-L1/PD-1轴的所述药剂为抗PD-1抗体。在一些实施例中，抗PD-1抗体选自纳武单抗、派姆单抗、皮地珠单抗、西米普利单抗、斯巴达珠单抗、卡瑞利珠单抗、信迪利单抗、替雷利珠单抗、特瑞普利单抗、MDX-1106、AMP-514和AMP-224。在一些实施例中，靶向PD-L1/PD-1轴的所述药剂为抗PD-L1抗体。在一些实施例中，抗PD-L1抗体选自阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗、阿特殊单抗、BMS-936559、BMS-39886、KN035、CK-301和MSB0010718C。

[0058] 鉴于作为整体的公开内容，这些和其他方面对技术人员来说将是显而易见的。

### 附图说明

[0059] 图1A和1B示出XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合在人PBMC中促进了人NK细胞(图1A)和CD8<sup>+</sup> T细胞(图1B)的剂量依赖性增殖。用所指示的总浓度的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合来处理来自22位独特的人类供体的PBMC 4天，并且针对CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>NK细胞(图1A)或CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> T细胞(图1B)，通过流式细胞术来确定Ki67<sup>+</sup>(细胞增殖的标志物)频率。每个点代表22位供体的平均值，并且误差条代表SEM。使用最小二乘法来生成曲线拟合。EC<sub>50</sub>值通过使用激动剂的非线性回归分析与使用可变斜率(四参数)方程的应答来进行确定。[CD=分化簇；NK=自然杀伤；PBMC=外周血单核细胞]。

[0060] 图2示出了由人PBMC中的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合、重组野生型IL-15 (rIL15) 和野生型IL-15/野生型IL-15R $\alpha$ 异源二聚体Fc融合(XENP22853)诱导的CD8<sup>+</sup>末端效应T细胞增殖的比较。[EC<sub>50</sub>=半最大有效浓度]。

[0061] 图3A至图3D示出了代表食蟹猴的全血中的CD8<sup>+</sup> T细胞(图3A(雄性)和图3B(雌性))和NK细胞(图3C(雄性)和图3D(雌性))绝对计数的图，该食蟹猴用重复剂量的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合和不同剂量(0;0.03mg/kg;0.2mg/kg和0.6mg/kg)进行处理。来自食蟹猴的全血用抗体染色以将CD8<sup>+</sup> T细胞识别为CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD16<sup>-</sup>并且将NK细胞识别为CD45<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>。每个数据点代表每组3只至5只食蟹猴的平均值；误差条表示SD。

[0062] 图4为代表在异二聚体蛋白Q2W静脉内给药(剂量为0.03mg/kg;0.2mg/kg和0.6mg/kg)，共3剂后，食蟹猴(雄性和雌性组合)中平均( $\pm$ SD)异二聚体蛋白(XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合的血清浓度(ng/mL)与时间(天)曲线的图。

[0063] 图5为代表在移植有人PBMC的非肥胖型糖尿病/严重联合免疫缺陷 $\gamma$  (NSG)小鼠中的体重减轻的图，其中在存在或不存在3mg/kg的XENP16432(抗PD1二价抗体)的情况下，以各种浓度施用XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合。样品：(A) PBS；(B) 3.0mg/kg XENP16432；(C) 0.3mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合；(D) 0.1mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合；(E) 0.03mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合；(F) 0.01mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合；(G) 0.3mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合+3.0mg/kg的XENP16432；(H) 0.1mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合+3.0mg/kg的XENP16432；(I) 0.03mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合+3.0mg/kg的XENP16432；以及(J) 0.01mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合+3.0mg/kg的XENP16432。

[0064] 图6为代表在移植有人肿瘤细胞 (pp65-MCF7) 和作为人白细胞来源的huPBMC的非肥胖型糖尿病/严重联合免疫缺陷  $\gamma$  (NSG) 小鼠中的肿瘤体积变化的组中值的图,其中在存在或不存在3mg/kg的XENP16432的情况下,以各种浓度施用XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合。样品: (A) PBS; (B) 3.0mg/kg XENP16432; (C) 1.0mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合; (D) 0.3mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合; (E) 0.1mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合; (F) 1.0mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合+3.0mg/kg的XENP16432; (G) 0.3mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合+3.0mg/kg的XENP16432;以及 (H) 0.1mg/kg的XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合+3.0mg/kg的XENP16432。

[0065] 图7为用于IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白 (例如XENP24306、XENP32803或XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合) 的单一疗法研究方案,该方案示出了在两个阶段:剂量递增阶段和扩展阶段入组的患者,以及关于这两个阶段的详细信息。DL=剂量水平;DLT=剂量限制性毒性;MTD=最大耐受剂量;PD=药效学;Q2W=每2周;Q3W=每3周;Q4W=每4周;RCC=肾细胞癌;RED=推荐的扩展剂量。<sup>a</sup> PD作用通过外周血NK细胞和CD8<sup>+</sup> T细胞的枚举和Ki67染色来进行评估。<sup>b</sup>在实例6中定义从n=1/剂量水平变为3+3+3设计的安全阈值。<sup>c</sup>在实例6中定义从 $\leq 100\%$ 剂量增量变为 $\leq 50\%$ 剂量增量的安全阈值。<sup>d</sup>如果累积毒性导致不可接受的耐受性 (例如,IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白的频繁给药延迟),则IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白给药频率可能降低。

[0066] 图8为用于IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白 (例如,与阿特殊单抗 (抗PD-L1抗体) 组合的XENP24306、XENP32803或XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) 的组合) 的组合疗法研究方案,该方案示出了在两个阶段:剂量递增阶段和扩展阶段入组的患者,以及关于这两个阶段的详细信息。Bx=活检;CIT=癌症免疫疗法;cSCC=皮肤鳞状细胞癌;DL=剂量水平;DLT=剂量限制性毒性;GC=胃癌;HNSCC=头颈部鳞状细胞癌;MCC=Merkel细胞癌;MSI-H=高微卫星不稳定性;MTD=最大耐受剂量;NSCLC=非小细胞肺癌;PD=药效学;Q2W=每2周;Q3W=每3周;Q4W=每4周;RCC=肾细胞癌;RED=推荐的扩展剂量;SCLC=小细胞肺癌;TBD=待确定;TNBC=三阴性乳腺癌;UCC=尿路上皮癌。<sup>a</sup>在实例6中定义从 $\leq 100\%$ 剂量增加增量切换至 $\leq 50\%$ 的安全阈值。<sup>b</sup>在初始单一疗法IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白剂量水平0.01mg/kg证明PD活性的情况下,IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白起始剂量在初始组合疗法阿特殊单抗组合群组中将不高于0.005mg/kg。<sup>c</sup>如果累积毒性导致不可接受的耐受性 (例如,IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白的频繁给药延迟),则IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白/阿特殊单抗给药频率可能降低。<sup>d</sup>在实例6中定义告知初始IL15/IL15 $\alpha$ 异二聚体蛋白剂量水平的PD作用。<sup>e</sup>患者必须已经接受过作为单一药剂或组合进行施用的先前的抗PD-L1/PD-1抑制剂,并且从既往治疗中获得临床益处。<sup>f</sup>适应症包括黑素瘤、NSCLC、HNSCC、TNBC、UCC、RCC、SCLC、GC、MCC、cSCC、MSI-H癌症。<sup>g</sup>将招募患有黑素瘤、RCC、UCC、NSCLC、HNSCC和TNBC的患者。<sup>h</sup> PD-L1阈值可能因适应症而异并且将被确定。

[0067] 图9提供了XENP24306单体1 (SEQ ID NO:9)、XENP24306单体2 (SEQ ID NO:10)、XENP32803单体1 (SEQ ID NO:9) 和XENP32803单体2 (SEQ ID NO:16) 的氨基酸序列。在单体1序列中,IL15部分带有下划线,接头用斜线偏移并加粗并带有下划线,并且Fc部分跟在第二

斜线之后且不包含任何格式。在单体2序列中,IL15R $\alpha$ 部分带有下划线,接头用斜线偏移并加粗并带有下划线,并且Fc部分跟在第二斜线之后且不包含任何格式。

[0068] 图10A和图10B提供了人IL-15前体蛋白(全长人IL-15)(SEQ ID NO:2)、成熟的或截短的人IL-15蛋白(SEQ ID NO:1)、全长人IL-15R $\alpha$ 蛋白(SEQ ID NO:3)的氨基酸序列、人IL-15R $\alpha$ 蛋白的细胞外结构域(SEQ ID NO:54)、人IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域(SEQ ID NO:4)、全长人IL-15R $\beta$ 蛋白(SEQ ID NO:55)和人IL-15R $\beta$ 蛋白的细胞外结构域(SEQ ID NO:56)。

[0069] 图11A至图11G提供了XENP2853野生型IL-15-Fc第一单体(SEQ ID NO:11)、XENP2822蛋白(SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20)、XENP23504蛋白(SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30)、XENP24045蛋白(SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24)、XENP22821蛋白(SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18)、XENP23343蛋白(SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32)、XENP23557蛋白(SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22)、XENP24113蛋白(SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34)、XENP24051蛋白(SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26)、XENP24341蛋白(SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36)、XENP24052蛋白(SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28)和XENP24301蛋白(SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38)的氨基酸序列。

## 具体实施方式

[0070] 常规

[0071] 除非另有说明,否则本文所公开的方法的实施以及组合物的制备和用途采用分子生物学、生物化学、染色质结构和分析、计算化学、细胞培养、重组DNA和本领域技术范围内的相关领域中的常规技术。文献中对这些技术进行了充分的阐述。参见,例如,Sambrook等人MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL,第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,1989和第三版,2001;Ausubel等人,CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley&Sons,New York,1987以及定期更新;METHODS IN ENZYMOLOGY系列,Academic Press,San Diego;Wolffe,CHROMATIN STRUCTURE AND FUNCTION,第三版,Academic Press,San Diego,1998;METHODS IN ENZYMOLOGY,第304卷,“Chromatin”(P.M.Wassarman和A.P.Wolffe编辑),Academic Press,San Diego,1999;和METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY,第119卷,“Chromatin Protocols”(P.B.Becker编辑)Humana Press,Totowa,1999。

[0072] 术语“本文”意指整个申请。

[0073] 应当理解,本文所述的任何实施例,包括在本公开的不同方面和说明书的不同部分所述的实施例(包括仅在实例中描述的实施例),可以与本文所公开的一个或多个其他实施例组合,除非明确说明否认或不当。实施例的组合不限于经由多个从属权利要求来要求保护的这些特定组合。

[0074] 在本申请中提及的任何出版物、专利和公开的专利申请均以引用方式具体地并入本文。如有歧义,以本说明书(包括其具体定义)为准。

[0075] 在整个说明书中,词语“包括(comprise)”或变体诸如“包括(comprises)”和“包括(comprising)”应理解为暗示包括所陈述的整数(或组分)或者整数(或组分)组,但不排除任何其他整数(或组分)或者整数(或组分)组。

[0076] 在整个说明书中,在组合物被描述为具有、包括或包含(或其变体)特定组分的情况下,预期组合物也可以基本上由所述组分组成或由所述组分组成。类似地,在方法或过程被描述为具有、包括或包含特定过程步骤的情况下,该过程也可以基本上由所述处理步骤组成或由所述处理步骤组成。此外,应该理解,步骤的顺序或执行某些动作的顺序并不重要,只要本文所述的组合物和方法保持可操作。此外,可以同时进行两个或更多个步骤或动作。

[0077] 术语“包括”用于意指“包括但不限于”。“包括”和“包括但不限于”可以互换使用。

[0078] 术语“例如(e.g./for example)”后面的任何示例并不意指穷举性的或限制性的。

[0079] 本文所用的冠词“一”、“一个”和“该”可以指该冠词的语法对象中的一个或多个(即,至少一个)。以举例方式,“一个元素”意指一个元素或多于一个元素。

[0080] 如本文所用,在本公开的方法中采用的组合物中修饰成分、参数、计算或测量的量的术语“约”是指例如通过典型测量以及用于在现实世界中制备分离的多肽或药物组合物的液体处理程序;通过这些程序中的疏忽错误;通过用于制备组合物或执行该方法的成分的制备、来源或纯度的差异等而可能发生的数值变化,而对本公开的组合物或方法的化学或物理属性没有实质性影响。此类变化可以在给定的值或范围的一个数量级内,通常在10%内,更通常在5%内。术语“约”还涵盖由于特定初始混合物产生的组合物的不同平衡条件而不同的量。无论是否由术语“约”修饰,该段落均包括该数量的等效物。在本文中提及“约”值或参数包括(且描述)涉及该值或参数本身的实施例。例如,涉及“约X”的描述包括“X”的描述,数字范围包括定义范围的数字。

[0081] 如本文所用,术语“或”应理解为意指“和/或”,除非上下文另有明确说明。

[0082] 尽管阐述本公开的广泛范围的数值范围和参数为近似值,但在具体示例中阐述的数值要尽可能精确地报告。然而,任何数值均固有地包含某些误差,该误差必然会由于在它们各自的测试测量中发现的标准偏差而导致。此外,本文公开的所有范围应理解为涵盖其中所包含的任何和所有子范围。例如,“1至10”的所述范围应被认为包括最小值1与最大值10之间(并且包括)的任何和所有子范围;即,所有子范围均以1或更大的最小值开始,例如1至6.1,并且以10或更小的最大值结束,例如5.5至10。范围的公开也应被视为该范围的端点的公开。

[0083] 本文描述了示例性方法和材料,尽管与本文描述的那些方法或材料类似或等同的方法和材料也可以用于本申请的实践或测试中。材料、方法和示例仅是说明性的,而不旨在限制。

[0084] 定义

[0085] 除非另有说明,否则以下术语应理解为具有以下含义:

[0086] 如本文所用,术语“消融”是指活性的降低或去除。因此,例如,“消融Fc $\gamma$ R结合”意指与不含特定变体的Fc区相比,Fc区氨基酸变体具有小于50%的起始结合,其中优选小于70%、小于80%、小于90%、小于95%或小于98%的活性损失,并且一般而言,其中活性低于BIACORE<sup>®</sup>测定(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.)中的可检测结合水平。除非另有说明,本文所述的Fc结构域保留与FcRn受体的结合。

[0087] 向受试者“施用(Administering/administration of)”物质、化合物或药剂是指该物质、化合物或药剂与受试者或受试者的细胞、组织、器官或体液接触。可以使用本领域

技术人员已知的多种方法中的一种方法来执行此类施用。例如,化合物或药剂可以舌下或鼻内、通过吸入肺或直肠施用。也可以例如一次、多次和/或在一个或多个延长的时间段内执行施用。在一些实施例中,施用包括直接施用(包括自我施用)和间接施用(包括开具药物处方的行为)两者。例如,如本文所用,指导患者自行施用药物或由他人施用药物和/或向患者提供药物处方的医师正在向患者施用药物。

[0088] 如本文所用,术语分子的“亲和力”是指分子与结合配偶体(诸如受体、配体或抗原)之间相互作用的强度。分子对其结合配偶体的亲和力通常表达为特定相互作用的结合亲和力平衡解离常数(KD),其中KD越低,亲和力越高。KD结合亲和常数可以通过表面等离子体共振,例如使用**BIACORE**<sup>®</sup>系统(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.)来进行测量。还参见Jonsson等人,Ann.Biol.Clin.51:19 26(1993); Jonsson等人,Biotechniques 11:620 627(1991);Jonsson等人,J.Mol.Recognit.8:125 131(1995);Johnsson等人,Anal.Biochem.198:268 277(1991);Hearty S等人,Methods Mol Biol.907:411-42(2012),其中每一篇文献均以引用方式并入本文。KD也可以使用**KinExA**<sup>®</sup>系统(Sapidyne Instruments,Hanover,Germany and Boise,ID)来进行测量。在一些实施例中,与野生型IL-15相比,本文所述的异二聚体蛋白的IL-15变体具有降低的对IL-2/IL-15 $\beta$  $\gamma$ 受体的结合亲和力。在一些实施例中,本文所述的异二聚体蛋白的第一Fc变体和/或第二Fc变体具有降低的对人、食蟹猴和小鼠Fc $\gamma$ 受体的亲和力。在一些实施例中,本文所述的异二聚体蛋白的第一Fc变体和/或第二Fc变体不与人、食蟹猴和小鼠Fc $\gamma$ 受体结合。

[0089] 如本文所用,术语“氨基酸”和“氨基酸同一性”是指由DNA和RNA编码的20种天然存在的氨基酸中的一种氨基酸。

[0090] 如本文所用,术语“氨基酸取代”或“取代”是指用不同氨基酸来替换亲本多肽序列中特定位置处的氨基酸。特别地,在一些实施例中,取代是指在特定位置处的非天然存在的氨基酸,或者并不在生物中或在任何生物体中天然存在的氨基酸。例如,取代E272Y是指变体多肽,在这种情况下为Fc变体,其中在位置272的谷氨酸被酪氨酸替换。为清楚起见,已经经过工程化以改变核酸编码序列但不改变起始氨基酸(例如将CGG(编码精氨酸)交换为CGA(仍编码精氨酸)以增加宿主生物体表达水平)的蛋白质不是“氨基酸取代”;即,尽管产生了编码相同蛋白质的新基因,但如果蛋白质在它开始的特定位置处具有相同的氨基酸,则不被认为是氨基酸取代。

[0091] 如本文所用,术语“氨基酸插入”、“氨基酸添加”或“添加”或“插入”是指在亲本多肽序列中的特定位置处添加氨基酸序列。例如,-233E或233E表示在位置233之后和位置234之前插入谷氨酸。此外,-233ADE或233ADE表示在位置233之后和位置234之前插入AlaAspGlu。

[0092] 如本文所用,术语“氨基酸缺失”或“缺失”是指去除在亲本多肽序列中的特定位置处的氨基酸序列。例如,E233-或E233#,E233()或E233del表示在位置233的谷氨酸的缺失。此外,EDA233-或EDA233#表示在位置233开始的序列GluAspAla的缺失。

[0093] 如本文所用,术语“抗体”或“Ab”是指能够通过至少一个抗原识别位点(位于免疫球蛋白分子的可变区)来识别并且结合特定靶标或抗原(诸如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等)的免疫球蛋白分子(例如,完整的抗体、抗体片段或经修饰的抗体)。如本文所用,术

语“抗体”可以涵盖任何类型的抗体,包括但不限于与给定抗原特异性结合的以下抗体:单克隆抗体、多克隆抗体、人抗体、工程抗体(包括人源化抗体、完全人抗体、嵌合抗体、单链抗体、人工选择的抗体、CDR移植抗体等)。在一些实施例中,“抗体”和/或“免疫球蛋白”(Ig)是指包含至少两条重(H)链(约50kDa至70kDa)和两条轻(L)链(约25kDa)的多肽,该重链和轻链任选地通过二硫键相互连接。存在两种类型的轻链: $\lambda$ 和 $\kappa$ 。在人类中, $\lambda$ 和 $\kappa$ 轻链为类似的,但每种抗体中仅存在一种类型。重链分类为 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ 、 $\alpha$ 或 $\epsilon$ ,并且将抗体的同种型分别定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。通常参见Fundamental Immunology第7章(Paul, W编辑,第2版, Raven Press, N.Y. (1989)) (以全文引用的方式并入)。

[0094] 如本文所用,术语“检查点抑制剂”是指靶向并且阻断检查点蛋白的化合物。检查点抑制剂干扰检查点蛋白与其伴侣蛋白之间的相互作用。检查点抑制剂的示例包括但不限于靶向PD-1/PD-L1轴的药剂和靶向CTLA-4的药剂。

[0095] 如本文所用,术语“效应子功能”是指由抗体Fc区与Fc受体或另一种效应分子(例如,Fc受体样(FcRL)分子、补体组分C1q和含有三基序的蛋白21(TRIM21))相互作用而导致的生化事件。效应子功能包括但不限于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)和补体依赖性细胞的细胞毒性(CDC)。如本文所用,术语“ADCC”或“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”是指细胞介导的反应,其中表达Fc $\gamma$ R的非特异性细胞毒性细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后导致靶细胞的裂解。ADCC与与Fc $\gamma$ R IIIa的结合相关;与Fc $\gamma$ R IIIa的结合增加导致ADCC活性增加。如本文所讨论的,本公开的许多实施例完全消除ADCC活性。如本文所用,术语“ADCP”或“抗体依赖性细胞介导的吞噬作用”是指细胞介导的反应,其中表达Fc $\gamma$ R的非特异性细胞毒性细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后导致靶细胞的吞噬作用。如本文所用,术语“CDC”或“补体依赖性细胞的细胞毒性”是指导致经典补体途径的激活的效应子功能,其由抗体与靶细胞上的抗原的结合来进行触发,它活化了血液中含有补体相关蛋白组的一系列级联反应。

[0096] 如本文所用,术语“Fc”、“Fc区”或“Fc结构域”在本文中可互换使用,并且是指包含抗体恒定区的多肽,在一些情况下其不包括第一恒定区免疫球蛋白结构域(例如,CH1)或其一部分,并且在某些情况下,为铰链的一部分。因此,Fc可以是指IgA、IgD和IgG的最后两个恒定区免疫球蛋白结构域(例如CH2和CH3)、IgE和IgM的最后三个恒定区免疫球蛋白结构域,以及与这些结构域的柔性铰链N末端。对于IgA和IgM,Fc可能包括J链。对于IgG,Fc结构域包括免疫球蛋白结构域C $\gamma$ 2和C $\gamma$ 3(C $\gamma$ 2和C $\gamma$ 3)以及C $\gamma$ 1(C $\gamma$ 1)与C $\gamma$ 2(C $\gamma$ 2)之间的下铰链区。在一些实施例中,Fc是指截短的CH1结构域,以及免疫球蛋白的CH2和CH3。尽管Fc区的边界可能不同,但人IgG重链Fc区通常定义为包括与其羧基末端的残基E216或C226或P230,其中编号根据EU编号所述。在一些实施例中,如本文更全面描述的,对Fc区进行氨基酸修饰,例如以改变与一种或多种Fc $\gamma$ R受体或与FcRn受体的结合。在一些实施例中,Fc结构域衍生自人IgG1重链Fc结构域。在一些实施例中,Fc结构域衍生自人IgG2重链Fc结构域。“如Edelman所阐述的EU格式”或“EU编号”或“EU索引”是指如Edelman GM等人(Proc.Natl.Acad.USA(1969),63,78-85,在此以全文引用的方式并入本文)所述的人Fc结构域的残基编号。

[0097] 如本文所用,术语“Fc融合蛋白”和“免疫粘附素”可以互换使用,并且是指包含Fc区的蛋白质,通常(任选地通过接头部分,如本文所述)与不同的蛋白质(例如与IL-15和/或

IL-15R,如本文所述)连接。在一些情况下,两种Fc融合蛋白可以形成同二聚体Fc融合蛋白或异二聚体Fc融合蛋白,其中后者为优选的。

[0098] 如本文所用,术语“Fc变体”或“变体Fc”是指在Fc结构域中包含氨基酸修饰的蛋白质。本发明的Fc变体根据构成它们的氨基酸修饰来进行定义。因此,例如,N434S或434S为相对于亲本Fc多肽,在位置434具有取代丝氨酸的Fc变体,其中编号根据EU索引所述。同样,M428L/N434S定义了相对于亲本Fc多肽,具有取代M428L和N434S的Fc变体。WT氨基酸的同一性可能未指定,在该情况下,前述变体被称为428L/434S。值得注意的是,以何种顺序提供取代是任意的,也就是说,例如,428L/434S为与M428L/N434S等相同的Fc变体。对于本发明中讨论的涉及抗体的所有位置,除非另有说明,否则氨基酸位置编号根据EU索引所述。修饰可以为添加、缺失或取代。取代可以包括天然存在的氨基酸,并且在某些情况下可以包括合成氨基酸。示例包括但不限于美国专利号6,586,207;WO 98/48032;WO 03/073238;US2004-0214988A1;WO 05/35727A2;WO 05/74524A2;J.W.Chin等人,(2002),Journal of the American Chemical Society 124:9026-9027;J.W.Chin,&P.G.Schultz,(2002),ChemBioChem 11:1135-1137;J.W.Chin,等人,(2002),PICAS United States of America 99:11020-11024;和L.Wang,&P.G.Schultz,(2002),Chem.1-10,以上所有文献以全文引用的方式并入本文。

[0099] 如本文所用,术语“Fc $\gamma$ 受体”、“Fc $\gamma$ R”和“Fc $\gamma$ maR”可互换使用,并且是指与IgG抗体Fc区结合并由Fc $\gamma$ R基因编码的蛋白家族的任何成员。Fc $\gamma$ R可以来自任何生物体。在一些实施例中,Fc $\gamma$ R为人Fc $\gamma$ R。在人体中,该家族包括但不限于Fc $\gamma$ RI(CD64),包括同工型Fc $\gamma$ RIa、Fc $\gamma$ RIb和Fc $\gamma$ RIc;Fc $\gamma$ RII(CD32),包括同工型Fc $\gamma$ RIIa(包括同种异型H131和R131)、Fc $\gamma$ RIIb(包括Fc $\gamma$ RIIb-1和Fc $\gamma$ RIIb-2)和Fc $\gamma$ RIIc;和Fc $\gamma$ RIII(CD16),包括同工型Fc $\gamma$ RIIIa(包括同种异型V158和F158)和Fc $\gamma$ RIIIb(包括同种异型Fc $\gamma$ RIIb-NA1和Fc $\gamma$ RIIb-NA2)(Jefferis等人,2002,Immunol Lett 82:57-65,以全文引用的方式并入),以及任何未发现的人Fc $\gamma$ R或Fc $\gamma$ R同工型或同种异型。

[0100] 如本文所用,术语“FcRn”或“新生儿Fc受体”是指结合IgG抗体Fc区并且至少部分地由FcRn基因编码的蛋白质。FcRn可以来自任何生物体。在一些实施例中,FcRn为人FcRn。如本领域已知的,功能性FcRn蛋白包含两种多肽,通常称为重链和轻链。轻链为 $\beta$ -2-微球蛋白,并且重链由FcRn基因编码。除非本文另有说明,否则FcRn或FcRn蛋白是指FcRn重链与 $\beta$ -2-微球蛋白的复合物。多种FcRn变体可以用于增加与FcRn受体的结合,并且在某些情况下用于增加血清半衰期。一般而言,除非另有说明,否则本文所公开的Fc单体保留与FcRn受体的结合(并且如下文所述,可包括氨基酸变体以增加与FcRn受体的结合)。

[0101] 如本文所用,术语“修饰”是指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失,或对化学连接至蛋白质的部分的改变。例如,修饰可以为连接至蛋白质的经改变的碳水化合物或PEG结构。本文中的“氨基酸修饰”意指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失。为清楚起见,除非另有说明,否则氨基酸修饰总是指由DNA编码的氨基酸,例如,在DNA和RNA中具有密码子的20种氨基酸。

[0102] 术语“核酸”、“多核苷酸”和“寡核苷酸”可以互换使用,并且是指呈线性或环状构象并呈单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸聚合物。出于本公开的目的,这些术语不应被解释为限制聚合物的长度。该术语可以涵盖天然核苷酸以及在碱基、糖和/或磷

酸盐部分(例如,硫代磷酸酯主链)中经修饰的核苷酸的已知类似物。一般而言,特定核苷酸的类似物具有相同的碱基配对特异性;即,A的类似物将与T进行碱基配对。

[0103] 如本文所用,术语“非天然存在的修饰”是指非同种型的氨基酸修饰。例如,因为没有IgG在位置434包含丝氨酸,所以IgG1、IgG2、IgG3或IgG4(或其杂合物)中的取代434S被认为是非天然存在的修饰。

[0104] 术语“患者”、“受试者”和“个体”在本文中可互换使用,并且是指需要治疗的人类或非人类动物。这些术语包括哺乳动物(例如人类)和灵长类动物(例如,猴)。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者需要治疗癌症。如本文所用,术语“治疗(treating/treatment)”是指减轻症状的严重程度和/或频率、消除症状和/或根本原因、预防症状和/或其根本原因的发生,以及改善或修复损坏。

[0105] 如本文所用,相对于蛋白序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”被定义为在比对候选序列与特定(亲本)序列并且引入空位(如果必要的话)以实现最大的序列同一性百分比之后,并且在不考虑将任何保守取代作为序列同一性的组成部分的情况下,候选序列中的氨基酸残基与特定(亲本)序列中的氨基酸残基相同的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以以本领域技术范围内的各种方式实现,例如使用可公开获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定用于测量比对的适当参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。一个特定程序为在美国公布号20160244525(在此以引用方式并入)的段落[0279]至[0280]概述的ALIGN-2程序。

[0106] 如本文所用,术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”可以互换使用以指代氨基酸残基的聚合物。该术语也适用于氨基酸聚合物,其中一种或多种氨基酸为对应的天然存在的氨基酸的化学类似物或经修饰的衍生物。融合蛋白在细胞中的表达可以由将融合蛋白递送至细胞或通过编码融合蛋白的多核苷酸递送至细胞而产生,其中转录多核苷酸并且翻译转录物以生成融合蛋白。反式剪接、多肽切割和多肽连接也可以参与蛋白质在细胞中的表达。用于将多核苷酸和多肽递送至细胞的方法为本领域已知的。

[0107] 如本文所用,术语“位置”是指蛋白质序列中的位置。位置可以依次或根据既定格式(例如用于抗体编号的EU索引)来进行编号。可以相对于参考序列来定义位置。在此类情况下,提供参考序列以用于比较目的,并且本公开的异二聚体蛋白(或其一部分)可以包含相对于参考序列的额外氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。在一些实施例中,本公开的异二聚体蛋白(或其一部分)不包含相对于参考序列的任何额外氨基酸改变。

[0108] 如本文所用,术语“残基”是指蛋白质中的位置及其相关联的氨基酸同一性。例如,天冬酰胺297(也称为Asn297或N297)为特定蛋白质中位置297的残基。

[0109] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指作为单一药剂施用或与一种或多种额外药剂组合施用的治疗剂的量,其将在某种程度上缓解正在进行治疗的病症的症状中的一种或多种症状。在一些实施例中,治疗有效量为足以实现有益或期望的临床结果的量。关于癌症的治疗,治疗有效量是指具有以下效果中的至少一种效果的量:减轻、改善、稳定、逆转、预防、减缓或延迟癌症的进展(和/或与该癌症相关联的症状)。可用于本公开的有效量取决于施用方式、受试者的年龄、体重和一般健康状况。可以使用本领域的常规技术来确定适当的量和剂量方案。

[0110] 如本文所用,术语“有效量”是指作为单一药剂施用或与一种或多种额外药剂组合施用的药剂的量,其将为足以导致完全或部分有益或期望的结果的量。可用于本公开的有效量取决于施用方式、受试者的年龄、体重和一般健康状况。可以使用本领域的常规技术来确定适当的量和剂量方案。

[0111] 术语“野生型”或“WT”在本文中可互换使用,并且是指在自然界中发现的氨基酸序列或核苷酸序列,包括等位基因变体。WT蛋白质具有氨基酸序列或由未被有意修饰过的核苷酸序列编码。

[0112] 常规

[0113] 本公开涉及治疗有需要的受试者中的实体瘤的方法,该方法包括向受试者施用包含IL-15和IL-15受体 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ ) 蛋白结构域的治疗有效量的异二聚体Fc融合蛋白(或异二聚体Fc融合蛋白的组合)。本公开涉及用于诱导受试者中的CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞和/或NK细胞增殖或用于诱导受试者中IFN  $\gamma$  产生的方法,该方法包括向受试者施用包含IL-15和IL-15受体 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ ) 蛋白结构域的有效量的异二聚体Fc融合蛋白(或异二聚体Fc融合蛋白的组合)。Fc结构域可以衍生自IgG Fc结构域,例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc结构域。

[0114] IL15-IL15R $\alpha$ 异二聚体Fc融合蛋白

[0115] US2018/0118805中公开的任何IL15-IL15R $\alpha$ 异二聚体Fc融合蛋白(其全部公开内容以引用方式并入本文)或它们的组合可以用于本文公开的方法中。这些尤其包括Fc变体,诸如空间变体(例如,“杵臼”、“偏斜”、“静电转向”、“带电对”变体)、pI变体、同种型变体、Fc  $\gamma$  R变体和消融变体(例如,“Fc  $\gamma$  R消融变体”或“Fc敲除(FcKO或KO)”变体)以及其中公开的各种IL-15和IL15R $\alpha$ 蛋白。

[0116] 因此,在一些实施例中,可用于本文所公开的方法的异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S;S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S。

[0117] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含S364K/E357Q:L368D/K370S组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含L368D/K370S:S364K组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含L368E/K370S:S364K组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含T411E/K360E/Q362E:D401K组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含L368D/K370S:S364K/E357L组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所

述第二Fc结构域分别包含K370S:S364K/E357Q组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含L368D/K370S:S364K/E357Q组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含S364K:L368D/K370S组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含S364K:L368E/K370S组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含D401K:T411E/K360E/Q362E组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含S364K/E357L:L368D/K370S组氨基酸取代。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域分别包含S364K/E357Q:K370S组氨基酸取代。

[0118] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:Q295E、N384D、Q418E和N421D或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:Q295E、N384D、Q418E和N421D或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:Q295E、N384D、Q418E和N421D或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:Q295E、N384D、Q418E和N421D或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。

[0119] 在一些实施例中,第一Fc结构域在位置220不包含游离半胱氨酸。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域包含氨基酸取代C220S。在一些实施例中,第二Fc结构域在位置220不包含游离半胱氨酸。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域包含氨基酸取代C220S。在一些实施例中,第一Fc结构域和第二Fc结构域在位置220不包含游离半胱氨酸。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域和第二Fc结构域两者均包含氨基酸取代C220S。

[0120] 在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代中的任何一个氨基酸取代:E233P、L234V、L235A、G236del、G236R、S239K、S267K、A327G和L328R或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代中的任何一个氨基酸取代:E233P、L234V、L235A、G236del、G236R、S239K、S267K、A327G和L328R或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K。

[0121] 各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12)中的对应位置。野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12),异二聚体蛋白的Fc结构域可以包

含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG1等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。技术人员将能够确定衍生自IgG2、IgG3或IgG4 Fc结构域的Fc结构域中的对应取代。例如,技术人员将认识到残基E233、L234、L235和G236存在于衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域的Fc结构域中。在一些实施例中,各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14)中的对应位置。野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14),异二聚体蛋白的Fc结构域可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG3等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。

[0122] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/L234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/L234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/L234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/L234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域。

[0123] 技术人员还将认识到衍生自IgG2 Fc结构域的Fc结构域中的对应残基为P233、V234和A235,并且衍生自IgG2的Fc结构域缺少对应于残基G236的残基。因此,技术人员将认识到,如果Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域(即,存在于野生型IgG2中的PVA-序列),则本文提及E233P、L234V、L235A和G236del为提及P233、V234、A235和-236。在一些实施例中,各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13)中的对应位置。野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13),异二聚体蛋白的Fc部分可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG2等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。

[0124] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:L328R;S239K;S267K;S239K/A327G;和S267K/A327G,并且其中Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:L328R;S239K;S267K;S239K/A327G;和S267K/A327G,并且其中Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:L328R;S239K;S267K;S239K/A327G;和S267K/A327G,并且其中Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:L328R;S239K;S267K;S239K/A327G;和S267K/A327G,并且其中Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域。

[0125] 技术人员还将认识到,在衍生自IgG4的Fc结构域中,残基234为苯丙氨酸。因此,技术人员将认识到,如果Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域,则本文提及L234(例如L234V)为提及F234(例如F234V)。在一些实施例中,各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15)中的对应位置。野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15),异二聚体蛋白的Fc结构域可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG4等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。

[0126] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/F234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/F234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/F234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/F234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域。

[0127] 在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代M428L或N434S。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代M428L。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代N434S。在一些实施例中,根据

EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代M428L或N434S。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代M428L。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代N434S。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代M428L和N434S。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代M428L和N434S。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自进一步包含氨基酸取代M428L和N434S。

[0128] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。基于第二单体的氨基酸编号(参见例如,SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:16),当K246T取代出现在第二Fc结构域中时,它也可以称为K100T突变。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域和第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。

[0129] 在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;第二Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;并且所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;其中,根据EU编号。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;第二Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;并且所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S。

[0130] 在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、S364K和E357Q;并且所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、L368D和K370S;并且所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S。

[0131] 在一些实施例中,异二聚体蛋白的第一Fc结构域包含SEQ ID NO:6所示的序列。在一些实施例中,异二聚体蛋白的第二Fc结构域包含SEQ ID NO:7所示的序列。在一些实施例中,异二聚体蛋白的第二Fc结构域包含SEQ ID NO:8所示的序列。

[0132] 在一些实施例中,本文所述的Fc变体结构域的氨基酸取代中的任何一个氨基酸取代在单体中的一个单体上或在两个单体上(例如,在第一Fc结构域上;在第二Fc结构域上或在两个Fc结构域上)。

[0133] 在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG1。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG2。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG3。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG4。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG1。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG2。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG3。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG4。

[0134] 如本文所用,“IL-15”、“IL15”或“白介素15”可以互换使用并且是指属于细胞因子

家族的四- $\alpha$ -螺旋蛋白。IL-15通过由IL-2/IL-15受体 $\beta$  (IL-15R $\beta$ ) (CD122) 亚基构成的受体复合物来进行信号传导。在一些实施例中,IL-15蛋白包含SEQ ID NO:2(全长人IL-15)所示的多肽序列。在一些实施例中,IL-15蛋白包含SEQ ID NO:1(截短的或成熟的人IL-15)所示的多肽序列。

[0135] 在一些实施例中,第一单体的IL-15蛋白为具有与野生型IL-15蛋白不同的氨基酸序列(SEQ ID NO:1)的IL-15蛋白变体。在一些实施例中,对IL-15变体进行工程化以具有降低的对IL-2/IL-15 $\beta\gamma$ 受体复合物的结合亲和力(与野生型IL-15相比),目的为通过降低急性毒性来改善耐受性并且扩展药代动力学,并且最终通过CD8<sup>+</sup> T细胞和NK细胞上的IL-15介导的信号传导来促进抗肿瘤免疫。在某些实施例中,与野生型IL-15序列蛋白(SEQ ID NO:1)相比,第一单体的IL-15蛋白变体的序列具有至少一个(即,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个)氨基酸取代。在一些实施例中,氨基酸取代可以包括与IL-15R和/或IL-2/IL-15 $\beta\gamma$ 受体复合物相互作用的IL-15的结构域中的氨基酸取代或缺失中的一者或多者。在一些实施例中,氨基酸取代可以包括IL-15蛋白的结构域中的氨基酸取代或缺失中的一者或多者,与野生型IL-15的亲和力相比,该取代或缺失导致对IL-2/IL-15 $\beta\gamma$ 受体复合物的结合亲和力降低。在一些实施例中,IL-15蛋白包含选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N1D、N4D、D8N、D30N、D61N、E64Q、N65D和Q108E。在一些实施例中,所述IL15蛋白包含选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:E87C、V49C、L52C、E89C、Q48C、E53C、C42S和L45C。本文公开的IL-15蛋白的氨基酸取代为相对于野生型IL-15(成熟形式;SEQ ID NO:1)的。野生型IL-15(成熟形式;SEQ ID NO:1)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IL-15,异二聚体蛋白的IL-15蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的IL-15蛋白可以衍生自不同的野生型人IL-15等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IL-15,异二聚体蛋白的IL-15蛋白不包含任何额外的氨基酸改变。在一些实施例中,存在于第一单体中的IL-15蛋白变体包含SEQ ID NO:5 (XENP24306/XENP32803)所示的氨基酸序列。

[0136] 在一些实施例中,IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。在一些实施例中,IL-15蛋白包含以下氨基酸取代:N4D和N65D。在一些实施例中,IL-15蛋白包含以下氨基酸取代:D30N和N65D。在一些实施例中,存在于第一单体中的IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。在一些实施例中,存在于第一单体中的IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。在一些实施例中,存在于第一单体中的IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代并且由氨基酸取代N4D、D30N、E64Q组成。本文公开的IL-15蛋白的氨基酸取代为相对于野生型IL-15 (SEQ ID NO:1)的。野生型IL-15 (SEQ ID NO:1)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IL-15,异二聚体蛋白的IL-15蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的IL-15蛋白可以衍生自不同的野生型人IL-15等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IL-15,异二聚体蛋白的IL-15蛋白不包含任何额外的氨基酸改变。

[0137] IL-15R $\alpha$ 蛋白为对IL-15具有非常高的亲和力的跨膜蛋白,该蛋白可以促进IL-15从内质网(ER)穿过细胞质运输以及在细胞表面上呈递IL-15/IL-15R $\alpha$ 复合物。如本文所用,术语“IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域”是指IL-15R $\alpha$ 或重组人IL-15受体 $\alpha$ 的截短的胞外区。在一些

实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:3(全长人IL-15R $\alpha$ )的多肽序列。在一些实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4(人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域)的多肽序列。

[0138] 在一些实施例中,所述IL15R $\alpha$ 蛋白包含一种或多种氨基酸改变,该一种或多种氨基酸改变选自以下项组成的组:残基65之后的DPC或DCA插入(65DPC或D96/P97/C98、65DCA或D96/C97/A98)、S40C、K34C、G38C、L42C和A37C。IL-15R $\alpha$ 蛋白的这些氨基酸取代的编号是相对于人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4)的。人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代,插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白可以衍生自不同的野生型人IL-15R $\alpha$ 等位基因。在一些实施例中,相对于人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白不包含任何额外的氨基酸改变。

[0139] 在一些实施例中,IL15蛋白和IL15R $\alpha$ 蛋白分别包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代或添加:E87C:65DPC(残基65之后的DPC插入或D96/P97/C98);E87C:65DCA(残基65之后的DCA插入或D96/C97/A98);V49C:S40C;L52C:S40C;E89C:K34C;Q48C:G38C;E53C:L42C;C42S:A37C;和L45C:A37C。IL-15R $\alpha$ 蛋白的这些氨基酸取代的编号是相对于人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4)的。人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代,插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 可以衍生自不同的野生型人IL-15R $\alpha$ 等位基因。在一些实施例中,相对于人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(SEQ ID NO:4),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白不包含任何额外的氨基酸改变。

[0140] 在一些实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:3(全长人IL-15R $\alpha$ )的氨基酸序列。在一些实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白包含氨基酸序列SEQ ID NO:4(人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域)。在一些实施例中,IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4(人IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域)。

[0141] 本公开的异二聚体蛋白为IL-15/IL-15R $\alpha$ -Fc异二聚体融合蛋白。异二聚体Fc结构域的一侧的N末端共价连接至IL-15蛋白的C端,而另一侧共价连接至IL-15R $\alpha$ 的sushi结构域(截短的胞外区)。在一些实施例中,IL-15蛋白和IL-15R $\alpha$ (sushi结构域)可以在IL-15和IL-15R $\alpha$ 的C末端与Fc区中的每个Fc区的N末端之间具有可变长度接头。在一些实施例中,IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端。在一些实施例中,IL-15R $\alpha$ 蛋白使用第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。如本文所用,术语“接头”是指接合两个或更多个结构域的多肽序列。接头的特征和它们对特定目的的适用性为本领域已知的。参见,例如,Chen等人,Adv Drug Deliv Rev.October 15;65(10):1357-1369(2013)(公开了各种类型的接头、它们的特性以及相关联的接头设计工具和数据库),其以引用方式并入本文。在一些实施例中,接头为柔性的、刚性的或体内可切割的。在一些实施例中,接头为柔性的。柔性接头通常包含小的非极性氨基酸(例如Gly)或极性氨基酸(例如Ser或Thr)。可用于本公开的柔性接头的示例为主要由Gly和Ser残基的片段组成的序列(“GS”接头)。在一些实施例中,柔性接头包含4个Gly和Ser残基的重复。在一些实施例中,柔性接头包含五个Gly和Ser残基的1个至5个重复。柔性接头的非限制性示例包括(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) $n$ (SEQ ID

NO:39)、(Ser-Ser-Ser-Ser-Gly)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:40)、(Gly-Ser-Ser-Gly-Gly)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:41)和(Gly-Gly-Ser-Gly-Gly)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:42),其中n可以为1与5之间的任何整数。在一些实施例中,接头的长度介于5个与25个氨基酸残基之间。在一些实施例中,柔性接头包含5个、10个、15个、20个或25个残基。其他合适的接头可以选自由以下项组成的组:AS(SEQ ID NO:43)、AST(SEQ ID NO:44)、TVAAPS(SEQ ID NO:45)、TVA(SEQ ID NO:46)、ASTSGPS(SEQ ID NO:47)、KESGSVSSEQLAQFRSLD(SEQ ID NO:48)、EGKSSGSGSESKST(SEQ ID NO:49)、(Gly)<sub>6</sub>(SEQ ID NO:50)、(Gly)<sub>8</sub>(SEQ ID NO:51)和GSAGSAAGSGEF(SEQ ID NO:52)。一般而言,柔性接头提供良好的灵活性和溶解度,并且可以用作被动接头以保持功能性结构域之间的距离。可以调整柔性接头的长度以允许正确折叠或实现融合蛋白的最佳生物活性。在一些实施例中,接头包含序列(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser;SEQ ID NO:53)。在一些实施例中,第一接头和第二接头包含不同的序列。在一些实施例中,第一接头和第二接头包含相同的序列。在一些实施例中,第一接头和第二接头包含SEQ ID NO:53所示的序列。在一些实施例中,第一接头和第二接头由SEQ ID NO:53所示的序列组成。

[0142] 在一些实施例中,可用于本文所公开的方法的异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者独立地包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12)中的对应位置。野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG1等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:12),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。本文公开的IL-15蛋白的氨基酸取代为相对于野生型IL-15(成熟形式;SEQ ID NO:1)的。野生型IL-15(成熟形式;SEQ ID NO:1)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IL-15,异二聚体蛋白的IL-15蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的IL-15蛋白可以衍生自不同的野生型人IL-15等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IL-15,异二聚体蛋白的IL-15蛋白不包含任何额外的氨基酸改变。

[0143] 技术人员将能够确定衍生自IgG2、IgG3或IgG4 Fc结构域的Fc结构域中的对应取代。例如,技术人员将认识到残基E233、L234、L235、G236和A327存在于衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域的Fc结构域中。在一些实施例中,各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14)中的对应位置。野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG3等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG3 Fc结构域(SEQ ID NO:14),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的

氨基酸改变。因此,技术人员将认识到,当Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域时,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者独立地包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K。

[0144] 技术人员还将认识到衍生自IgG2 Fc结构域的Fc结构域中的对应残基为P233、V234、A235和G327,并且衍生自IgG2的Fc结构域缺少对应于残基G236的残基。因此,技术人员将认识到,如果Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域(即,存在于野生型IgG2中的PVA-序列),则本文提及E233P、L234V、L235A G236del和A327G为提及P233、V234、A235、-236和在残基327中没有取代。在一些实施例中,各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13)中的对应位置。野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG2等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:13),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。因此,技术人员将认识到,当Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域时,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者独立地包含氨基酸取代S267K。

[0145] 技术人员还将认识到,在衍生自IgG4的Fc结构域中,残基234为苯丙氨酸并且残基327为甘氨酸。因此,技术人员将认识到,如果Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域,则本文提及L234(例如L234V)和A327(例如A327G)分别为提及F234(例如F234V)和在残基327中没有取代。在一些实施例中,各种Fc结构域取代的位置是指野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15)中的对应位置。野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15)的氨基酸序列为经提供用于比较目的的示例性序列,并且相对于野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15),异二聚体蛋白的IL-15R $\alpha$ 蛋白可以包含额外的氨基酸改变(例如,取代、插入和缺失)。例如,异二聚体蛋白的Fc结构域可以衍生自不同的野生型人IgG4等位基因。在一些实施例中,相对于野生型IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:15),异二聚体蛋白的Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。因此,技术人员将认识到,当Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域时,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者独立地包含氨基酸取代E233P、F234V、L235A、G236del和S267K。

[0146] 在一些实施例中,对第一Fc结构域和/或第二Fc结构域独立地进行工程化以通过在较低pH(6.0)下增强的FcRn结合来进一步延长全身暴露量并且增加半衰期。在一些实施例中,对Fc区的额外工程化使得本公开的异二聚体蛋白无效应子(即,消除与Fc $\gamma$ 受体的结合)并且消除T细胞和NK细胞的抗体介导的CL。在一些实施例中,对第一Fc结构域和/或第二Fc结构域独立地进行工程化以促进异源二聚化形成而非同源二聚化形成。在一些实施例中,对第一Fc结构域和/或第二Fc结构域独立地进行工程化以具有经改善的PK。在一些实施例中,第一Fc结构域和/或第二Fc结构域被独立地进行工程化以允许通过增加两个单体之间的pI差异来远离异源二聚体而纯化同源二聚体。在某些实施例中,Fc变体结构域可以进一步包含缺少一个或多个天然Fc氨基酸残基的分子或序列,该氨基酸残基影响或参与(1)二硫键形成、(2)与所选宿主细胞的不相容性、(3)在所选宿主细胞中表达之后的N末端异质性、(4)糖基化、(5)与补体的相互作用、(6)与新生儿受体之外的Fc受体结合、(7)抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)或(8)抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。Fc变体在后文中进

一步详细描述。

[0147] 在一些实施例中,本公开的第一或第二Fc结构域可以包含“偏斜”变体(例如,美国专利10,259,887的图1A至图1C中所示的一组氨基酸取代;所有这些内容均以全文引用的方式并入本文)。偏斜变体促进异源二聚化形成而非同源二聚化形成。在一些实施例中,根据EU编号,偏斜变体选自由以下项组成的组:S364K/E357Q(在第一Fc结构域上):L368D/K370S(在第二Fc结构域上);L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S。

[0148] 在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:Q295E、N384D、Q418E和N421D或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代中的任何一个氨基酸取代:Q295E、N384D、Q418E和N421D或它们的组合。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。在一些实施例中,根据EU编号,所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。

[0149] 在一些实施例中,第一Fc结构域在位置220不包含游离半胱氨酸。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域包含氨基酸取代C220S。在一些实施例中,第二Fc结构域在位置220不包含游离半胱氨酸。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域包含氨基酸取代C220S。在一些实施例中,第一Fc结构域和第二Fc结构域在位置220不包含游离半胱氨酸。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含氨基酸取代C220S。

[0150] 在一些实施例中,本公开的第一或第二Fc结构域可以包括用于经改善的PK的氨基酸取代(Xtend取代)。在一些实施例中,根据EU编号,本公开的第一Fc结构域和/或第二Fc结构域独立地包含氨基酸取代M428L和/或N434S。在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代M428L或N434S。在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代M428L和N434S。在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代M428L。在一些实施例中,第一Fc结构域包含氨基酸取代N434S。在一些实施例中,第二Fc结构域包含氨基酸取代M428L或N434S。在一些实施例中,第二Fc结构域包含氨基酸取代M428L和N434S。在一些实施例中,第二Fc结构域包含氨基酸取代M428L。在一些实施例中,第二Fc结构域包含氨基酸取代N434S。

[0151] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。在一些实施例中,根据EU编号,第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。基于第二单体的氨基酸编号(参见例如,SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:16),当K246T取代出现在第二Fc结构域中时,它也可以称为K100T突变。在一些实施例中,根据EU编号,第一Fc结构域和第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。

[0152] 在一些实施例中,异二聚体蛋白的第一Fc结构域包含SEQ ID NO:6所示的序列。在

一些实施例中,异二聚体蛋白的第二Fc结构域包含SEQ ID NO:7所示的序列。在一些实施例中,异二聚体蛋白的第二Fc结构域包含SEQ ID NO:8所示的序列。

[0153] 在一些实施例中,本文所述的Fc变体结构域的氨基酸取代中的任何一个氨基酸取代在单体中的一个单体上或在两个单体上(例如,在第一Fc结构域上;在第二Fc结构域上或在两个Fc结构域上)。

[0154] 在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG1。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG2。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG3。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG4。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG1。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG2。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG3。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG4。

[0155] 在一些实施例中,所述第一Fc结构域包含以下氨基酸取代:C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、L368D、K370S、M428L和N434S,根据EU编号。在一些实施例中,根据EU编号,所述第二Fc结构域包含以下氨基酸取代:C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、S364K、E357Q、M428L和N434S。在一些实施例中,所述第二Fc结构域包含以下氨基酸取代:C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、L368D、K370S、M428L和N434S,根据EU编号。在一些实施例中,所述第一Fc结构域包含以下氨基酸取代:C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、S364K、E357Q、M428L和N434S,根据EU编号。在一些实施例中,与野生型IgG Fc结构域相比,第一Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。在一些实施例中,与野生型IgG1 Fc结构域相比,第一Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。在一些实施例中,与SEQ ID NO:12相比,第一Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。在一些实施例中,与野生型IgG Fc结构域相比,第二Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。在一些实施例中,与野生型IgG1 Fc结构域相比,第二Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。在一些实施例中,与SEQ ID NO:12相比,第二Fc结构域不包含任何额外的氨基酸改变。

[0156] 在一些实施例中,根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者独立地包含选自由以下项组成的组的额外一组氨基酸取代:G236R、S239K、L328R和A327G。

[0157] 在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG1。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG2。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG3。在一些实施例中,第一单体的Fc结构域衍生自IgG4。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG1。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG2。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG3。在一些实施例中,第二单体的Fc结构域衍生自IgG4。

[0158] 在一些实施例中,异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的野生型sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;根据EU编号,其中第一Fc结构

域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、Q295E、L368D、K370S、N384D、Q418E、N421D、M428L和N434S,并且其中第二Fc结构域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、E357Q、S364K、M428L和N434S;并且其中与野生型IL-15蛋白(SEQ ID NO:1)相比,所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。

[0159] 在一些实施例中,异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的野生型sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;根据EU编号,其中第一Fc结构域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、Q295E、E357Q、S364K、N384D、Q418E、N421D、M428L和N434S;并且其中第二Fc结构域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、L368D、K370S、M428L和N434S;并且其中与野生型IL-15蛋白(SEQ ID NO:1)相比,所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。

[0160] 在一些实施例中,异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的野生型sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;根据EU编号,其中第一Fc结构域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、Q295E、L368D、K370S、N384D、Q418E、N421D、M428L和N434S,并且其中第二Fc结构域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、K246T、S267K、E357Q、S364K、M428L和N434S;并且其中与野生型IL-15蛋白(SEQ ID NO:1)相比,所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。

[0161] 在一些实施例中,异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的野生型sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;根据EU编号,其中第一Fc结构域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、Q295E、E357Q、S364K、N384D、Q418E、N421D、M428L和N434S,并且其中第二Fc结构域包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、K246T、S267K、L368D、K370S、M428L和N434S;并且其中与野生型IL-15蛋白(SEQ ID NO:1)相比,所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。

[0162] 在一些实施例中,第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。在一些实施例中,第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列。

[0163] 在一些实施例中,第一单体包含(1) IL-15和(2)包含SEQ ID NO:6所示序列的第一Fc结构域。在一些实施例中,第二单体包含(1) IL-15R $\alpha$ 和(2)包含SEQ ID NO:7所示序列的第二Fc结构域。

[0164] 在一些实施例中,存在于异二聚体蛋白的氨基酸取代在美国专利公开US 2018/0118805中公开并且以全文引用的方式并入本文。

[0165] 下文表1中提供了本文引用的序列。

[0166] 表1.本公开中所述的氨基酸序列的汇编。

[0167]

SEQ ID NO: 1	野生型成熟的 或截短的 IL-15 蛋白	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSC KVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILA NNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVH IVQMFINTS
SEQ ID NO: 2	野生型全长 IL- 15 蛋白	MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILG CFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT LYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLESGDASI HDTVENLILANNLSLSSNGNVTESGCKECEEELEEK NIKEFLQSFVHIVQMFINTS
SEQ ID NO: 3	野生型全长 IL- 15 $\alpha$ 蛋白	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLRPPATRGITCPP PMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGT SSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNN TAATTAIVPGSQLMPKSPSTGTTEISSHESHG TPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTV AISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEM EAMEALPVTWGTSSRDEDELENCSHHL
SEQ ID NO: 4	IL-15 $\alpha$ 蛋白的 Sushi 结构域	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKR KAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR
SEQ ID NO: 5	XENP24306 或 XENP32803 IL- 15 蛋白变体	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSC KVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVQDLIILA NNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVH IVQMFINTS
SEQ ID NO: 6	XENP24306 或 XENP32803 第 一 IgG1 Fc 结构 域 ( IL-15 单 体)	EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWES DGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WEQGDVFSCSVLHEALHSHYEQKSLSLSPGK

[0168]

SEQ ID NO: 7	XENP24306 第 二 IgG1 Fc 结构 域 (IL-15R $\alpha$ 单 体)	EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVY TLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVLHEALSHY TQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 8	XENP32803 第 二 IgG1 Fc 结构 域 (IL-15R $\alpha$ 单 体)	EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVY TLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVLHEALSHY TQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 9	XENP24306 或 XENP32803 第 一单体 (IL-15- 第一 Fc 结构域 单体)	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSC KVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVQDLILA NNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVH IVQMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF YPSDIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALSHY TQK SLSLSPGK
SEQ ID NO: 10	XENP24306 第 二单体 (IL- 15R $\alpha$ -第二 Fc 结构域单体)	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKR KAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKCIRGGG GSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVLHEALSHY TQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 11	XENP22853 野生型第一单 体 (IL-15-第一 Fc 结构域单 体)	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSC KVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILA NNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVH IVQMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF YPSDIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALSHY TQK SLSLSPGK

SEQ ID NO: 12	未修饰的 Fc IgG1 结构域 (等位基因 3; Y14737)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 13	未修饰的 Fc IgG2 结构域 (等位基因 1; J00230/AH005273)	ERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 14	未修饰的 Fc IgG3 结构域 (等位基因 8; AJ390241/X03604)	EPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFCFSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 15	未修饰的 Fc IgG4 结构域 (等位基因 1; K01316/AH005273)	ESKYGPPCPCSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLK
SEQ ID NO: 16	XENP32803 第二单体 (IL-15R $\alpha$ 单体)。	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPTPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVLHEALHSHYHTQKSLSLSPGK

[0170] 在一些实施例中,本公开的异二聚体蛋白选自由以下项组成的组: XENP20818、XENP20819、XENP21471、XENP21472、XENP21473、XENP21474、XENP21475、XENP21476、XENP21477、XENP21988、XENP21989、XENP21990、XENP21991、XENP21992、XENP22013、XENP22014、XENP22015、XENP22017、XENP22815、XENP22816、XENP22817、XENP22818、XENP22819、XENP22820、XENP22821、XENP22822、XENP22823、XENP22824、XENP22825、XENP22826、XENP22827、XENP22828、XENP22829、XENP22830、XENP22831、XENP22832、XENP22833、XENP22834、XENP23343、XENP23472、XENP23504、XENP23554、XENP23555、XENP23557、XENP23559、XENP23560、XENP23561、XENP24017、XENP24018、XENP24019、XENP24020、XENP24043、XENP24044、XENP24046、XENP24051、XENP24052、XENP24113、XENP24301、XENP24306、XENP24341和XENP32803异二聚体蛋白,其序列在US10,501,543的图

104A至图104AY中公开并且以引用方式并入本文。

[0171] 在一些实施例中,本公开的异二聚体蛋白选自由以下项组成的组:XENP22822、XENP23504、XENP24045、XENP24306、XENP22821、XENP23343、XENP23557、XENP24113、XENP24051、XENP24341、XENP24052、XENP24301和XENP32803异二聚体蛋白,该异二聚体蛋白描述于下表2中。XENP22822、XENP23504、XENP24045、XENP24306、XENP22821、XENP23343、XENP23557、XENP24113、XENP24051、XENP24341、XENP24052和XENP24301的序列也提供于US2018/0118805中并且以引用方式并入本文。在一些实施例中,本公开的异二聚体蛋白为XENP24306。在一些实施例中,本公开的异二聚体蛋白为XENP32803。在一些实施例中,本公开的两种或更多种(例如,2种、3种、4种、5种等)异二聚体蛋白的组合用于本文公开的方法中。在一些实施例中,本公开的两种异二聚体蛋白的组合用于本文公开的方法中。在一些实施例中,XENP24306和XENP32803的组合用于本文公开的方法中。

[0172] 在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约99%、约98%、约97%、约96%、约95%、约94%、约93%、约92%、约91%、约90%、约89%、约88%、约87%、约86%、约85%、约84%、约83%、约82%、约81%、约80%、约75%、约70%、约65%、约60%、约55%、约50%、约45%、约40%、约35%、约30%、约25%、约20%、约15%、约10%或约5%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约85%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约84%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约83%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约82%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约81%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约80%。

[0173] 在一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约95%、约90%、约85%、约80%、约75%、约70%、约75%、约70%、约65%、约55%、约50%、约45%、约40%、约35%、约30%、约25%、约20%、约19%、约18%、约17%、约16%、约15%、约14%、约13%、约12%、约11%、约10%、约9%、约8%、约7%、约6%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%。在一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约15%。在一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约16%。在一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约17%。在一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约18%。在一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约19%。在一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约20%。

[0174] 在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的介于约50%至100%、约70%至95%、约80%至90%或约80%至85%之间。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的介于约1%至50%、约5%至30%、约10%至20%或约15%至20%之间。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约85%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约15%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约84%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约16%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约83%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约17%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约82%,并且在组合中,XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约18%。在一些实施例中,在组合中,XENP24306蛋白代

表异二聚体蛋白的约81%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约19%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的约80%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的约20%。

[0175] 在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的85%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的84%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的83%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的82%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的81%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的80%。

[0176] 在一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。在一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的15%。在一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的16%。在一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的17%。在一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的18%。在一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的19%。在一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的20%。

[0177] 在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的介于50%至100%、70%至95%、80%至90%或80%至85%之间。在本文所公开的任何方法的一些实施例中，在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的介于1%至50%、5%至30%、10%至20%或15%至20%之间。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的85%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的15%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的84%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的16%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的83%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的17%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的82%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的18%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的81%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的19%。在一些实施例中，在组合中，XENP24306蛋白代表异二聚体蛋白的80%，并且在组合中，XENP32803蛋白代表异二聚体蛋白的20%。

[0178] 表2.

[0179]

XENP22821	<p>单体 1 (IL-15 (N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 17  NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL  LELQVISLESGDASIHDTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECEE  LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPA  PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN  QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFF  LYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 18  ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC  VLNKATNVAHWTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPV  AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWY  VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY  KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV  KLTVLTKGKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY  SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
-----------	---

[0180]

<p>XENP22822</p>	<p>单体 1 (IL-15 (Q108E)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 19                  NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVEMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPA                  PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN                  QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 20                  ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPV                  AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWY                  VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY                  KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV                  KLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY                  SKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
<p>XENP23557</p>	<p>单体 1 (IL-15 (N4D/N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 21                  NWVDVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPA                  PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN                  QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 22                  ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAP                  PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKN                  QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

[0181]

<p>XENP24045</p>	<p>单体 1 (IL-15 (D30N/E64Q/N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 23                  NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHDTVQDLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPA                  PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN                  QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 24                  ITCPPMMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAP                  PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKN                  QVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
<p>XENP24051</p>	<p>单体 1 (IL-15 (N1D/N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 25                  DWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHDTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECEE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAG                  PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVD                  GVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK                  VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT                  CDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL                  TVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 26                  ITCPPMMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIREPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSV                  FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE                  VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN                  KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLV                  KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD                  KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

[0182]

<p>XENP24052</p>	<p>单体 1 (IL-15 (N4D/N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 27                  NWVDVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAG                  PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVD                  GVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK                  VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT                  CDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL                  TVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 28                  ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIREPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSV                  FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE                  VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN                  KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLV                  KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV                  KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
<p>XENP23504</p>	<p>单体 1 (IL-15 (Q108E)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 29                  NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVEMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPA                  PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN                  QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 30                  ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPV                  AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWY                  VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY                  KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV                  KLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY                  SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>

[0183]

<p>XENP23343</p>	<p>单体 1 (IL-15 (N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 31                  NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECEE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPA                  PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN                  QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALSHYEQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 32                  ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPV                  AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWY                  VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY                  KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV                  KLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY                  SKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVLHEALSHYEQKSLSLSPGK</p>
<p>XENP24113</p>	<p>单体 1 (IL-15 (N4D/N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 33                  NWVDVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL                  LELQVISLESGDASIHTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECEE                  LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPA                  PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN                  WYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK                  EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN                  QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPPVLDSDGSFF                  LYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALSHYEQKSLSLSPGK                  单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 34                  ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC                  VLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPV                  AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWY                  VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY                  KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV                  KLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY                  SKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVLHEALSHYEQKSLSLSPGK</p>

[0184]	<p>XENP24341 单体 1 (IL-15 (N1D/N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 35          DWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL          LELQVISLESGDASIHTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECE          LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAG          PSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVD          GVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK          VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT          CDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKL          TVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p> <p>单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 36          ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC          VLNKATNVAHWTTPSLKCIREPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSV          FLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE          VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN          KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLV          KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTV          KSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>
	<p>XENP24301 单体 1 (IL-15 (N4D/N65D)-第一 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 37          NWVDVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL          LELQVISLESGDASIHTVEDLILANNSLSSNGNVTESGCKECE          LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAG          PSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVD          GVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK          VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT          CDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKL          TVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p> <p>单体 2 (IL-15R<math>\alpha</math>-第二 Fc 结构域)。SEQ ID NO: 38          ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC          VLNKATNVAHWTTPSLKCIREPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSV          FLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE          VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN          KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLV          KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTV          KSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>

[0185] 用IL15-IL15R $\alpha$ 异二聚体Fc融合蛋白进行治疗的方法

[0186] 在一方面,本公开提供了治疗有需要的受试者中的实体瘤的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合。

[0187] 在另一方面,本公开提供了本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合,以用于治疗有需要的受试者中的实体瘤。

[0188] 在另一方面,本公开提供了治疗有效量的如本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合在制备用于治疗有需要的受试者中的实体瘤的药物中的用途。

[0189] 在一些实施例中,两种或更多种(例如,2种、3种、4种、5种、6种等)异二聚体蛋白的组合用于本文所述的方法中。在一些实施例中,向受试者施用第一异二聚体蛋白和第二异二聚体蛋白的组合。

[0190] 在一些实施例中,第一异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的第二单体;并且第二异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的第二单体。

[0191] 在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约99%、约98%、约97%、约96%、约95%、约94%、约93%、约92%、约91%、约90%、约89%、约88%、约87%、约86%、约85%、约84%、约83%、约82%、约81%、约80%、约75%、约70%、约65%、约60%、约55%、约50%、约45%、约40%、约35%、约30%、约25%、约20%、约15%、约10%或约5%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约85%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约84%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约83%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约82%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约81%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约80%。

[0192] 在一些实施例中,第二异二聚体蛋白代表组合的约95%、约90%、约85%、约80%、约75%、约70%、约65%、约60%、约55%、约50%、约45%、约40%、约35%、约30%、约25%、约20%、约19%、约18%、约17%、约16%、约15%、约14%、约13%、约12%、约11%、约10%、约9%、约8%、约7%、约6%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约15%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约16%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约17%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约18%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约19%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约20%。

[0193] 在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的介于约50%至约100%、约70%至约95%、约80%至约90%或约80%至约85%之间。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的介于约1%至约50%、约5%至约30%、约10%至约20%或约15%至约20%之间。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约85%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约15%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约84%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约16%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约83%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约17%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约82%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约18%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约81%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约19%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约80%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的约20%。

[0194] 在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、

82%、81%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的85%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的84%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的83%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的82%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的81%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的80%。

[0195] 在一些实施例中,第二异二聚体蛋白代表组合的95%、90%、85%、80%、75%、70%、75%、70%、65%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的15%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的16%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的17%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的18%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的19%。在一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的20%。

[0196] 在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的介于50%至100%、70%至95%、80%至90%或80%至85%之间。在本文所公开的任何方法的一些实施例中,在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的介于1%至50%、5%至30%、10%至20%或15%至20%之间。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的85%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的15%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的84%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的16%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的83%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的17%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的82%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的18%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的81%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的19%。在一些实施例中,在组合中,第一异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的80%,并且在组合中,第二异二聚体蛋白代表异二聚体蛋白的20%。

[0197] 在一些实施例中,同时施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。在一些实施例中,依次施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。在一些实施例中,第一异二聚体蛋白在第二异二聚体蛋白之前施用。在一些实施例中,第二异二聚体蛋白在第一异二聚体蛋白之前施用。在一些实施例中,在相同组合物中施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。在一些实施例中,在分离的组合物中施用第一异二聚体蛋白和第二异二聚体蛋白。

[0198] 实体瘤是指通常不包含囊肿或液体区域的异常组织块。不同类型的实体瘤以形成它们的细胞类型命名。待通过本文所公开的方法和用途治疗的实体瘤的示例包括但不限于癌、淋巴瘤、胚细胞瘤和肉瘤。此类肿瘤的更具体示例包括鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌(cSCC)、小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、胃肠道癌、胃癌(gastric cancer)(GC)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、脂肪肉瘤、软组织肉瘤、尿路上

皮癌 (UCC)、输尿管和肾盂、多发性骨髓瘤、骨肉瘤、肝细胞瘤、黑素瘤、胃部癌 (stomach cancer)、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肾细胞癌 (RCC)、肝癌、食道癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝细胞癌、Merkel细胞癌 (MCC)、生殖细胞癌、高微卫星不稳定性 (MSI-H) 癌和头颈癌。在一些实施例中,实体瘤为局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤。在一些实施例中,实体瘤选自以下项组成的组:黑素瘤、NSCLC、头颈部鳞状细胞癌 (HNSCC)、三阴性乳腺癌 (TNBC)、UCC、RCC、SCLC、GC、MCC、cSCC和MSI-H癌症。在一些实施例中,实体瘤选自黑素瘤、RCC、NSCLC、HNSCC和TNBC。在一些实施例中,实体瘤为黑素瘤。在一些实施例中,实体瘤为RCC。在一些实施例中,实体瘤选自黑素瘤、RCC和NSCLC。在一些实施例中,实体瘤选自黑素瘤、NSCLC、HNSCC和TNBC。在一些实施例中,实体瘤为NSCLC。在一些实施例中,实体瘤为HNSCC。在一些实施例中,实体瘤为TNBC。在一些实施例中,实体瘤为对其而言标准疗法不存在、已被证明无效或无法耐受、或被认为不适当的实体瘤,或对其而言研究药剂的临床试验为公认的护理标准的实体瘤。

[0199] 本文所述的方法和用途包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的组合或本文所述的组合物,以产生此类效果。识别需要此类治疗的受试者可以依据受试者或医疗保健专业人员的判断,并且可以为主观的(例如意见)或客观的(例如可通过测试或诊断方法测量)。将适当地向苦于癌症、患有癌症、易患癌症或处于患有癌症风险的受试者施用此类治疗。

[0200] 在另一方面,本公开提供了用于诱导受试者中CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合。

[0201] 在另一方面,本公开提供了用于诱导受试者中NK细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合。

[0202] 在另一方面,本公开提供了用于诱导受试者中NK细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合,并且其中在施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合后,NK细胞的增殖应答强于CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞的增殖应答。

[0203] 在另一方面,本公开提供了用于诱导受试者中CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞和NK细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合。在一些实施例中,在施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合后,NK细胞的增殖应答强于CD8<sup>+</sup>效应记忆性T细胞的增殖应答。

[0204] 在另一方面,本公开提供了用于诱导受试者中CD4<sup>+</sup>效应记忆性T细胞增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合。

[0205] 在另一方面,本公开提供了用于诱导受试者中IFN  $\gamma$  产生的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的异二聚体蛋白中的任何异二聚体蛋白或它们的任何组合。

[0206] 施用途径包括但不限于肠胃外、口服、鼻部、灌注入膀胱、或经由合适的递送装置,或者含有常规的、无毒的药用载体和佐剂的植入物。在一些实施例中,肠胃外施用为通过注射、输注或植入。在一些实施例中,肠胃外施用为皮下、静脉内、动脉内、肌肉内、腹腔内、皮内、

鞘内、骨内、心内、膀胱内、玻璃体内、海绵窦内、硬膜外、脑内、脑室内、胸膜内、吸入、经皮等。在一些实施例中，肠胃外施用为皮下的。在一些实施例中，肠胃外施用为静脉内的。在一些实施例中，肠胃外施用为肌内的。在一些实施例中，肠胃外施用为腹腔内的。

[0207] 在一些实施例中，全身施用本公开的异二聚体蛋白。在一些实施例中，局部施用异二聚体蛋白。在一些实施例中，异二聚体蛋白作为包含药用缓冲液的组合物来进行施用。合适的载体和它们的制剂例如在E.W.Martin的Remington's Pharmaceutical Sciences中描述。在一些实施例中，异二聚体蛋白以适用于肠胃外施用途径的剂型来进行提供。

[0208] 包含异二聚体蛋白的组合物可以以单位剂型(例如，以单剂量安瓿、注射器或袋的形式)来进行提供。在一些实施例中，异二聚体蛋白以含有若干剂量的小瓶的形式来进行提供。可以将合适的防腐剂添加至组合物中(参见下文)。该组合物可以呈溶液、悬浮液、乳液、输注装置或递送装置的形式以用于植入，或者它可以以干粉形式存在，以用于在使用之前用水或另一种合适的媒介物复溶。除了本文所公开的异二聚体蛋白之外，组合物可以包括合适的可接受的载体和/或赋形剂。在一些实施例中，该组合物适用于肠胃外施用。可以将异二聚体蛋白掺入微球、微胶囊、纳米颗粒、脂质体等中以用于控释。此外，该组合物可以包括悬浮剂、增溶剂、稳定剂、pH调节剂、张度调节剂和/或分散剂。

[0209] 包含异二聚体蛋白的药物组合物可以呈适用于无菌注射的形式。为了制备此类组合物，将蛋白质溶解或悬浮在肠胃外可接受的液体媒介物中。可以采用的可接受的媒介物和溶剂包括水、通过添加适量的盐酸、氢氧化钠或合适的缓冲液来调整至合适pH的水、1,3-丁二醇、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液和葡萄糖溶液。水性制剂还可以包含一种或多种防腐剂(例如，对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯)。

[0210] 在一些实施例中，口服施用本公开的异二聚体蛋白。用于口服施用生物活性蛋白和肽的方法为本领域已知的。已经提出了多个防止口服施用的蛋白质降解的策略。用于口服施用异二聚体蛋白的方法的示例包括但不限于使用核壳颗粒(US 7,090,868)和纳米管(US 7,195,780)；脂质体以及水性乳液和悬浮液(US 7,316,818；WO 06/062544；US 6,071,535；和US 5,874,105)；充气脂质体(US 6,551,576；US 6,808,720；和US 7,083,572)；分散在水性介质中的纳米液滴(US 2007/0184076)；含有肽-效应子的基质-载体，其提供穿过生物屏障的渗透以用于施用疏水性蛋白质(WO 06/097793、WO 05/094785和WO 03/066859)；使用非共价蛋白质-多糖复合物(EP0491114B1)；使用US 8,936,786中所述的药物组合物；使用Peptelligence®系统(购自Enteris Biopharma)(WO 2014/138241、WO 2016/115082和WO 2004/064758)。所有这些出版物和专利均以引用方式具体地并入本文。

[0211] 待施用的本公开的异二聚体蛋白的量取决于施用方式、患者的年龄和体重以及待治疗的癌症的临床症状而变化。人体剂量最初可以通过从小鼠或非人类灵长类动物中使用的蛋白质量进行外推来进行确定。在某些实施例中，剂量可以在约0.0001mg蛋白质/kg体重至约5mg化合物/kg体重之间变化；或者在约0.001mg/kg体重至约4mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约1mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约0.3mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约0.2mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约0.02mg/kg体重之间变化。在一些实施例中，该剂量可以为约0.0001mg/kg、约0.00025mg/kg、约0.0003mg/kg、约0.0005mg/kg、约0.001mg/kg、约0.003mg/kg、约0.005mg/kg、约0.008mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.07mg/kg、约0.08mg/kg、约

0.09mg/kg、约0.1mg/kg、约0.12mg/kg、约0.135mg/kg、约0.15mg/kg、约0.16mg/kg、约0.2mg/kg、约0.2025mg/kg、约0.24mg/kg、约0.25mg/kg、约0.3mg/kg、约0.32mg/kg、约0.35mg/kg、约0.4mg/kg、约0.45mg/kg、约0.5mg/kg、约0.55mg/kg、约0.6mg/kg、约0.65mg/kg、约0.7mg/kg、约0.75mg/kg、约0.8mg/kg、约0.85mg/kg、约0.9mg/kg、约0.95mg/kg、约1mg/kg、约1.1mg/kg、约1.15mg/kg、约1.2mg/kg、约1.25mg/kg、约1.3mg/kg、约1.35mg/kg、约1.4mg/kg、约1.45mg/kg、约1.5mg/kg、约1.6mg/kg、约1.7mg/kg、约1.8mg/kg、约1.9mg/kg、约2mg/kg、约2.5mg/kg、约3mg/kg、约3.5mg/kg、约4mg/kg、约4.5mg/kg或约5mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.0025mg/kg、约0.005mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.025mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.08mg/kg、约0.1mg/kg、约0.12mg/kg、约0.16mg/kg、约0.2mg/kg、约0.24mg/kg和约0.32mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.0025mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.01mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.015mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.02mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.03mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.04mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.06mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.08mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.09mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.12mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.135mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.16mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.2025mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.24mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.32mg/kg体重。在一些实施例中，根据这些剂量通过IV输注来施用本公开的异二聚体蛋白。

[0212] 在某些实施例中，剂量可以在0.0001mg蛋白质/kg体重至5mg化合物/kg体重之间变化；或者在0.001mg/kg体重至4mg/kg体重或0.005mg/kg体重至1mg/kg体重或0.005mg/kg体重至0.3mg/kg体重或0.005mg/kg体重至0.2mg/kg体重或0.005mg/kg体重至0.02mg/kg体重之间变化。在一些实施例中，该剂量可以为0.0001mg/kg、0.0003mg/kg、0.0005mg/kg、0.001mg/kg、0.003mg/kg、0.005mg/kg、0.008mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.03mg/kg、0.05mg/kg、0.08mg/kg、0.1mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.25mg/kg、0.3mg/kg、0.35mg/kg、0.4mg/kg、0.45mg/kg、0.5mg/kg、0.55mg/kg、0.6mg/kg、0.65mg/kg、0.7mg/kg、0.75mg/kg、0.8mg/kg、0.85mg/kg、0.9mg/kg、0.95mg/kg、1mg/kg、1.1mg/kg、1.15mg/kg、1.2mg/kg、1.25mg/kg、1.3mg/kg、1.35mg/kg、1.4mg/kg、1.45mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.7mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2mg/kg、2.5mg/kg、3mg/kg、3.5mg/kg、4mg/kg、4.5mg/kg或5mg/kg体重。在一些实施例中，剂量选自由以下项组成的组：0.0025mg/kg、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.06mg/kg、0.08mg/kg、0.09mg/kg、0.10mg/kg、0.12mg/kg、0.135mg/kg、0.16mg/kg、0.20mg/kg、0.2025mg/kg、0.24mg/kg和0.32mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.0025mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.01mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.015mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.02mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.03mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.04mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.06mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.08mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.09mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.12mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.135mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.16mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.2025mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为

0.24mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.32mg/kg体重。在一些实施例中，根据这些剂量通过IV输注来施用本公开的异二聚体蛋白。

[0213] 在某些实施例中，异二聚体蛋白的组的剂量可以在约0.0001mg蛋白质/kg体重至约5mg化合物/kg体重之间变化；或者在约0.001mg/kg体重至约4mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约1mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约0.3mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约0.2mg/kg体重或约0.005mg/kg体重至约0.02mg/kg体重之间变化。在一些实施例中，该剂量可以为约0.0001mg/kg、约0.0003mg/kg、约0.0005mg/kg、约0.001mg/kg、约0.003mg/kg、约0.005mg/kg、约0.008mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.03mg/kg、约0.05mg/kg、约0.08mg/kg、约0.1mg/kg、约0.15mg/kg、约0.2mg/kg、约0.25mg/kg、约0.3mg/kg、约0.35mg/kg、约0.4mg/kg、约0.45mg/kg、约0.5mg/kg、约0.55mg/kg、约0.6mg/kg、约0.65mg/kg、约0.7mg/kg、约0.75mg/kg、约0.8mg/kg、约0.85mg/kg、约0.9mg/kg、约0.95mg/kg、约1mg/kg、约1.1mg/kg、约1.15mg/kg、约1.2mg/kg、约1.25mg/kg、约1.3mg/kg、约1.35mg/kg、约1.4mg/kg、约1.45mg/kg、约1.5mg/kg、约1.6mg/kg、约1.7mg/kg、约1.8mg/kg、约1.9mg/kg、约2mg/kg、约2.5mg/kg、约3mg/kg、约3.5mg/kg、约4mg/kg、约4.5mg/kg或约5mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.0025mg/kg、约0.005mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.025mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.08mg/kg、约0.10mg/kg、约0.12mg/kg、约0.16mg/kg、约0.20mg/kg、约0.24mg/kg和约0.32mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.0025mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.01mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.015mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.02mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.03mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.04mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.06mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.08mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.12mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.16mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.24mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为约0.32mg/kg体重。在一些实施例中，根据这些剂量通过IV输注来施用本公开的异二聚体蛋白的组合。

[0214] 在某些实施例中，异二聚体蛋白的组的剂量可以在0.0001mg蛋白质/kg体重至5mg化合物/kg体重之间变化；或者在0.001mg/kg体重至4mg/kg体重或0.005mg/kg体重至1mg/kg体重或0.005mg/kg体重至0.3mg/kg体重或0.005mg/kg体重至0.2mg/kg体重或0.005mg/kg体重至0.02mg/kg体重之间变化。在一些实施例中，该剂量可以为0.0001mg/kg、0.0003mg/kg、0.0005mg/kg、0.001mg/kg、0.003mg/kg、0.005mg/kg、0.008mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.03mg/kg、0.05mg/kg、0.08mg/kg、0.1mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.25mg/kg、0.3mg/kg、0.35mg/kg、0.4mg/kg、0.45mg/kg、0.5mg/kg、0.55mg/kg、0.6mg/kg、0.65mg/kg、0.7mg/kg、0.75mg/kg、0.8mg/kg、0.85mg/kg、0.9mg/kg、0.95mg/kg、1mg/kg、1.1mg/kg、1.15mg/kg、1.2mg/kg、1.25mg/kg、1.3mg/kg、1.35mg/kg、1.4mg/kg、1.45mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.7mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2mg/kg、2.5mg/kg、3mg/kg、3.5mg/kg、4mg/kg、4.5mg/kg或5mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.0025mg/kg、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.06mg/kg、0.08mg/kg、0.10mg/kg、0.12mg/kg、0.16mg/kg、0.20mg/kg、0.24mg/kg和0.32mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为0.0025mg/kg体重。在一些实施例中，剂量为

0.01mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.015mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.02mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.03mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.04mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.06mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.08mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.12mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.16mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.24mg/kg体重。在一些实施例中,剂量为0.32mg/kg体重。在一些实施例中,根据这些剂量通过IV输注来施用本公开的异二聚体蛋白的组合。

[0215] 在一些实施例中,每天(即,每24小时)施用本公开的异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每周(即,每周一次(Q1W))施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每两周一次(即,每14天一次(Q2W))施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每三周一次(即,每21天一次(Q3W))施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每四周一次(即,每28天一次(Q4W))施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每五周一次(Q5W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每六周一次(Q6W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每七周一次(Q7W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每八周一次(Q8W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每九周一次(Q9W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每十周一次(Q10W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每十一周一次(Q11W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每十二周一次(Q12W)施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每两个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每三个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每四个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每五个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每六个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每七个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每八个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每九个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每十个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每十一个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每十二个月一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,每年一次施用异二聚体蛋白或它们的组合。在一些实施例中,根据本文所公开的频率,通过IV输注来施用本公开的异二聚体蛋白或它们的组合。

[0216] 在一些实施例中,先前未向受试者施用用于治疗该病症的药剂。在一些实施例中,当前正在向受试者施用检查点抑制剂。在一些实施例中,先前已经向受试者施用检查点抑制剂。在一些实施例中,检查点抑制剂靶向PD-1。在一些实施例中,检查点抑制剂靶向PD-L1。在一些实施例中,检查点抑制剂靶向CTLA-4。在一些实施例中,靶向PD-1的检查点抑制剂为抗PD-1抗体。与PD-1特异性结合的抗体为本领域已知的,并且已经在例如Naidoo等人, *Ann Oncol.* 2015; 26 (12) :2375-2391, Philips等人, *Int Immunol.* 2015; 27 (1) :39-46, Tunger等人, *J Clin Med.* 2019; 8 (10) 和Sunshine等人, *Curr Opin Pharmacol.* 2015; 32-8; 和US 8008449、US 8168757、US 20110008369、US 20130017199、US 20130022595中描述,并且在W02006121168、W020091154335、W02012145493、W02013014668、W02009101611、EP2262837和EP2504028中描述。抗PD-1抗体的示例包括但不限于纳武单抗(BMS-936558)、派姆单抗(商品名Keytruda以前称为lambrolizumab;也称为Merck 3475和SCH-900475)、皮

地珠单抗 (CT-011)、西米普利单抗、斯巴达珠单抗 (PDR001)、卡瑞利珠单抗 (SHR1210)、信迪利单抗 (IBI308)、替雷利珠单抗 (BGB-A317)、特瑞普利单抗 (JS 001)、MDX-1106、AMP-514 (Amplimmune) 和 AMP-224 (Amplimmune)。纳武单抗为 W02006/121168 中所述的抗 PD-1 抗体。派姆单抗为 W02009/114335 和 Hamid 等人 (2013). *New England Journal of Medicine* 369 (2):134-44 中所述的抗 PD-1 抗体。皮地珠单抗为与 PD-1 结合的人源化 IgGk 单克隆抗体。皮地珠单抗和其他人源化抗 PD1 单克隆抗体在 W02009/101611 中公开。AMP-224 为 PD-L2 Fc 融合可溶性受体, 该受体阻断 PD-1 与 B7-H1 之间的相互作用, 并且公开于 W02010/027827 和 W02011/066342。其他抗 PD-1 抗体包括 AMP 514 等, 例如在美国专利号 8609089、US 2010028330 和/或 US 20120114649 中公开的抗 PD-1 抗体。在一些实施例中, 抗 PD-1 抗体为纳武单抗。

[0217] 在一些实施例中, 靶向 PD-L1 的检查点抑制剂为抗 PD-L1 抗体。与 PD-L1 特异性结合的抗体为本领域已知的, 并且已经在例如 Naidoo 等人, *Ann Oncol.* 2015 Dec; 26 (12):2375-2391, Philips 等人, *Int Immunol.* 2015 Jan; 27 (1):39-46, Tunger 等人, *J Clin Med.* 2019 Sep 25; 8 (10), Sunshine 等人, *Curr Opin Pharmacol.* 2015:32-8 和美国专利号 7943743 和美国公开号 20120039906 中描述。抗 PD-L1 抗体的示例包括但不限于 BMS-936559 (也称为 MSB-0010718C 和 MDX-1105)、BMS-39886、阿特殊单抗 (MDPL3280A; Tecentriq)、阿维鲁单抗 (Bavencio)、德瓦鲁单抗 (MEDI4736; Imfinzi)、KN035、CK-301 (检查点治疗剂) 和 MSB0010718C。BMS-936559 为 W02007/005874 中所述的抗 PD-L1 抗体。阿特殊单抗为人源化单克隆抗体, 其具有与 PD-L1 结合的人 Fc 优化的 IgG1。BMS-39886 为 JR 等人, *N Engl J Med* 2012; 366:2455-2465 中所述的抗 PD-L1 抗体。在一些实施例中, 抗 PD-L1 抗体为阿特殊单抗。

[0218] 在一些实施例中, 靶向 CTLA-4 的检查点抑制剂为抗 CTLA-4 抗体。与 CTLA-4 特异性结合的抗体为本领域已知的, 并且已经在例如 Callahan MK 等人, *Semin Oncol.* 2010; 37 (5):473-484 中进行了描述。抗 CTLA-4 抗体的示例包括但不限于伊匹木单抗和曲美木单抗。伊匹木单抗和曲美木单抗两者均为针对 CTLA-4 的完全人抗体。伊匹木单抗 (也称为 MDX-010 或 Yervoy; Bristol-Myers Squibb, Princeton, NJ) 为 IgG1, 其中血浆半衰期为 12 天至 14 天 (Hodi, F.S 等人, *The New England Journal of Medicine.* 2010; 363 (8):711-723)。曲美木单抗 (也称为 CP-675,206 或 ticilimumab; Pfizer, New York, NY) 为 IgG2, 其中血浆半衰期为大约 22 天 (Reuben, JM 等人, *Cancer.* 2006; 106 (11):2437-44)。

[0219] 用 IL15-IL15R $\alpha$  异二聚体 Fc 融合蛋白和 PD-L1/PD-1 抑制剂作为组合疗法的进行治疗的方法

[0220] 本公开的另一方面提供了一种如本文所公开的治疗有需要的受试者中的实体瘤的方法, 该方法包括向受试者施用有效量的 (a) 本文所公开的任何异二聚体蛋白 (即, IL15-IL15R $\alpha$  异二聚体 Fc 融合蛋白) 或它们的组合和 (b) 靶向 PD-L1/PD-1 轴的药剂。可以根据任何本文所公开的方法来施用异二聚体蛋白。可以在任何本文所公开的组合物中施用异二聚体蛋白。

[0221] 在一些实施例中, 向受试者施用如本文所公开的异二聚体蛋白中的两种或更多种异二聚体蛋白。在一些实施例中, 向受试者施用如本文所公开的异二聚体蛋白中的三种或更多种异二聚体蛋白。在一些实施例中, 向受试者施用如本文所公开的异二聚体蛋白中的四种或更多种异二聚体蛋白。在一些实施例中, 向受试者施用如本文所公开的异二聚体蛋

白中的五种或更多种异二聚体蛋白。

[0222] 在一些实施例中,向受试者施用第一异二聚体蛋白和第二异二聚体蛋白的组合。在一些实施例中,第一异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的第二单体;并且第二异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的第二单体。

[0223] 程序性死亡配体1 (PD-L1) 为在许多人类癌症中由肿瘤细胞和肿瘤浸润免疫细胞广泛表达的一种细胞表面蛋白。PD-L1的过表达与患有某些癌症的患者的预后不良相关联。PD-L1与PD-1和B7.1结合,这两种已知受体在慢性刺激状态下(诸如慢性感染或癌症)在活化性T细胞上的表达持续存在。PD-L1与PD-1或B7.1的连接抑制了T细胞增殖、细胞因子产生和溶细胞活性,这导致T细胞的功能失活或抑制。据报道,PD-L1在肿瘤细胞上的异常表达阻碍抗肿瘤免疫,从而导致免疫逃逸。中断PD-L1/PD-1和PD-L1/B7.1通路为用于重振肿瘤特异性T细胞免疫的有吸引力的策略,并且事实上,PD-L1或PD-1的多种抑制剂已经证明了在广泛的肿瘤类型中的临床疗效或有前景的抗肿瘤活性,该肿瘤类型包括黑素瘤、RCC、NSCLC、SCLC、尿路上皮膀胱癌、HNSCC、卵巢癌和TNBC。迄今为止,已证实的益处已导致多种抗PD-L1抗体(例如,阿特珠单抗、阿维鲁单抗和德瓦鲁单抗)和抗PD-1抗体(例如,纳武单抗、派姆单抗和西米普利单抗)在选择适应症中的批准。

[0224] 在一些实施例中,靶向PD-L1/PD-1轴的药剂为PD-1的抑制剂。在一些实施例中,靶向PD-L1/PD-1轴的药剂为PD-L1的抑制剂。

[0225] 在一些实施例中,PD-1的抑制剂为抗PD-1抗体。与PD-1特异性结合的抗体为本领域已知的,并且已经在例如Naidoo等人, *Ann Oncol.* 2015; 26 (12) :2375-2391, Philips等人, *Int Immunol.* 2015; 27 (1) :39-46, Tunger等人, *J Clin Med.* 2019; 8 (10) 和Sunshine等人, *Curr Opin Pharmacol.* 2015; 32-8; 和US 8008449、US 8168757、US 20110008369、US 20130017199、US 20130022595中描述,并且在W02006121168、W020091154335、W02012145493、W02013014668、W02009101611、EP2262837和EP2504028中描述。抗PD-1抗体的示例包括但不限于纳武单抗 (BMS-936558)、派姆单抗 (商品名Keytruda以前称为lambrolizumab;也称为Merck 3475和SCH-900475)、皮地珠单抗 (CT-011)、西米普利单抗、斯巴达珠单抗 (PDR001)、卡瑞利珠单抗 (SHR1210)、信迪利单抗 (IBI308)、替雷利珠单抗 (BGB-A317)、特瑞普利单抗 (JS-001)、MDX-1106、AMP-514 (Amplimmune) 和AMP-224 (Amplimmune)。纳武单抗为W02006/121168中所述的抗PD-1抗体。派姆单抗为W02009/114335和Hamid等人 (2013) .*New England Journal of Medicine* 369 (2) :134-44中所述的抗PD-1抗体。皮地珠单抗为与PD-1结合的人源化IgGk单克隆抗体。皮地珠单抗和其他人源化抗PD1单克隆抗体在W02009/101611中公开。AMP-224为PD-L2 Fc融合可溶性受体,该受体阻断PD-1与B7-H1之间的相互作用,并且公开于W02010/027827和W02011/066342。其他抗PD-1抗体包括AMP 514等,例如在美国专利号8609089、US 2010028330和/或US 20120114649中公开的抗PD-1抗体。在一些实施例中,抗PD-1抗体为纳武单抗。在一些实施例中,抗PD-1抗体与XENP24306组合施用。在一些实施例中,抗PD-1抗体与XENP32803组合施用。在一些实施例中,抗PD-1抗体与XENP24306和XENP32803组合施用。在一些实施例中,纳武单抗与XENP24306组合施用。在一些实施例中,纳武单抗与XENP32803组合施用。在一些实

施例中,纳武单抗与XENP24306和XENP32803组合施用。

[0226] 在一些实施例中,PD-L1的抑制剂为抗PD-L1抗体。与PD-L1特异性结合的抗体为本领域已知的,并且已经在例如Naidoo等人,Ann Oncol.2015Dec;26(12):2375-2391,Philips等人,Int Immunol.2015Jan;27(1):39-46,Tunger等人,J Clin Med.2019Sep 25;8(10),Sunshine等人,Curr Opin Pharmacol.2015:32-8和美国专利号7943743和美国公开号20120039906中描述。抗PD-L1抗体的示例包括但不限于BMS-936559(也称为MSB-0010718C和MDX-1105)、BMS-39886、阿特殊单抗(MDPL3280A;Tecentriq)、阿维鲁单抗(Bavencio)、德瓦鲁单抗(MEDI4736;Imfinzi)、KN035、CK-301(检查点治疗剂)和MSB0010718C。BMS-936559为W02007/005874中所述的抗PD-L1抗体。阿特殊单抗为人源化单克隆抗体,其具有与PD-L1结合的人Fc优化的人IgG1。BMS-39886为JR等人,N Engl J Med 2012;366:2455-2465中所述的抗PD-L1抗体。在一些实施例中,抗PD-L1抗体为阿特殊单抗。在一些实施例中,抗PD-L1抗体与XENP24306组合施用。在一些实施例中,抗PD-L1抗体与XENP32803组合施用。在一些实施例中,抗PD-L1抗体与XENP24306和XENP32803组合施用。在一些实施例中,阿特殊单抗与XENP24306组合施用。在一些实施例中,阿特殊单抗与XENP32803组合施用。在一些实施例中,阿特殊单抗与XENP24306和XENP32803组合施用。

[0227] 待与本公开的异二聚体蛋白(或它们的组合)组合施用的靶向PD-L1/PD-1轴的药剂的量取决于施用方式、患者的年龄和体重以及待治疗的癌症的临床症状而变化。在一些实施例中,以其经批准的剂量来施用抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体。医师将能够确定用于与本公开的蛋白质组合施用的适当剂量。在一些实施例中,使用经批准的剂量方案来施用靶向PD-L1/PD-1轴的药剂。在某些实施例中,剂量可以在约0.5mg蛋白质/kg体重至约100mg化合物/kg体重之间变化;或者在约1mg蛋白质/kg体重至约100mg化合物/kg体重;或约2mg蛋白质/kg体重至约50mg化合物/kg体重;或约2.5mg蛋白质/kg体重至约10mg化合物/kg体重或约3mg蛋白质/kg体重至约5mg化合物/kg体重之间变化。在一些实施例中,该剂量可以为约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约3mg/kg、约5mg/kg、约7.5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约25mg/kg、约50mg/kg、约75mg/kg、约100mg/kg体重。在一些实施例中,抗PD-1抗体的剂量为3mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为约3mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为每两周约3mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为约1mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为约240mg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为约480mg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为每两周约240mg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为每四周约480mg。在一些实施例中,抗PD-L1抗体的剂量为约3mg/kg。在一些实施例中,抗PD-L1抗体的剂量为约840mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为约840mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为约1200mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为约1680mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为每2周约840mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为每3周约1200mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为每4周约1680mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为约200mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为每三周约200mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为每两周约200mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为每周约200mg。

[0228] 在某些实施例中,剂量可以在0.5mg蛋白质/kg体重至100mg化合物/kg体重之间变化;或者在1mg蛋白质/kg体重至100mg化合物/kg体重;或2mg蛋白质/kg体重至50mg化合物/

kg体重;或2.5mg蛋白质/kg体重至10mg化合物/kg体重或3mg蛋白质/kg体重至5mg化合物/kg体重之间变化。在一些实施例中,该剂量可以为0.1mg/kg、0.3mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg体重。在一些实施例中,抗PD-1抗体的剂量为3mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为3mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为每两周3mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为1mg/kg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为240mg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为480mg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为每两周240mg。在一些实施例中,纳武单抗的剂量为每四周480mg。在一些实施例中,抗PD-L1抗体的剂量为3mg/kg。在一些实施例中,抗PD-L1抗体的剂量为840mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为840mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为1200mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为1680mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为每2周840mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为每3周1200mg。在一些实施例中,阿特殊单抗的剂量为每4周1680mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为200mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为每三周200mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为每两周200mg。在一些实施例中,派姆单抗的剂量为每周200mg。

[0229] 本文所公开的异二聚体蛋白或它们的组合可以与靶向PD-L1/PD-1轴的药剂(诸如抗PD1或抗PD-L1抗体)同时或依次施用。在一些实施例中,在施用异二聚体蛋白之后施用靶向PD-L1/PD-1轴的药剂。在一些实施例中,在施用异二聚体蛋白之前施用靶向PD-L1/PD-1轴的药剂。在一些实施例中,在相同组合中施用本文所公开的异二聚体蛋白或它们的组合和靶向PD-L1/PD-1轴的药剂(诸如抗PD1或抗PD-L1抗体)。在一些实施例中,在与靶向PD-L1/PD-1轴的药剂(诸如抗PD1或抗PD-L1抗体)不同的组合中施用本文所公开的异二聚体蛋白或它们的组合。

[0230] 在一些实施例中,使用靶向PD-L1/PD-1轴的药剂的治疗为用于癌症的既定疗法,并且将异二聚体蛋白治疗添加至方案中改善了对患者的治疗益处。此类改善可以测量为每个患者的应答增加或患者群体的应答增加。本文所公开的异二聚体蛋白或它们的组合和靶向PD-L1/PD-1轴的药剂可以协同作用。在一些实施例中,本文所公开的异二聚体蛋白或它们的组合可以以小于其作为单一疗法施用时的治疗有效剂量的剂量来进行施用。在一些实施例中,靶向PD-L1/PD-1轴的药剂可以以小于其作为单一疗法施用时的治疗有效剂量的剂量来进行施用。

[0231] 在一些实施例中,靶向PD-L1/PD-1轴的药剂通过IV输注来进行施用。在一些实施例中,在每个14天周期的第1天,靶向PD-L1/PD-1轴的药剂以固定剂量与本公开的异二聚体蛋白组合通过IV输注来进行施用。在一些实施例中,在每个14天周期的第1天,阿特殊单抗以约840mg的剂量与本公开的异二聚体蛋白组合来进行施用。在一些实施例中,在每个14天周期的第1天,阿特殊单抗以840mg的剂量与本公开的异二聚体蛋白组合来进行施用。在一些实施例中,使用经批准的剂量方案来施用阿特殊单抗。在一些实施例中,使用经批准的剂量方案来施用纳武单抗。在一些实施例中,使用经批准的剂量方案来施用派姆单抗。

[0232] 在一些实施例中,先前未向受试者施用用于治疗该病症的药剂。在一些实施例中,当前正在向受试者施用检查点抑制剂。在一些实施例中,先前已经向受试者施用检查点抑制剂。在一些实施例中,检查点抑制剂靶向PD-1。在一些实施例中,检查点抑制剂靶向PD-L1。在一些实施例中,检查点抑制剂靶向CTLA-4。

[0233] 待通过本公开的异二聚体蛋白和靶向PD-L1/PD-1轴的药剂(诸如抗PD1或抗PD-L1抗体)的组合来进行治疗的实体瘤的示例包括但不限于限于癌、淋巴瘤、胚细胞瘤和肉瘤。此类实体瘤的更具体示例包括鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌(cSCC)、小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、胃肠道癌、胃癌(gastric cancer)(GC)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、脂肪肉瘤、软组织肉瘤、尿路上皮癌(UCC)、输尿管和肾盂、多发性骨髓瘤、骨肉瘤、肝细胞瘤、黑素瘤、胃部癌(stomach cancer)、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肾细胞癌(RCC)、肝癌、食道癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝细胞癌、Merkel细胞癌(MCC)、生殖细胞瘤、高微卫星不稳定性(MSI-H)癌和头颈癌。在一些实施例中,实体瘤为局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤。在一些实施例中,实体瘤选自以下项组成的组:黑素瘤、NSCLC、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、三阴性乳腺癌(TNBC)、UCC、RCC、SCLC、GC、MCC、cSCC和MSI-H癌症。在一些实施例中,实体瘤选自黑素瘤、肾细胞癌(RCC)、NSCLC、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌。在一些实施例中,实体瘤选自黑素瘤、RCC、NSCLC、HNSCC和TNBC。在一些实施例中,实体瘤选自黑素瘤、RCC和NSCLC。在一些实施例中,实体瘤选自黑素瘤、NSCLC、HNSCC和TNBC。在一些实施例中,实体瘤为黑素瘤。在一些实施例中,实体瘤为RCC。在一些实施例中,癌症为NSCLC。在一些实施例中,实体瘤为HNSCC。在一些实施例中,实体瘤为TNBC。在一些实施例中,实体瘤为对其而言标准疗法不存在、已被证明无效或无法耐受、或被认为不适当的实体瘤,或对其而言研究药剂的临床试验为公认的护理标准的实体瘤。

[0234] 组合疗法还可以以较低或更低频率给药靶向PD-L1/PD-1轴的药剂(诸如抗PD1或抗PD-L1抗体)来提供经改善的应答,从而产生更好的耐受治疗方案。例如,异二聚体蛋白和靶向PD-L1/PD-1轴的药剂(诸如抗PD1或抗PD-L1抗体)的组合疗法可以通过各种机制(包括增强的ADCC、ADCP和/或NK细胞、T细胞、中性粒细胞或单核细胞水平或免疫应答)来提供增强的临床活性。

#### [0235] 经编号的实施例

[0236] 在以下经编号的实施例中阐述了本公开的特定实施例:

[0237] 1. 一种治疗有需要的受试者的实体瘤的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S;S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q;S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

[0238] 2. 一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞的增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述

第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

[0239] 3.一种用于诱导NK细胞的增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

[0240] 4.一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞和NK细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

[0241] 5.一种用于诱导受试者的IFN $\gamma$ 产生的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15 $\alpha$ 蛋白和第二Fc结构域,其中所述IL-15 $\alpha$ 蛋白共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自以下项组成的组的一组氨基酸取代:S267K/L368D/K370S:S267K/S364K/E357Q;S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411E/K360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;S267K/S364K/E357Q:S267K/L368D/K370S;L368D/K370S:S364K/E357Q;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;S364K/E357L:L368D/K370S;和S364K/E357Q:K370S,根据EU编号。

[0242] 6.根据实施例1至5中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和

N421D。

[0243] 7. 根据实施例1至6中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K;E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G;E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G;和E233P/L234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG1或IgG3 Fc结构域。

[0244] 8. 根据实施例1至6中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:L328R;S239K;和S267K,并且其中Fc结构域衍生自IgG2 Fc结构域。

[0245] 9. 根据实施例1至6中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和/或所述第二Fc结构域中的每一者独立地进一步包含选自由以下项组成的组的氨基酸取代:G236R/L328R;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;E233P/F234V/L235A/G236del/S239K;E233P/F234V/L235A/G236del/S267K;和E233P/F234V/L235A/G236del,并且其中Fc结构域衍生自IgG4 Fc结构域。

[0246] 10. 根据实施例1至9中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N1D、N4D、D8N、D30N、D61N、E64Q、N65D和Q108E。

[0247] 11. 根据实施例1至9中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白和所述IL-15R $\alpha$ 蛋白分别包含选自以下项的一组氨基酸取代或添加:E87C:65DPC;E87C:65DCA;V49C:S40C;L52C:S40C;E89C:K34C;Q48C:G38C;E53C:L42C;C42S:A37C和L45C:A37C。

[0248] 12. 根据实施例1至11中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含选自由以下项组成的组的多肽序列:SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2。

[0249] 13. 根据实施例1至12中任一项所述的方法,其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含选自由以下项组成的组的多肽序列:SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4。

[0250] 14. 根据实施例1至5中任一项所述的方法,其中第一Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;其中第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0251] 15. 根据实施例1至5中任一项所述的方法,其中第一Fc结构域包含氨基酸取代S364K和E357Q;其中第二Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0252] 16. 根据实施例1至5中任一项所述的方法,其中第一Fc结构域包含氨基酸取代L368D和K370S;其中第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、S364K和E357Q;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0253] 17. 根据实施例1至5中任一项所述的方法,其中第一Fc结构域包含氨基酸取代

S364K和E357Q;其中第二Fc结构域包含氨基酸取代K246T、L368D和K370S;并且其中根据EU编号,所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者进一步包含氨基酸取代C220S、E233P、L234V、L235A、G236del、S267K、M428L和N434S;其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D;并且其中所述IL-15R $\alpha$ 蛋白包含SEQ ID NO:4。

[0254] 18. 根据实施例1至17中任一项所述的方法,其中IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端。

[0255] 19. 根据实施例1至18中任一项所述的方法,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。

[0256] 20. 根据实施例1至19中任一项所述的方法,其中IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端,并且IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。

[0257] 21. 根据实施例18至20中任一项所述的方法,其中第一接头和/或第二接头独立地为可变长度Gly-Ser接头。

[0258] 22. 根据实施例21所述的方法,其中第一接头和/或第二接头独立地包含选自由以下项组成的组的接头:(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) $_n$ (SEQ ID NO:39)、(Ser-Ser-Ser-Ser-Gly) $_n$ (SEQ ID NO:40)、(Gly-Ser-Ser-Gly-Gly) $_n$ (SEQ ID NO:41)和(Gly-Gly-Ser-Gly-Gly) $_n$ (SEQ ID NO:42),其中 $n$ 为1与5之间的整数。

[0259] 23. 根据实施例1至22中任一项所述的方法,其中所述异二聚体蛋白选自由以下项组成的组:XENP22822、XENP23504、XENP24045、XENP24306、XENP22821、XENP23343、XENP23557、XENP24113、XENP24051、XENP24341、XENP24052、XENP24301和XENP32803蛋白。

[0260] 24. 一种治疗有需要的受试者的实体瘤的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

[0261] 25. 一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

[0262] 26. 一种用于诱导NK细胞的增殖的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单

体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

[0263] 27.一种用于诱导CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞和NK细胞的增殖的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中所述异二聚体蛋白包含(i)第一单体,所述第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,所述第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

[0264] 28.一种用于诱导受试者的IFN $\gamma$ 产生的方法,该方法包括向受试者施用有效量的异二聚体蛋白,其中异二聚体蛋白包含(i)第一单体,该第一单体包含IL-15蛋白和第一Fc结构域,其中所述IL-15蛋白共价连接至所述第一Fc结构域的N末端,和(ii)第二单体,该第二单体包含IL-15R $\alpha$ 蛋白的sushi结构域和第二Fc结构域,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域共价连接至所述第二Fc结构域的N末端;并且其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域中的每一者包含氨基酸取代E233P、L234V、L235A、G236del和S267K,根据EU编号;并且其中所述IL-15蛋白包含N65D氨基酸取代和选自自由以下项组成的组的一个或多个氨基酸取代:N4D、D30N、E64Q。

[0265] 29.根据实施例24至28中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q。

[0266] 30.根据实施例24至28中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代S364K和E357Q,并且所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代L368D和K370S。

[0267] 31.根据实施例24至30中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第一Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。

[0268] 32.根据实施例24至30中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代Q295E、N384D、Q418E和N421D。

[0269] 33.根据实施例24至32中任一项所述的方法,其中根据EU编号,所述第二Fc结构域进一步包含氨基酸取代K246T。

[0270] 34.根据实施例24至33中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含氨基酸取代D30N、E64Q和N65D。

[0271] 35.根据实施例24至34中任一项所述的方法,其中所述IL-15蛋白包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。

[0272] 36.根据实施例24至35中任一项所述的方法,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白的所述sushi结构域包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。

[0273] 37. 根据实施例24至36中任一项所述的方法,其中IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端。

[0274] 38. 根据实施例24至37中任一项所述的方法,其中IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。

[0275] 39. 根据实施例24至38中任一项所述的方法,其中IL-15蛋白经由第一接头共价连接至第一Fc结构域的N末端,并且IL-15R $\alpha$ 蛋白经由第二接头共价连接至第二Fc结构域的N末端。

[0276] 40. 根据实施例37至39中任一项所述的方法,其中第一接头和/或第二接头独立地为可变长度Gly-Ser接头。

[0277] 41. 根据实施例40所述的方法,其中第一接头和/或第二接头独立地包含选自由以下项组成的组的接头:(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) $_n$ (SEQ ID NO:39)、(Ser-Ser-Ser-Ser-Gly) $_n$ (SEQ ID NO:40)、(Gly-Ser-Ser-Gly-Gly) $_n$ (SEQ ID NO:41)和(Gly-Gly-Ser-Gly-Gly) $_n$ (SEQ ID NO:42),其中 $n$ 为1与5之间的整数。

[0278] 42. 根据实施例1至5和24至28中任一项所述的方法,其中所述第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。

[0279] 43. 根据实施例1至5和24至28中任一项所述的方法,其中所述第一单体包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,并且第二单体包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列。

[0280] 44. 根据实施例1至5和24至28中任一项所述的方法,其中所述异二聚体蛋白为XENP24306、XENP32803或它们的组合。

[0281] 45. 根据实施例1至44中任一项所述的方法,其中向受试者施用第一异二聚体蛋白和第二异二聚体蛋白的组合。

[0282] 46. 根据实施例45所述的方法,其中第一异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的第二单体;并且第二异二聚体蛋白含有包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的第一单体,和包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的第二单体。

[0283] 47. 根据实施例45或46所述的方法,其中同时施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。

[0284] 48. 根据实施例45或46所述的方法,其中依次施用所述第一异二聚体蛋白和所述第二异二聚体蛋白。

[0285] 49. 根据实施例1、6至24和29至48中任一项所述的方法,其中所述实体瘤为局部晚期、复发性或转移性的。

[0286] 50. 根据实施例1、6至24和29至48中任一项所述的方法,其中所述实体瘤选自由以下项组成的组:鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠道癌、胃癌(gastric cancer)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、脂肪肉瘤、软组织肉瘤、尿路上皮癌、输尿管和肾盂、多发性骨髓瘤、骨肉瘤、肝细胞瘤、黑素瘤、胃部癌(stomach cancer)、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肾细胞癌、肝癌、食道癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝细胞癌、Merkel细胞癌、生殖细胞癌、高微卫星不稳定性癌和头颈部鳞状细胞癌。

[0287] 51. 根据实施例50所述的方法,其中所述实体瘤选自黑素瘤、肾细胞癌、非小细胞

肺癌、头颈部鳞状细胞癌和三阴性乳腺癌。

[0288] 52. 根据实施例51所述的方法,其中所述实体瘤选自黑素瘤、肾细胞癌和非小细胞肺癌。

[0289] 53. 根据实施例51所述的方法,其中所述实体瘤选自黑素瘤、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌和三阴性乳腺癌。

[0290] 54. 根据实施例1、6至24和29至53中任一项所述的方法,其中先前未向受试者施用于治疗实体瘤的药剂。

[0291] 55. 根据实施例1、6至24和29至53中任一项所述的方法,其中当前正在向受试者施用检查点抑制剂。

[0292] 56. 根据实施例1、6至24和29至53中任一项所述的方法,其中先前已经向受试者施用检查点抑制剂。

[0293] 57. 根据实施例55或56所述的方法,其中检查点抑制剂靶向PD-1。

[0294] 58. 根据实施例55或56所述的方法,其中检查点抑制剂靶向PD-L1。

[0295] 59. 根据实施例55或56所述的方法,其中检查点抑制剂靶向CTLA-4。

[0296] 60. 根据实施例1至59中任一项所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:约0.0025mg/kg、约0.005mg/kg、约0.01mg/kg、约0.015mg/kg、约0.02mg/kg、约0.025mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.08mg/kg、约0.1mg/kg、约0.12mg/kg、约0.16mg/kg、约0.2mg/kg、约0.24mg/kg和约0.32mg/kg体重。

[0297] 61. 根据实施例60所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:约0.01mg/kg、约0.02mg/kg、约0.04mg/kg和约0.06mg/kg体重。

[0298] 62. 根据实施例1至60中任一项所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:0.0025mg/kg、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.06mg/kg、0.08mg/kg、0.10mg/kg、0.16mg/kg、0.20mg/kg、0.24mg/kg和0.32mg/kg体重。

[0299] 63. 根据实施例62所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的剂量施用所述异二聚体蛋白或异二聚体蛋白的组合:0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.04mg/kg和0.06mg/kg体重。

[0300] 64. 根据实施例1至63中任一项所述的方法,其中以选自由以下项组成的组的频率施用所述异二聚体蛋白:Q1W、Q2W、Q3W、Q4W、Q5W和Q6W。

[0301] 65. 根据实施例64所述的方法,其中以Q2W的频率施用所述异二聚体蛋白。

[0302] 66. 根据实施例1至65中任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括向受试者施用靶向PD-L1/PD-1轴的药剂。

[0303] 67. 根据实施例66所述的方法,其中靶向PD-L1/PD-1轴的所述药剂为抗PD-1抗体。

[0304] 68. 根据实施例67所述的方法,其中抗PD-1抗体选自纳武单抗、派姆单抗、皮地珠单抗、西米普利单抗、斯巴达珠单抗、卡瑞利珠单抗、信迪利单抗、替雷利珠单抗、特瑞普利单抗、MDX-1106、AMP-514和AMP-224。

[0305] 69. 根据实施例68所述的方法,其中靶向PD-L1/PD-1轴的所述药剂为抗PD-L1抗体。

[0306] 70. 根据实施例69所述的方法,其中抗PD-L1抗体选自阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗、阿特珠单抗、BMS-936559、BMS-39886、KN035、CK-301和MSB0010718C。

#### [0307] 实例

[0308] 实例1: XmaAb24306的非临床药理学

[0309] 如下文所详述,在多项体外和体内研究中评估了IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合(XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) (“XENP24306+XENP32803”)),以表征非临床药理学特性。体外研究证明,IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合示出了与人和食蟹猴IL-2/IL-15 $\beta$   $\gamma$  受体复合物(CD122/CD132)的结合,在人和食蟹猴CD8<sup>+</sup> T细胞和NK细胞中具有活性,但在啮齿动物细胞(小鼠和大鼠)中失活。XENP24306+XENP32803示出了增加的新生儿Fc受体(FcRn)结合(在pH 6.0下),但在介导抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)或补体依赖性细胞毒性(CDC)方面不具有效应子功能。体外和体内研究两者均示出了XENP24306+XENP32803优选地扩展CD8<sup>+</sup> T细胞和NK细胞,其中对CD4<sup>+</sup> T辅助淋巴细胞的扩展影响不大,而对Treg群的扩展和与细胞因子释放综合征(CRS)相关联的细胞因子影响最小。

#### [0310] 体外研究

[0311] XENP24306和XENP32803的IL-15组分包含三个氨基酸取代(D30N、E64Q和N65D)。这些取代导致IL-15的效力降低。XENP24306+XENP32803与人和食蟹猴IL-2/IL-15 $\beta$   $\gamma$  受体复合物(CD122/CD132)的结合亲和力用表面等离子体共振来进行确定。在这两个物种之间观察到类似的结合动力学和亲和力,从而确立了作为用于药理学和毒性研究的临床前动物物种的食蟹猴的相关性。

[0312] XENP24306和XENP32803为无效应子的,这通过缺乏与Fc  $\gamma$  R和人补体组分1q(C1q)的结合来证明,并且预期不会经由ADCC或CDC机制来诱导靶细胞杀伤。具体地讲,对Fc区XENP24306和XENP32803进行工程化以去除与人、食蟹猴和小鼠Fc  $\gamma$  R的结合;使用生物层干涉(BLI)法未检测到结合相互作用。还使用BLI评估了XENP24306+XENP32803与人C1q(启动补体系统的C1复合物的关键组分)的结合,并且未观察到结合。

[0313] 此外,对XENP24306和XENP32803的Fc区进行工程化以在较低pH(6.0)下增强与FcRn的结合,目的为延长XmaAb24306的半衰期。用BLI方法确定与人、食蟹猴和小鼠FcRn的结合相互作用,并且在pH 6.0(用于内体运输的生理相关pH)下,XENP24306+XENP32803对这些受体的亲和力显著增强。

[0314] XENP24306+XENP32803物种选择性使用磷酸化STAT5测定来进行评估。IL-15/IL-15R $\alpha$ 受体复合物与表达CD122/CD132的淋巴细胞的结合导致Janus激酶信号转导和转录信号传导通路激活因子的活化,这导致STAT5的磷酸化和随后的细胞增殖。XENP24306+XENP32803不会诱导小鼠或大鼠CD8<sup>+</sup> T细胞中STAT5的磷酸化,从而排除了将啮齿动物用于毒性研究或将同基因小鼠模型用于评估XENP24306+XENP32803的抗肿瘤功效。

[0315] 在体外细胞增殖测定中评估了XENP24306+XENP32803的效力。人CD8<sup>+</sup> T细胞和NK细胞对XENP24306+XENP32803治疗示出了强增殖应答。在这两个靶细胞群体中,与CD8<sup>+</sup> T细胞(半最大有效浓度[EC<sub>50</sub>]:12.7 $\mu$ g/mL)增殖相比,XENP24306+XENP32803对NK细胞示出了相对较高的效力(EC<sub>50</sub>:1.2 $\mu$ g/mL)(图1A和图1B)。除了CD8<sup>+</sup> T细胞和NK细胞增殖外,XENP24306+XENP32803还在人PBMC中诱导IFN  $\gamma$  产生。XENP24306+XENP32803还促进了NK细胞(EC<sub>50</sub>:0.5 $\mu$ g/mL)和CD8<sup>+</sup> T细胞(EC<sub>50</sub>:3.8 $\mu$ g/mL)在食蟹猴PBMC中的增殖,这验证了食蟹猴作为用于药

理学和毒性研究的非临床动物物种。

[0316] XENP24306和XENP32803为效力降低的重组人IL-15,其设计为IL-15/IL-15R $\alpha$ 异源二聚体Fc融合蛋白。观察到XENP24306+XENP32803的效力比重组野生型IL-15低大约900倍,并且比类似形式(野生型IL-15/野生型IL-15R $\alpha$ 异源二聚体Fc融合;命名为XENP22853;SEQ ID NO:11(野生型IL-15-Fc第一单体)和SEQ ID NO:7(IL-15R $\alpha$ -Fc第二单体))的重组野生型IL-15(rIL15)低大约400倍,如CD8<sup>+</sup>末端效应T细胞(图2)上所示。XENP24306+XENP32803效力在不同的人体免疫细胞亚群上进行评估。具体地讲,人PBMC用浓度增加的XENP24306+XENP32803、重组野生型IL15或野生型IL-15/野生型IL-15R $\alpha$ 异源二聚体Fc融合(XENP22853)处理4天,并且由流式细胞术、通过细胞周期蛋白Ki67的细胞内染色来测定增殖。图2示出了通过对CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD28<sup>-</sup>CD95<sup>+</sup>群体进行门控而定义的CD8<sup>+</sup>末端效应T细胞的结果。使用最小二乘法来生成曲线拟合。EC<sub>50</sub>值通过使用激动剂的非线性回归分析与应答以及可变斜率(四参数)方程来进行确定。XENP24306+XENP32803增强了效应记忆性CD8<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>T细胞和NK细胞的活化,如表达细胞增殖标志物Ki67以及细胞活化标志物CD69和CD25的这些细胞亚群的频率增加所指示。XmAb24306对天然CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>T细胞具有最小的影响。

[0317] 执行了两项额外的体外毒性研究(1)使用人细胞质膜蛋白细胞阵列的XENP24306+XENP32803的结合曲线的评估,和(2)由XENP24306+XENP32803诱导的细胞因子释放的评估,这比较了可溶的和固定化的XENP24306+XENP32803诱导细胞因子产生的能力。来自使用经优化的浓度的XENP24306+XENP32803(20 $\mu$ g/mL)的多个实验的数据示出,对于XENP24306+XENP32803,没有识别到令人信服的脱靶结合相互作用。使用未受刺激的人PBMC,体外研究了与XENP24306+XENP32803的细胞因子释放综合征(CRS)的潜在风险。为了评估XENP24306+XENP32803诱导产生与CRS相关联的细胞因子的潜力,以10 $\mu$ g/mL和20 $\mu$ g/mL(比在推荐的FIH剂量(0.01mg/kg)下的血液中的所预测的C<sub>max</sub>(0.23 $\mu$ g/mL)高43倍和87倍)浓度的XENP24306+XENP32803执行人PBMC的体外刺激。XENP24306+XENP32803的固定化和可溶形式均诱导IFN $\gamma$ 产生。使用了XmAb24306的IFN $\gamma$ 诱导的幅度(与媒介物对照相比为9倍至14倍)比用用作阳性对照的抗CD28抗体(与媒介物对照相比为393倍)或抗CD3抗体(与媒介物对照相比为1605倍)所观察到的低许多倍。未观察到任何其他细胞因子(诸如IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-13或TNF)的诱导。XENP24306+XENP32803不诱导已知涉及CRS的炎性细胞因子,诸如IL-6和TNF,这表明XENP24306+XENP32803诱导CRS的风险较低。

#### [0318] 体内研究

[0319] 在XENP24306+XENP32803的单次或重复给药之后,在食蟹猴中评估免疫应答。在XENP24306+XENP32803的IV给药后,未观察到炎性细胞因子,诸如IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF $\alpha$ )和IFN $\gamma$ 的明显升高。观察到其他细胞因子和趋化因子(诸如IP-10、MCP-1(单核细胞趋化蛋白-1)、MIP-1 $\alpha$ (巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$ )、MIP-1 $\beta$ (巨噬细胞炎症蛋白-1 $\beta$ )、TARC(胸腺和活化调节趋化因子)和嗜酸性粒细胞趋化因子)的瞬时升高,这指示PD活性。这些细胞因子和趋化因子的血清浓度在施用1天内达到顶峰,并且在第15天恢复至治疗前水平。可溶性CD25血清浓度在治疗后约第4天达到顶峰,并且在第15天恢复至治疗前水平。

[0320] XENP24306+XENP32803治疗扩展了外周血中的CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞数量,从而验证了预期免疫细胞群体的靶向。在血淋巴细胞最初减少之后,可能是由于着边,CD8<sup>+</sup>T细胞

和NK细胞表现出超过治疗前水平的剂量依赖性扩展。给药后一周达到血液中的峰值应答,并且2周之后细胞计数似乎恢复至接近治疗前水平。扩展了CD8<sup>+</sup>记忆T细胞亚群,包括中央和效应记忆性、末端效应和干细胞记忆性细胞,但未扩展天然CD8<sup>+</sup>T细胞。CD4<sup>+</sup>T细胞、Treg、B细胞和粒细胞示出最小的扩展或对XENP24306+XENP32803没有应答。在这些靶细胞群体中也观察到Ki67表达(细胞增殖标志物)频率的瞬时和剂量依赖性增加,这与绝对细胞数量的扩展一致。XENP24306+XENP32803(0.03mg/kg、0.2mg/kg和0.6mg/kg,Q2W)的重复给药示出,每次给药后细胞因子和趋化因子应答的瞬时升高。对XENP24306+XENP32803的应答为剂量依赖性的,并且细胞因子、趋化因子和sCD25水平的变化为可逆的。重复给药毒性研究证明,每次给药后外周血中CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞扩展(在中剂量下为大约6倍,而在高剂量下为大约14倍至17倍)为瞬时的,其中在重复的XENP24306+XENP32803处理之后观察到较低的峰值计数(图3)。在4周的恢复期后,外周CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞数量恢复至治疗前水平。

[0321] 在小鼠移植抗宿主病(GVHD)模型中的重复给药研究中,测试了XENP24306+XENP32803增强白细胞增殖和效应子活性的能力。XENP24306+XENP32803(以0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg或0.3mg/kg四种剂量水平,在第0天、第7天、第14天和第21天给药)作为单一药剂,在移植有人PBMC的非肥胖型糖尿病/严重联合免疫缺陷 $\gamma$ (NSG)小鼠中进行了评估。本研究监测了针对小鼠宿主的免疫应答,该免疫应答可通过GVHD的临床体征(即,体重减轻和死亡率)和免疫监测评估(例如外周人CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数以及血清IFN $\gamma$ 浓度的升高)来进行测量。在用0.3mg/kg的XENP24306+XENP32803治疗的小鼠中,观察到剂量依赖性GVHD诱导的活性,并且看到体重显著减轻,而在较低剂量下检测到CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数和血清IFN $\gamma$ 浓度显著升高。观察到CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数的时间(第7天、第14天、第21天)和剂量依赖性增加。仅在第14天在所测试的两个最高剂量水平处观察到CD4<sup>+</sup>T细胞的扩展。由NK细胞扩展增加所表现出的最小药理活性剂量为0.01mg/kg,而需要更高剂量以证明CD8<sup>+</sup>T细胞和血清IFN $\gamma$ 的显著增强。因此,XENP24306+XENP32803促进了导致GVHD的CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞的增殖和效应子增强。

[0322] XENP24306+XENP32803(以0.1mg/kg、0.3mg/kg或1.0mg/kg三种剂量水平,在第0天、第7天、第14天和第21天给药)作为单一药剂,在小鼠中评估其抗肿瘤功效。移植有MCF-7人乳腺癌细胞和人PBMC的NSG小鼠用于确定XENP24306+XENP32803是否促进了抗肿瘤应答。当作为单一药剂给予时,在所有XENP24306+XENP32803剂量水平(0.1mg/kg、0.3mg/kg和1.0mg/kg)下观察到如肿瘤生长减少所指示的显著抗肿瘤活性。测量了外周CD8<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数以及血清IFN $\gamma$ 浓度的时间和剂量依赖性升高,这证明XENP24306+XENP32803促进了抗肿瘤应答。

[0323] 实例2:动物中的药代动力学和药物代谢

[0324] XENP24306(~82%)和XENP32803(~18%)的组合("XENP24306+XENP32803")以可比较的亲和力与人和食蟹猴IL-2/IL-15 $\beta$  $\gamma$ 异二聚体受体复合物结合,并且对人和食蟹猴CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞均有活性。因此,在食蟹猴中研究了XENP24306+XENP32803的药代动力学(PK),以支持良好实验室规范(GLP)毒性研究的剂量选择,并且支持在首次人体(FIH)研究中选择剂量和剂量方案。为了支持GLP毒性研究,开发并验证了一种电化学发光测定法,以量化食蟹猴血清样品中的XENP24306+XENP32803。山羊抗人IL-15R $\alpha$ 抗体用作捕获物,而小鼠抗人/灵长类动物IL-15生物素化抗体和磺基标记的链霉亲和素用作主要和次要检测

试剂。定量下限 (LLOQ) 为30.0ng/mL。

[0325] 开发了一种时间分辨荧光法以量化食蟹猴血清样品中非GLP PK/PD研究中的XENP24306+XENP32803浓度。该测定中的LLOQ为1.4ng/mL。

#### [0326] 食蟹猴中的单剂量药代动力学

[0327] 进行了经设计用于评估功效并且用于帮助定义GLP研究设计的最大耐受剂量的初步试点研究。XENP24306+XENP32803的单剂量药代动力学以雄性3.0mg/kg和雌性0.6mg/kg在食蟹猴中的两项独立的PK/PD研究中进行了表征。在向雄性食蟹猴进行单次3.0mg/kg IV施用后,XENP24306+XENP32803示出多相曲线,其中平均清除率(CL)为66.4mL/天/kg并且平均稳态分布体积( $V_{ss}$ )为107mL/kg。平均 $C_{max}$ 和暴露量(从时间0至无穷大的浓度-时间曲线下面积[AUC $_{0-\infty}$ ])分别为69.6 $\mu$ g/mL和45.4天 $\cdot$  $\mu$ g/mL。在向雌性食蟹猴单次IV施用0.6mg/kg的XENP24306+XENP32803之后,平均 $C_{max}$ 为11.9 $\mu$ g/mL,暴露量(AUC $_{0-\infty}$ )为11.7天 $\cdot$  $\mu$ g/mL,CL为52.6mL/天/kg,和 $V_{ss}$ 为89.0mL/kg。参见表3。

[0328] 表3. 在雄性食蟹猴中的单次静脉内3.0mg/kg剂量和雌性食蟹猴中的单次静脉内0.6mg/kg剂量之后,XENP24306+XENP32803的汇总(平均值 $\pm$ SD)药代动力学参数

PK参数	3.0mg/kg (雄性;n=3)	0.6mg/kg (雌性;n=3)
$C_{max}$ ( $\mu$ g/mL)	69.6 $\pm$ 5.03	11.9 $\pm$ 0.618
AUC $_{0-\infty}$ (天 $\cdot$ $\mu$ g/mL)	45.4 <sup>a</sup>	11.7 $\pm$ 2.1
CL (mL/天/kg)	66.4 <sup>a</sup>	52.6 $\pm$ 8.81
$V_{ss}$ (mL/kg)	107 <sup>a</sup>	89.0 $\pm$ 4.58

[0330] <sup>a</sup> 2只动物的平均值,因此没有报告SD。不能良好地耐受3.0mg/kg剂量。

#### [0331] 食蟹猴中的重复给药药代动力学

[0332] 在食蟹猴中,XENP24306+XENP32803的毒代动力学(TK)在5周GLP重复给药的毒性研究中进行了表征。以14天的间隔给予三种剂量水平(0.03mg/kg、0.2mg/kg和0.6mg/kg的XENP24306+XENP32803),共3剂。在所有动物中均证实了全身暴露量,并且在食蟹猴的XENP24306+XENP32803暴露中未观察到性别差异(图4)。在第一剂量之后, $C_{max}$ 呈剂量比例。通过重复给药而有降低 $C_{max}$ 的轻微趋势;然而,在第一次、第二次和第三次给药之后, $C_{max}$ 的范围(平均值 $\pm$ SD)重叠。在第一剂量之后,AUC $_{0-14}$ 略小于剂量比例。除此之外,暴露量(AUC)随着重复的XENP24306+XENP32803给药而降低,特别是在0.2mg/kg剂量(从7.74天 $\cdot$  $\mu$ g/mL至5.96天 $\cdot$  $\mu$ g/mL,降低22%)和0.6mg/kg剂量(从21.1天 $\cdot$  $\mu$ g/mL至14.9天 $\cdot$  $\mu$ g/mL,降低30%;表4)下。在重复给药后全身暴露量(AUC)的降低可能归因于由于靶细胞群体增加而导致的TMDD的增加。在第一剂量之后的XENP24306+XENP32803 CL的范围为18mL/天/kg至28mL/天/kg,并且 $V_{ss}$ 范围为52mL/kg至86mL/kg。在这些研究中观察到的XENP24306+XENP32803的高于正常的IgG清除率(对于典型IgG,<10mL/天/kg)可能为TMDD的结果。观察XENP24306+XENP32803跨剂量水平的时变的非线性PK行为,如第一剂量之后随着剂量增加而增加的CL和重复给药之后AUC $_{0-14}$ 的进一步小于剂量比例的增加所指示。预期XENP24306+XENP32803在人中会存在类似的PK行为。如本研究中所观察到的,预期响应于XENP24306+XENP32803给药的靶细胞群体增加会增加TMDD效应,从而导致时变药代动力学。如AUC值降低所指示,重复施用之后未观察到积累,其中第一剂量与第二剂量之间的AUC比率为0.704倍至0.991倍(表4)。

[0333] 表4.Q2W (每2周) 静脉内给药之后, 食蟹猴中XENP24306+XENP32803的组平均值(±SD) 毒代动力学参数(雄性和雌性组合)。

毒代动力学参数	2 组 (0.03 mg/kg)	3 组 (0.2 mg/kg)	4 组 (0.6 mg/kg)
$C_{max}$ , 第一剂量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0.750±0.0410	5.03 ± 0.851	14.7 ± 1.73
$C_{max}$ , 第二剂量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0.776 ± 0.0415	4.73 ± 0.455	13.6 ± 1.88
$C_{max}$ , 第三剂量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0.687 ± 0.0510	4.75 ± 0.555	12.4 ± 1.58
[0334] $AUC_{0-14}$ , 第一剂量 (天· $\mu\text{g/mL}$ )	1.56 ± 0.148	7.74 ± 0.960	21.1 ± 1.21
$AUC_{0-14}$ , 第二剂量 (天· $\mu\text{g/mL}$ )	1.55 ± 0.247	5.96 ± 0.489	14.9 ± 1.36
CL, 第一剂量 ( $\text{mL/天/kg}$ )	17.9 ± 2.22	26.0 ± 3.09	28.4 ± 1.61
$V_{ss}$ , 第一剂量 ( $\text{mL/kg}$ )	86.2 ± 6.31	56.1 ± 5.72	52.3 ± 6.98

[0335] 实例3:药效学作用

[0336] 对细胞因子、趋化因子和可溶性CD25的影响

[0337] 在两项独立的食蟹猴PK/PD研究中, 在单剂量0.6mg/kg或3.0mg/kg的IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合(XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%)) (“XENP24306+XENP32803”)之后, 评估细胞因子)。在0.6mg/kg和3.0mg/kg的XENP24306+XENP32803剂量下, 血清标志物以及细胞因子和趋化因子的升高在给药后8小时至16小时内达到顶峰, 并且通常在第15天恢复至治疗前水平。在XENP24306+XENP32803治疗之后升高的血清标志物包括嗜酸性粒细胞趋化因子、嗜酸性粒细胞趋化因子-3、IL-8、IP-10、MCP-1、MCP-4、MDC、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 和TARC。这些细胞因子和趋化因子的表达增加可能进一步有助于由XENP24306+XENP32803诱导的淋巴细胞扩展。

[0338] 在两项独立的PK/PD研究中, 在单剂量的0.6mg/kg或3.0mg/kg的XENP24306+XENP32803之后, 评估了sCD25/IL-2R $\alpha$ 。在0.6mg/kg和3.0mg/kg的XENP24306+XENP32803剂量组处, 在给药之后sCD25的模式3天至4天示出逐渐增加, 这与T细胞上的CD25表达一致。

[0339] 对淋巴细胞的影响

[0340] 在单剂量的0.6mg/kg或3.0mg/kg的XENP24306+XENP32803之后, 淋巴细胞轻度至中度减少, 直至给药后3天。随后为可变的、剂量依赖性的、中度至显著的增加, 该增加在给药之后7至9天达到顶峰。淋巴细胞随后在研究结束时恢复或部分恢复至治疗前水平。单核细胞倾向于对淋巴细胞进行镜像, 但程度要小得多。对0.6mg/kg剂量的动物执行的血液涂片检查发现许多淋巴细胞为非典型的/反应性的。

[0341] 单核细胞浸润

[0342] 在单剂量0.6mg/kg的XENP24306+XENP32803之后, 在肝血窦中观察到轻微到轻度的单核细胞浸润。在单剂量的3.0mg/kg的XENP24306+XENP32803下, 在肝脏、肾、肺、空肠、膀胱和皮肤中观察到单核细胞浸润。

[0343] 实例4:重复给药毒性

[0344] 进行了两项重复剂量的GLP研究: (1) 该实例中所述的具有4周恢复期的5周毒性研

究和(2)实例5中所述的专用心血管安全药理学研究。

[0345] 在雄性和雌性食蟹猴中进行了5周重复给药GLP毒性研究,以评估IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合(XENP24306(~82%) 和XENP32803(~18%) (“XENP24306+XENP32803”))的毒性、药理学和TK。动物或者接受媒介物(对照组),或者在第1天、第15天和第29天经由IV推注来用0.03mg/kg、0.2mg/kg或0.6mg/kg的XENP24306+XENP32803进行给药,并且在第34天(主要研究群组)或第64天进行尸检(恢复群组;对照和0.6mg/kg的XmAb24306)。30天的恢复期设计为评估任何XENP24306+XENP32803相关效应的可逆性或持久性。

[0346] 毒性的评估基于临床观察、体重、定性食物评估、眼科、ECG、临床病理学参数(血液学、凝血、临床化学、尿液分析和尿液化学)、生物分析和TK参数、ADA、细胞因子、流式细胞术分析、大体尸检结果、器官重量和组织病理学检查。

[0347] TK分析证实了XENP24306+XENP32803在所有所测试的剂量水平下的全身暴露量。不同性别之间的暴露量没有差异。在第一剂量之后, $C_{max}$ 呈剂量比例。在第一剂量之后, $AUC_{0-14}$ 随剂量增加,但略小于剂量比例,并且重复给药后暴露量(AUC)降低。在食蟹猴中,XENP24306+XENP32803似乎在所测试的剂量水平下由于TMDD而具有非线性动力学(实例2)。

[0348] 重复给药GLP毒性研究中的所有发现均与T细胞和NK细胞扩展和活化的预期药理学应答一致,伴有相关联的促炎性应答。根据专用的重复剂量GLP毒性研究定义的NOAEL经确定为0.03mg/kg的XENP24306+XENP32803。在实例5中描述了将0.01mg/kg所提出的XENP24306+XENP32803 FIH剂量以IV Q2W给药至NOAEL的对应安全性边际。

[0349] 实例5:安全药理学

[0350] 在遥测仪器检测的雄性食蟹猴(每组四只,包括一个媒介物对照组)中执行了一项单独的、专门的GLP安全药理学研究,以评估IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合(XENP24306(~82%) 和XENP32803(~18%) (“XENP24306+XENP32803”))对心血管系统的潜在影响。在第1天和第15天通过IV推注注射以0.03mg/kg、0.2mg/kg和0.6mg/kg(与GLP毒性研究中的剂量相同)施用XENP24306+XENP32803,并且动物在第23天返回集落。评估了以下参数和终点:临床体征、食物消耗(定性评估)、体重、心血管评估(收缩压、舒张压和MAP、心率和ECG(包括定性评估以及RR-、PR-、QRS-和QT间期和衍生的心率校正QT[QTca]间期的测量)、体温、血清白蛋白浓度和XENP24306+XENP32803暴露量和ADA发生率。

[0351] XENP24306+XENP32803在所有剂量(0.03mg/kg、0.2mg/kg和0.6mg/kg)下临床耐受性良好,其中所有动物均在研究期间存活,并且无需兽医干预。在任何剂量下均未观察到不良临床体征、与测试制品相关的食物消耗变化、体重变化或ECG异常。食蟹猴的ECG在定性上被认为是正常的,其中在PR-、QRS-或QTca-间期中没有与治疗相关的变化。

[0352] XENP24306+XENP32803的全身暴露量在所有剂量水平下均得到证明。在研究期间未发生体重或定性食物消耗的与治疗相关的变化。

[0353] 基于来自食蟹猴中GLP研究的全部发现,无可见有害作用水平(NOAEL)剂量被认为是0.03mg/kg的XENP24306+XENP32803。由于XENP24306+XENP32803的免疫激动剂特性,因此FIH剂量的确定基于最低预期生物学效应水平(MABEL)方法。建议将作为单一药剂的0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803,IV的剂量作为XENP24306+XENP32803的FIH剂量。该FIH剂量基于 $EC_{20}$ (0.23 $\mu$ g/mL;20位供体的几何平均值),并且使用人PBMC中的体外NK细胞(CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>)增殖(表达Ki67的细胞的百分比)来进行衍生,这是用XENP24306+XENP32803进行的

最敏感体外测定。参见图1。推荐的0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803的FIH剂量预期为安全的,并且预期提供最低生物学效应和最低的人中治疗介导的反应风险。在人中以推荐的FIH剂量(即0.01mg/kg) IV施用的XENP24306+XENP32803的 $C_{max}$ 预期不会超过该 $EC_{20}$ 水平。人中0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803的起始剂量具有三倍于食蟹猴中5周GLP毒性研究中的NOAEL剂量(0.03mg/kg的XENP24306+XENP32803, Q2W)的安全性边际。在人中以0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803 IV施用的XENP24306+XENP32803的 $C_{max}$ 预期比在食蟹猴中的NOAEL剂量下观察到的 $C_{max}$  ( $0.75 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$ ; 第一剂量)低3.3倍。参见表5。此外,在人中在0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803下的AUC预期比在食蟹猴中在NOAEL剂量下观察到的AUC低1.8倍(表5)。总之,在相关的非临床GLP毒性模型(食蟹猴)中,在XENP24306+XENP32803的NOAEL下观察到的 $C_{max}$ 和AUC进一步支持基于MABEL的0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803 IV的起始剂量并且提供足够的安全性边际(表5)以用于研究。

[0354] XENP24306+XENP32803在人中的给药频率为Q2W,并且由5周食蟹猴GLP毒性研究来进行支持,其中当以Q2W进行给予时,XENP24306+XENP32803通常耐受性良好,并且没有显著的急性毒性。在给药之后一周达到顶峰的外周PD应答(靶细胞扩展,诸如NK和 $CD8^+$  T细胞),并且在XENP24306+XENP32803施用之后,这些外周靶细胞计数在2周结束时朝向其基线下降。此外,指示PD活性的细胞因子和趋化因子在给药后8小时至16小时之间达到顶峰,并且在给药14天内恢复至基线(参见实例3)。因此,在使用XENP24306+XENP32803的单一疗法剂量递增研究中,初始给药频率Q2W被认为是适当的,其中剂量限制性毒性观察期涵盖研究治疗的第一周期。

[0355] 表5. 在所提出的FIH剂量下的XENP24306+XENP32803的非临床安全性边际估计: XENP24306+XENP32803的推荐起始剂量(0.01mg/kg, Q2W)与在食蟹猴中5周GLP毒性研究中的NOAEL(0.03mg/kg, Q2W)的基于剂量、AUC和 $C_{max}$ 的暴露倍数

	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	AUC (天· $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>a</sup>	剂量 (mg/kg)
[0356] 人中起始剂量: 0.01 mg/kg 预期值	0.23	0.86	0.01
食蟹猴中的 NOAEL: 0.03 mg/kg 观察值	0.75	1.56	0.03
安全性边际	3.3x	1.8x	3x

[0357] AUC=浓度-时间曲线下面积; $C_{max}$ =观察到的最大血清浓度;GLP=良好实验室规范;IV=静脉内;NOAEL=无可见有害作用水平;Q2W=每2周。

[0358] <sup>a</sup>  $AUC_{\text{人}}$ 为所预测的 $AUC_{0-14}$ (即,剂量/缩放人清除率),而 $AUC_{\text{cyno}}$ 为在食蟹猴中5周GLP毒性研究中以NOAEL(0.03mg/kg)施用的第一剂量之后,所观察到的 $AUC_{0-14}$ 。缩放人清除率=11.6mL/天/kg。

[0359] 实例6: IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组的单一疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究

[0360] 将进行一项单一疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究,以评估IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合(XENP24306(~82%) 和XENP32803(~18%)) (“XENP24306+XENP32803”)的安全性、耐受性药代动力学和活性。

[0361] 该研究由长达28天的筛选期、治疗期和治疗后90天的最小随访期组成。

[0362] 患者将在两个阶段入组：剂量递增阶段和扩展阶段。

[0363] 大约21位至54位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤患者将入组剂量递增阶段研究。XENP24306+XENP32803的初始剂量将为0.01mg/kg Q2W。XENP24306+XENP32803将通过IV输注来进行施用。对于每个连续的群组，XENP24306+XENP32803剂量将增加先前剂量水平的至多100%，直至观察到安全阈值(定义为在给定群组中，在DLT评估窗口期间，1位患者中的剂量限制性毒性(DLT)或至少2位患者中不归因于其他明确可识别的原因的≥2级主要器官不良事件)。随后，将遵循3+3+3设计以递增的剂量水平来评估3位至9位患者的群组的每位患者，以确定单药剂XENP24306+XENP32803的最大耐受剂量(MTD)或最大施用剂量(MAD)。图7。

[0364] 本研究中的患者将在筛选期间(持续≤28天)初步评估是否具有资格。在确认资格后，患者将在每个14天周期(Q2W)的第一天通过IV输注来接受0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803。将评估XENP24306+XENP32803 PK。每周并且之后以更低的频率将通过体格检查和血液采集以用于常规血液学和代谢实验室评估，来对患者进行评估，持续时间为剂量递增期间的XENP24306+XENP32803治疗的前八个周期、扩展期间的前两个周期。肿瘤评估将在基线处和研究开始之后进行。

[0365] 入组单一疗法剂量递增群组的已清除群组(即回填群组)的患者必须具有以下PD-L1选择的肿瘤类型中的一种类型：黑素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、三阴性乳腺癌(TNBC)、尿路上皮癌(UCC)、肾细胞癌(RCC)、小细胞肺癌(SCLC)、GC、Merkel细胞癌(MCC)、皮肤鳞状细胞癌(cSCC)、高微卫星不稳定性(MSI-H)癌。

[0366] 大约185位至240位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的恶性肿瘤患者将入组该研究的扩展群组，该患者在可用标准治疗之后产生进展；或标准疗法已被证明对其无效或无法耐受，或被认为对其不适当的；或对其而言研究药剂的临床试验为公认的护理标准。该扩展阶段将由经限定的患者群组组成，以更好地表征XENP24306+XENP32803作为单一药剂的安全性、药代动力学、PD活性和初步抗肿瘤活性。XENP24306+XENP32803将在扩展阶段中通过IV输注来进行施用。将在剂量递增中确定的MTD/MAD处或以下提出临时XENP24306+XENP32803推荐的扩展剂量(RED)。一旦提出XENP24306+XENP32803的RED，则额外的患者将入组扩展阶段并且以RED进行治疗。

[0367] 在整个研究过程中以及在最后一剂研究治疗药物后至少90天或直至开始另一种全身抗癌疗法之前(以先发生者为准)，将密切监测所有患者的不良事件。不良事件将根据NCI CTCAE v5.0进行分级。

[0368] 为了表征XENP24306+XENP32803作为单一药剂的药代动力学、免疫原性应答和PD特性，将在给药前后的不同时间点处采集血样。

[0369] 在研究期间，患者将在筛选(基线)时接受肿瘤评估并且以规律间隔接受肿瘤评估，这将通过实体瘤疗效评价标准(RECIST) v1.1来进行测量。本研究中还将使用针对基于免疫的治疗剂的经修订RECIST v1.1(iRECIST)，以更好地表征与癌症免疫疗法(CIT)相关联的不同应答模式，并且以允许更好地了解XENP24306+XENP32803的初步活性概况。iRECIST旨在补充本研究中的标准RECIST v1.1，以允许研究者对患者的益处和风险进行综合评估。

[0370] 本研究的活性目标为基于以下终点,对XENP24306+XENP32803作为单一药剂施用时的活性进行初步评估:

[0371] ■ XENP24306+XENP32803的血清浓度;

[0372] ■ 发生不良事件的参与者百分比;

[0373] ■ 客观缓解率(ORR),其定义为发生完全缓解(CR)或部分缓解(PR)的患者比例;

[0374] ■ 缓解持续时间(DOR),其定义为从首次发生有记录的客观缓解到产生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);

[0375] ■ 入组后的无进展生存期(PFS),其定义为从入组到首次发生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);以及

[0376] ■ 入组后的总存活(OS),其定义为从入组到因任何原因死亡的时间。

[0377] 本研究的安全性目标为基于不良事件的发生率和严重程度以及基于目标生命体征或临床实验室测试结果或ECG参数相对于基线的变化,评估XENP24306+XENP32803作为单一药剂施用时的安全性。

[0378] 本研究的药代动力学(PK)目标为基于XENP24306+XENP32803在指定时间点处的血清浓度,表征XENP24306+XENP32803作为单一药剂施用时的PK曲线。

[0379] 本研究的免疫原性目标为基于在基线处的对XENP24306+XENP32803的ADA和在研究期间对XENP24306+XENP32803的ADA发生率,评估对作为单一药剂(Ia)施用时的XENP24306+XENP32803的免疫应答。

[0380] 实例7:XENP24306的单一疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究

[0381] 将进行一项单一疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究,以评估XENP24306的安全性、耐受性药代动力学和活性。

[0382] 该研究由长达28天的筛选期、治疗期和治疗后90天的最小随访期组成。

[0383] 患者将在两个阶段入组:剂量递增阶段和扩展阶段。

[0384] 大约21位至54位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤患者将入组剂量递增阶段研究。XENP24306的初始剂量将为0.01mg/kg Q2W。XENP24306将通过IV输注来进行施用。对于每个连续的群组,XENP24306剂量将增加先前剂量水平的至多100%,直至观察到安全阈值(定义为在给定群组中,在DLT评估窗口期间,1位患者中的剂量限制性毒性(DLT)或至少2位患者中不归因于其他明确可识别的原因的 $\geq 2$ 级主要器官不良事件)。随后,将遵循3+3+3设计以递增的剂量水平来评估3位至9位患者的群组的每位患者,以确定单药剂XENP24306的最大耐受剂量(MTD)或最大施用剂量(MAD)。图7。

[0385] 本研究中的患者将在筛选期间(持续 $\leq 28$ 天)初步评估是否具有资格。在确认资格后,患者将在每个14天周期(Q2W)的第一天通过IV输注来接受0.01mg/kg的XENP24306。将评估XENP24306 PK。每周并且之后以更低的频率将通过体格检查和血液采集以用于常规血液学和代谢实验室评估,来对患者进行评估,持续时间为剂量递增期间的XENP24306治疗的前八个周期、扩展期间的前两个周期。肿瘤评估将在基线处和研究开始之后进行。

[0386] 入组单一疗法剂量递增群组的已清除群组(即回填群组)的患者必须具有以下PD-L1选择的肿瘤类型中的一种类型:黑素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、三阴性乳腺癌(TNBC)、尿路上皮癌(UCC)、肾细胞癌(RCC)、小细胞肺癌(SCLC)、GC、Merkel细胞癌(MCC)、皮肤鳞状细胞癌(cSCC)、高微卫星不稳定性(MSI-H)癌。

[0387] 大约185位至240位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的恶性肿瘤患者将入组该研究的扩展群组,该患者在可用标准治疗之后产生进展;或标准疗法已被证明对其无效或无法耐受,或被认为对其不适当的;或对其而言研究药剂的临床试验为公认的护理标准。该扩展阶段将由经限定的患者群组组成,以更好地表征XENP24306作为单一药剂的安全性、药代动力学、PD活性和初步抗肿瘤活性。XENP24306将在扩展阶段中通过IV输注来进行施用。将在剂量递增中确定的MTD/MAD处或以下提出临时XENP24306推荐的扩展剂量(RED)。一旦提出XENP24306的RED,则额外的患者将入组扩展阶段并且以RED进行治疗。

[0388] 在整个研究过程中以及在最后一剂研究治疗药物后至少90天或直至开始另一种全身抗癌疗法之前(以先发生者为准),将密切监测所有患者的不良事件。不良事件将根据NCI CTCAE v5.0进行分级。

[0389] 为了表征XENP24306作为单一药剂的药代动力学、免疫原性应答和PD特性,将在给药前后的不同时间点处采集血样。

[0390] 在研究期间,患者将在筛选(基线)时接受肿瘤评估并且以规律间隔接受肿瘤评估,这将通过实体瘤疗效评价标准(RECIST) v1.1来进行测量。本研究中还将使用针对基于免疫的治疗剂的经修订RECIST v1.1 (iRECIST),以更好地表征与癌症免疫疗法(CIT)相关联的不同应答模式,并且以允许更好地了解XENP24306的初步活性概况。iRECIST旨在补充本研究中的标准RECIST v1.1,以允许研究者对患者的益处和风险进行综合评估。

[0391] 本研究的活性目标为基于以下终点,对XENP24306作为单一药剂施用时的活性进行初步评估:

[0392] ■ XENP24306的血清浓度;

[0393] ■ 发生不良事件的参与者百分比;

[0394] ■ 客观缓解率(ORR),其定义为发生完全缓解(CR)或部分缓解(PR)的患者比例。

[0395] ■ 缓解持续时间(DOR),其定义为从首次发生有记录的客观缓解到产生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);

[0396] ■ 入组后的无进展生存期(PFS),其定义为从入组到首次发生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);以及

[0397] ■ 入组后的总存活(OS),其定义为从入组到因任何原因死亡的时间。

[0398] 本研究的安全性目标为基于不良事件的发生率和严重程度以及基于目标生命体征或临床实验室测试结果或ECG参数相对于基线的变化,评估XENP24306作为单一药剂施用时的安全性。

[0399] 本研究的药代动力学(PK)目标为基于XENP24306在指定时间点处的血清浓度,表征XENP24306作为单一药剂施用时的PK曲线。

[0400] 本研究的免疫原性目标为基于在基线处的对XENP24306的ADA和在研究期间对XENP24306的ADA发生率,评估对作为单一药剂(Ia)施用时的XENP24306的免疫应答。

[0401] 实例8:XENP32803的单一疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究

[0402] 将进行一项单一疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究,以评估XENP32803的安全性、耐受性药代动力学和活性。

[0403] 该研究由长达28天的筛选期、治疗期和治疗后90天的最小随访期组成。

[0404] 患者将在两个阶段入组:剂量递增阶段和扩展阶段。

[0405] 大约21位至54位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤患者将入组剂量递增阶段研究。XENP32803的初始剂量将为0.01mg/kg Q2W。XENP32803将通过IV输注来进行施用。对于每个连续的群组，XENP32803剂量将增加先前剂量水平的至多100%，直至观察到安全阈值(定义为在给定群组中，在DLT评估窗口期间，1位患者中的剂量限制性毒性(DLT)或至少2位患者中不归因于其他明确可识别的原因的 $\geq 2$ 级主要器官不良事件)。随后，将遵循3+3+3设计以递增的剂量水平来评估3位至9位患者的群组的每位患者，以确定单药剂XENP32803的最大耐受剂量(MTD)或最大施用剂量(MAD)。图7。

[0406] 本研究中的患者将在筛选期间(持续 $\leq 28$ 天)初步评估是否具有资格。在确认资格后，患者将在每个14天周期(Q2W)的第一天通过IV输注来接受0.01mg/kg的XENP32803。将评估XENP32803 PK。每周并且之后以更低的频率将通过体格检查和血液采集以用于常规血液学和代谢实验室评估，来对患者进行评估，持续时间为剂量递增期间的XENP32803治疗的前八个周期、扩展期间的前两个周期。肿瘤评估将在基线处和研究开始之后进行。

[0407] 入组单一疗法剂量递增群组的已清除群组(即回填群组)的患者必须具有以下PD-L1选择的肿瘤类型中的一种类型：黑素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、三阴性乳腺癌(TNBC)、尿路上皮癌(UCC)、肾细胞癌(RCC)、小细胞肺癌(SCLC)、GC、Merkel细胞癌(MCC)、皮肤鳞状细胞癌(cSCC)、高微卫星不稳定性(MSI-H)癌。

[0408] 大约185位至240位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的恶性肿瘤患者将入组该研究的扩展群组，该患者在可用标准治疗之后产生进展；或标准疗法已被证明对其无效或无法耐受，或被认为对其不适当的；或对其而言研究药剂的临床试验为公认的护理标准。该扩展阶段将由经限定的患者群组组成，以更好地表征XENP32803作为单一药剂的安全性、药代动力学、PD活性和初步抗肿瘤活性。XENP32803将在扩展阶段中通过IV输注来进行施用。将在剂量递增中确定的MTD/MAD处或以下提出临时XENP32803推荐的扩展剂量(RED)。一旦提出XENP32803的RED，则额外的患者将入组扩展阶段并且以RED进行治疗。

[0409] 在整个研究过程中以及在最后一剂研究治疗药物后至少90天或直至开始另一种全身抗癌疗法之前(以先发生者为准)，将密切监测所有患者的不良事件。不良事件将根据NCI CTCAE v5.0进行分级。

[0410] 为了表征XENP32803作为单一药剂的药代动力学、免疫原性应答和PD特性，将在给药前后的不同时间点处采集血样。

[0411] 在研究期间，患者将在筛选(基线)时接受肿瘤评估并且以规律间隔接受肿瘤评估，这将通过实体瘤疗效评价标准(RECIST) v1.1来进行测量。本研究中还将使用针对基于免疫的治疗剂的经修订RECIST v1.1(iRECIST)，以更好地表征与癌症免疫疗法(CIT)相关联的不同应答模式，并且以允许更好地了解XENP32803的初步活性概况。iRECIST旨在补充本研究中的标准RECIST v1.1，以允许研究者对患者的益处和风险进行综合评估。

[0412] 本研究的活性目标为基于以下终点，对XENP32803作为单一药剂施用时的活性进行初步评估：

[0413] ■ XENP32803的血清浓度；

[0414] ■ 发生不良事件的参与者百分比；

[0415] ■ 客观缓解率(ORR)，其定义为发生完全缓解(CR)或部分缓解(PR)的患者比例；

[0416] ■ 缓解持续时间(DOR)，其定义为从首次发生有记录的客观缓解到产生疾病进展

或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);

[0417] ■入组后的无进展生存期(PFS),其定义为从入组到首次发生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);以及

[0418] ■入组后的总存活(OS),其定义为从入组到因任何原因死亡的时间。

[0419] 本研究的安全性目标为基于不良事件的发生率和严重程度以及基于目标生命体征或临床实验室测试结果或ECG参数相对于基线的变化,评估XENP32803作为单一药剂施用时的安全性。

[0420] 本研究的药代动力学(PK)目标为基于XENP32803在指定时间点处的血清浓度,表征XENP32803作为单一药剂施用时的PK曲线。

[0421] 本研究的免疫原性目标为基于在基线处的对XENP32803的ADA和在研究期间对XENP32803的ADA发生率,评估对作为单一药剂(Ia)施用时的XENP32803的免疫应答。

[0422] 实例9:XENP24306+XENP32803与抗PD-L1/PD-1抑制剂组合的非临床药理学。体内研究。

[0423] 在小鼠移植抗宿主病(GVHD)模型中的重复给药研究中,测试了IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合(XENP24306(~82%) 和XENP32803(~18%) (“XENP24306+XENP32803”)) 增强白细胞增殖和效应子活性的能力。XENP24306+XENP32803(以0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg或0.3mg/kg四种剂量水平,在第0天、第7天、第14天和第21天给药)与XENP16432(一种以3.0mg/kg的固定剂量给予的抗PD-1抑制剂)组合,在移植有人PBMC的非肥胖型糖尿病/严重联合免疫缺陷 $\gamma$ (NSG)小鼠中进行了评估。本研究监测了针对小鼠宿主的免疫应答,该免疫应答可通过GVHD的临床体征(即,体重减轻和死亡率)和免疫监测评估(例如外周人CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数以及血清IFN $\gamma$ 浓度的升高)来进行测量。在用0.3mg/kg的XENP24306+XENP32803治疗的小鼠中,观察到剂量依赖性GVHD诱导的活性,并且看到体重显著减轻,而在较低剂量下检测到CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数和血清IFN $\gamma$ 浓度显著升高(图5)。观察到CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数的时间(第7天、第14天、第21天)和剂量依赖性增加。仅在第14天在所测试的两个最高剂量水平处观察到CD4<sup>+</sup>T细胞的扩展。由NK细胞扩展增加所表现出的最小药理活性剂量为0.01mg/kg,而需要更高剂量以证明CD8<sup>+</sup>T细胞和血清IFN $\gamma$ 的显著增强。因此,XENP24306+XENP32803促进了导致GVHD的CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞的增殖和效应子增强。与单独的抗PD-1抗体相比,XENP24306+XENP32803(剂量为0.1mg/kg和0.3mg/kg)与抗PD-1抗体的组合组示出了显著优异的GVHD诱导的活性。

[0424] 本研究描述了在人免疫细胞上的XENP24306+XENP32803(一种IL15/IL15R $\alpha$ -Fc融合蛋白)的免疫刺激活性。重要的是,本研究证明了与单独的抗PD1治疗相比,使用XENP24306+XENP32803与XENP16432/抗PD1(一种抗PD1二价抗体)的组合治疗以增强免疫应答的益处,这表明存在通过将经批准的抗PD-L1药剂与XENP24306+XENP32803进行组合来改善临床益处的可能性。

[0425] 当单独施用XENP24306+XENP32803时,通过相对于未处理对照的NK细胞扩展增加而揭示的最小药理活性剂量(MPAD)为0.01mg/kg。需要更高的剂量以证明T细胞和血清IFN $\gamma$ 的显著增强,以及GVHD的恶化。

[0426] 与抗PD1单一药剂治疗相比,XENP24306+XENP32803与XENP16432/抗PD1的组合治疗也促进了白细胞数量和IFN $\gamma$ 产生的显著增强。值得注意的是,随着白细胞数量响应于

XENP24306+XENP32803的增殖作用而扩展,所测量的XENP24306+XENP32803的谷血清浓度降低,这可能是由于对逐渐扩展的白细胞群体的靶标介导的药物处置。

[0427] XENP24306+XENP32803 (以0.1mg/kg、0.3mg/kg或1.0mg/kg三种剂量水平,在第0天、第7天、第14天和第21天给药)与XENP16432 (一种以3.0mg/kg的固定剂量给予的抗PD-1抑制剂)组合,在小鼠中评估其抗肿瘤功效。移植有MCF-7人乳腺癌细胞和人PBMC的NSG小鼠用于确定与抗PD-1组合的XENP24306+XENP32803是否促进了抗肿瘤应答。测量了外周CD8<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞和NK细胞计数以及血清IFN  $\gamma$  浓度的时间和剂量依赖性升高,这证明XENP24306+XENP32803促进了抗肿瘤应答。图6。

[0428] 用PBS处理的动物(A组)到研究结束时显示出稳定的肿瘤生长。在研究过程中,没有来自A组的动物被实施安乐死/被发现死亡。到第13天,用XENP16432/抗PD1处理的动物(B组)最初显示出与PBS处理的动物(A组)类似的肿瘤生长动力学。然而,在第15天开始,

[0429] 与PBS处理的小鼠相比,XENP16432/抗PD1处理的动物显示出统计学上显著的肿瘤生长抑制。在XENP16432/抗PD1处理的动物中看到的肿瘤体积减少与一般同种异体抗肿瘤应答一致。在研究过程中,没有XENP16432/抗PD1处理的小鼠被实施安乐死/被发现死亡。早在第8天,与PBS处理的动物相比,用0.1mg/kg的XENP24306+XENP32803 (E组)进行治疗即可诱导肿瘤尺寸显著减小。在第13天,与PBS处理的小鼠相比,所有三种剂量水平的XENP24306+XENP32803 (1.0mg/kg、0.3mg/kg和0.1mg/kg;C组、D组和E组)均示出了显著且剂量依赖性的肿瘤生长减少。肿瘤体积到研究结束时仍然减小。与早在第8天用于0.1mg/kg的XENP24306+XENP32803处理的动物(E组)的单一药剂XENP16432/抗PD1 (B组)治疗相比,单一药剂XENP24306+XENP32803治疗也导致显著的肿瘤生长抑制。在第13天,1.0mg/kg的XENP24306+XENP32803 (C组)在减小肿瘤体积方面比XENP16432/抗-PD1显著,而在第19天,0.3mg/kg的XENP24306+XENP32803 (D组)比XENP16432/抗-PD1显著。

[0430] 此外,与抗PD-1 (单独)治疗组相比,与抗PD-1抑制剂组合的更高剂量的XENP24306+XENP32803 (0.3mg/kg和1.0mg/kg)示出了显著更大的肿瘤生长减少、更高的外周CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞扩展,以及IFN  $\gamma$  升高。特别地,与PBS对照组和单一药剂XENP16432/抗PD1组两者相比,当与XENP16432/抗PD1组合给药时,0.3mg/kg和0.1mg/kg的XENP24306+XENP32803 (G组和H组)早在第8天便导致剂量依赖性的和统计学上显著的肿瘤体积减小。在第11天,与PBS和单一药剂XENP16432/抗PD1两者相比,XENP24306+XENP32803与XEN16432的所有三个组合剂量组均显示出剂量依赖性的、统计学上显著的肿瘤尺寸减小。

[0431] 本研究描述了XENP24306+XENP32803 (一种IL15/IL15 $\alpha$ -Fc融合蛋白)的抗肿瘤活性。重要的是,本研究还证明了与单独的抗PD1治疗相比,使用共通施用的XENP24306+XENP32803和XENP16432 (一种抗PD1二价抗体)的组合治疗以增强抗肿瘤免疫应答的额外益处,这表明存在通过将经批准的抗PD-L1药剂与XENP24306+XENP32803进行组合来改善临床益处的可能性。剂量依赖性的XENP24306+XENP32803抗肿瘤活性与外周血白细胞数量的剂量依赖性增加和IFN  $\gamma$  产生的升高相关。

[0432] 所有剂量水平,包括最低水平的0.1mg/kg的XENP24306+XENP32803,在该抗肿瘤模型中均具有活性,并且所有剂量水平的XENP24306+XENP32803均促进白细胞扩展和IFN  $\gamma$  产生的增加,其中最高剂量为1mg/kg的XENP24306+XENP32803可介导最大效果。与抗PD1单一疗法相比,XENP24306+XENP32803与XENP16432/抗PD1的组合治疗也导致白细胞数量和IFN

$\gamma$  产生进一步增强。

[0433] 实例10: XENP24306+XENP32803与阿特珠单抗组合的组合疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究

[0434] 将进行一项组合疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究,以评估与抗PD-L1/PD-1抗体(例如阿特珠单抗)组合的XENP24306(例如,~82%)+XENP32803(例如,~18%)的安全性、耐受性药代动力学和活性。

[0435] 该研究由长达28天的筛选期、治疗期和治疗后90天的最小随访期组成。考虑加入患有PD-L1选择的肿瘤的组合疗法扩展群组的患者可以在28天筛选期之前执行PD-L1状态的组织预筛选。

[0436] 患者将在两个阶段入组:剂量递增阶段和扩展阶段。

[0437] 大约21位至54位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤患者将入组该研究的组合疗法部分的剂量递增阶段。XENP24306+XENP32803和阿特珠单抗将通过IV输注来进行施用。在确认资格后,患者将在每个14天周期的第一天通过IV输注来接受与阿特珠单抗组合的XENP24306+XENP32803。XENP24306+XENP32803的组合疗法起始剂量将为每两周0.01mg/kg IV。阿特珠单抗将与XENP24306+XENP32803组合,在每个14天周期的第1天以840mg的固定剂量通过IV输注来进行施用。阿特珠单抗将在XENP24306+XENP32803和随后的观察期之后进行施用。

[0438] 对于每个连续的群组,XENP24306+XENP32803剂量将增加先前剂量水平的至多100%,直至观察到安全阈值(定义为在给定群组中,在DLT评估窗口期间,1位患者中的DLT或至少2位患者中不归因于其他明确可识别的原因的 $\geq 2$ 级主要器官不良事件)。随后,将遵循3+3+3设计以递增的剂量水平来评估3位至9位患者的群组的每位患者,以确定与阿特珠单抗组合的XENP24306+XENP32803的MTD(或MAD)。图8。

[0439] 入组组合疗法剂量递增群组的已清除群组(即回填群组)的患者必须满足具有以下PD-L1选择的肿瘤类型中的一种类型:黑素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、三阴性乳腺癌(TNBC)、尿路上皮癌(UCC)、肾细胞癌(RCC)、小细胞肺癌(SCLC)、胃癌(GC)、Merkel细胞癌(MCC)、皮肤鳞状细胞癌(cSCC)、高微卫星不稳定性(MSI-H)癌。

[0440] 总的来说,至多大约225位至350位患者可以在大约25个至35个全球调查点入组本研究。本研究中的患者将在筛选期间(持续 $\leq 28$ 天)初步评估是否具有资格。与阿特珠单抗组合的XENP24306+XENP32803的起始剂量将不高于在该研究的单一疗法部分(实例6)中证明PD活性的XENP24306+XENP32803剂量下的一个剂量水平。在初始单一疗法XENP24306+XENP32803剂量水平0.01mg/kg证明PD活性的情况下,XENP24306+XENP32803起始剂量在初始阿特珠单抗组合群组中将不高于0.005mg/kg。XENP24306+XENP32803和阿特珠单抗将在扩展阶段中通过IV输注来进行施用。将在剂量递增中确定的MTD/MAD处或以下提出临时XENP24306+XENP32803推荐的扩展剂量(RED)。

[0441] 一旦提出与阿特珠单抗组合的XENP24306+XENP32803的RED,则额外的患者将入组扩展阶段并且以RED进行治疗。

[0442] 将评估XENP24306+XENP32803 PK。每周并且之后以更低的频率将通过体格检查和血液采集以用于常规血液学和代谢实验室评估,来对患者进行评估,持续时间为剂量递增期间的与阿特珠单抗组合的XENP24306+XENP32803治疗的前八个周期、扩展期间的前两个

周期。肿瘤评估将在基线处和研究开始之后进行。

[0443] 在整个研究过程中以及在最后一剂研究治疗药物后至少90天或直至开始另一种全身抗癌疗法之前(以先发生者为准),将密切监测所有患者的不良事件。不良事件将根据NCI CTCAE v5.0进行分级。

[0444] 为了表征与阿特珠单抗组合的XENP24306+XENP32803的药代动力学、免疫原性应答和PD特性,将在给药前后的不同时间点处采集血样。

[0445] 在研究期间,患者将在筛选(基线)时接受肿瘤评估并且以规律间隔接受肿瘤评估,这将通过RECIST v1.1来进行测量。本研究中还使用iRECIST,以更好地表征与癌症免疫疗法(CIT)相关联的不同应答模式,并且以允许更好地了解与阿特珠单抗组合的XENP24306+XENP32803的初步活性概况。iRECIST旨在补充本研究中的标准RECIST v1.1,以允许研究者对患者的益处和风险进行综合评估。

[0446] 本研究的活性目标为基于以下终点,对XENP24306+XENP32803与阿特珠单抗组合施用时的活性进行初步评估:

[0447] ■ XENP24306+XENP32803的血清浓度;

[0448] ■ 发生不良事件的参与者百分比;

[0449] ■ 客观缓解率(ORR),其定义为相隔 $\geq 4$ 周连续两次发生完全缓解(CR)或部分缓解(PR)的患者比例;

[0450] ■ 缓解持续时间(DOR),其定义为从首次发生有记录的客观缓解到产生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);

[0451] ■ 入组后的无进展生存期(PFS),其定义为从入组到首次发生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);以及

[0452] ■ 入组后的总存活(OS),其定义为从入组到因任何原因死亡的时间。

[0453] 本研究的安全性目标为基于不良事件的发生率和严重程度以及基于目标生命体征或临床实验室测试结果或ECG参数相对于基线的变化,评估XENP24306+XENP32803与阿特珠单抗组合施用时的安全性。

[0454] 本研究的药代动力学(PK)目标为基于XENP24306+XENP32803在指定时间点处的血清浓度,表征XENP24306+XENP32803与阿特珠单抗组合施用时的PK曲线。

[0455] 本研究的免疫原性目标为基于对XENP24306+XENP32803的ADA和在研究期间对XENP24306+XENP32803和阿特珠单抗的ADA,评估对与阿特珠单抗组合施用时的XENP24306+XENP32803的免疫应答。

[0456] 实例11:XENP24306与阿特珠单抗组合的组合疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究

[0457] 将进行一项组合疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究,以评估与抗PD-L1/PD-1抗体(例如阿特珠单抗)组合的XENP24306的安全性、耐受性药代动力学和活性。

[0458] 该研究由长达28天的筛选期、治疗期和治疗后90天的最小随访期组成。考虑加入患有PD-L1选择的肿瘤的组合疗法扩展群组的患者可以在28天筛选期之前执行PD-L1状态的组织预筛选。

[0459] 患者将在两个阶段入组:剂量递增阶段和扩展阶段。

[0460] 大约21位至54位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤患者将入组该研究

的组合疗法部分的剂量递增阶段。XENP24306和阿特殊单抗将通过IV输注来进行施用。在确认资格后,患者将在每个14天周期的第一天通过IV输注来接受与阿特殊单抗组合的XENP24306。XENP24306的组合疗法起始剂量将为每两周0.01mg/kg IV。阿特殊单抗将与XENP24306组合,在每个14天周期的第1天以840mg的固定剂量通过IV输注来进行施用。阿特殊单抗将在XENP24306和随后的观察期之后进行施用。

[0461] 对于每个连续的群组,XENP24306剂量将增加先前剂量水平的至多100%,直至观察到安全阈值(定义为在给定群组中,在DLT评估窗口期间,1位患者中的DLT或至少2位患者中不归因于其他明确可识别的原因的 $\geq 2$ 级主要器官不良事件)。随后,将遵循3+3+3设计以递增的剂量水平来评估3位至9位患者的群组的每位患者,以确定与阿特殊单抗组合的XENP24306的MTD(或MAD)。图8。

[0462] 入组组合疗法剂量递增群组的已清除群组(即回填群组)的患者必须满足具有以下PD-L1选择的肿瘤类型中的一种类型:黑素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、三阴性乳腺癌(TNBC)、尿路上皮癌(UCC)、肾细胞癌(RCC)、小细胞肺癌(SCLC)、胃癌(GC)、Merkel细胞癌(MCC)、皮肤鳞状细胞癌(cSCC)、高微卫星不稳定性(MSI-H)癌。

[0463] 总的来说,至多大约225位至350位患者可以在大约25个至35个全球调查点入组本研究。本研究中的患者将在筛选期间(持续 $\leq 28$ 天)初步评估是否具有资格。与阿特殊单抗组合的XENP24306的起始剂量将不高于在该研究的单一疗法部分(实例6)中证明PD活性的XENP24306剂量下的一个剂量水平。在初始单一疗法XENP24306剂量水平0.01mg/kg证明PD活性的情况下,XENP24306起始剂量在初始阿特殊单抗组合群组中将不高于0.005mg/kg。XENP24306和阿特殊单抗将在扩展阶段中通过IV输注来进行施用。将在剂量递增中确定的MTD/MAD处或以下提出临时XENP24306推荐的扩展剂量(RED)。

[0464] 一旦提出与阿特殊单抗组合的XENP24306的RED,则额外的患者将入组扩展阶段并且以RED进行治疗。

[0465] 将评估XENP24306 PK。每周并且之后以更低的频率将通过体格检查和血液采集以用于常规血液学和代谢实验室评估,来对患者进行评估,持续时间为剂量递增期间的与阿特殊单抗组合的XENP24306治疗的前八个周期、扩展期间的前两个周期。肿瘤评估将在基线处和研究开始之后进行。

[0466] 在整个研究过程中以及在最后一剂研究治疗药物后至少90天或直至开始另一种全身抗癌疗法之前(以先发生者为准),将密切监测所有患者的不良事件。不良事件将根据NCI CTCAE v5.0进行分级。

[0467] 为了表征与阿特殊单抗组合的XENP24306的药代动力学、免疫原性应答和PD特性,将在给药前后的不同时间点处采集血样。

[0468] 在研究期间,患者将在筛选(基线)时接受肿瘤评估并且以规律间隔接受肿瘤评估,这将通过RECIST v1.1来进行测量。本研究中还将使用iRECIST,以更好地表征与癌症免疫疗法(CIT)相关联的不同应答模式,并且以允许更好地了解与阿特殊单抗组合的XENP24306的初步活性概况。iRECIST旨在补充本研究中的标准RECIST v1.1,以允许研究者对患者的益处和风险进行综合评估。

[0469] 本研究的活性目标为基于以下终点,对XENP24306与阿特殊单抗组合施用时的活性进行初步评估:

- [0470] ■ XENP24306的血清浓度；
- [0471] ■ 发生不良事件的参与者百分比；
- [0472] ■ 客观缓解率 (ORR), 其定义为相隔 $\geq 4$ 周连续两次发生完全缓解 (CR) 或部分缓解 (PR) 的患者比例；
- [0473] ■ 缓解持续时间 (DOR), 其定义为从首次发生有记录的客观缓解到产生疾病进展或因任何原因死亡的时间 (以先发生者为准)；
- [0474] ■ 入组后的无进展生存期 (PFS), 其定义为从入组到首次发生疾病进展或因任何原因死亡的时间 (以先发生者为准)；以及
- [0475] ■ 入组后的总存活 (OS), 其定义为从入组到因任何原因死亡的时间。
- [0476] 本研究的安全性目标为基于不良事件的发生率和严重程度以及基于目标生命体征或临床实验室测试结果或ECG参数相对于基线的变化, 评估XENP24306与阿特殊单抗组合施用时的安全性。
- [0477] 本研究的药代动力学 (PK) 目标为基于XENP24306在指定时间点处的血清浓度, 表征XENP24306与阿特殊单抗组合施用时的PK曲线。
- [0478] 本研究的免疫原性目标为基于对XENP24306的ADA和在研究期间对XENP24306和阿特殊单抗的ADA, 评估对与阿特殊单抗组合施用时的XENP24306的免疫应答。
- [0479] 实例12: XENP32803与阿特殊单抗组合的组合疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究
- [0480] 将进行一项组合疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究, 以评估与抗PD-L1/PD-1抗体 (例如阿特殊单抗) 组合的XENP32803的安全性、耐受性药代动力学和活性。
- [0481] 该研究由长达28天的筛选期、治疗期和治疗后90天的最小随访期组成。考虑加入患有PD-L1选择的肿瘤的组别扩展群组的患者可以在28天筛选期之前执行PD-L1状态的组织预筛选。
- [0482] 患者将在两个阶段入组: 剂量递增阶段和扩展阶段。
- [0483] 大约21位至54位局部晚期、复发性或转移性无法治愈的实体瘤患者将入组该研究的组合疗法部分的剂量递增阶段。XENP32803和阿特殊单抗将通过IV输注来进行施用。在确认资格后, 患者将在每个14天周期的第一天通过IV输注来接受与阿特殊单抗组合的XENP32803。XENP32803的组合疗法起始剂量将为每两周0.01mg/kg IV。阿特殊单抗将与XENP32803组合, 在每个14天周期的第1天以840mg的固定剂量通过IV输注来进行施用。阿特殊单抗将在XENP32803和随后的观察期之后进行施用。
- [0484] 对于每个连续的群组, XENP32803剂量将增加先前剂量水平的至多100%, 直至观察到安全阈值 (定义为在给定群组中, 在DLT评估窗口期间, 1位患者中的DLT或至少2位患者中不归因于其他明确可识别的原因的 $\geq 2$ 级主要器官不良事件)。随后, 将遵循3+3+3设计以递增的剂量水平来评估3位至9位患者的群组的每位患者, 以确定与阿特殊单抗组合的XENP32803的MTD (或MAD)。图8。
- [0485] 入组组合疗法剂量递增群组的已清除群组 (即回填群组) 的患者必须满足具有以下PD-L1选择的肿瘤类型中的一种类型: 黑素瘤、非小细胞肺癌 (NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌 (HNSCC)、三阴性乳腺癌 (TNBC)、尿路上皮癌 (UCC)、肾细胞癌 (RCC)、小细胞肺癌 (SCLC)、胃癌 (GC)、Merkel细胞癌 (MCC)、皮肤鳞状细胞癌 (cSCC)、高微卫星不稳定性 (MSI-H) 癌。

[0486] 总的来说,至多大约225位至350位患者可以在大约25个至35个全球调查点入组本研究。本研究中的患者将在筛选期间(持续 $\leq$ 28天)初步评估是否具有资格。与阿特殊单抗组合的XENP32803的起始剂量将不高于在该研究的单一疗法部分(实例6)中证明PD活性的XENP32803剂量下的一个剂量水平。在初始单一疗法XENP32803剂量水平0.01mg/kg证明PD活性的情况下,XENP32803起始剂量在初始阿特殊单抗组合群组中将不高于0.005mg/kg。XENP32803和阿特殊单抗将在扩展阶段中通过IV输注来进行施用。将在剂量递增中确定的MTD/MAD处或以下提出临时XENP32803推荐的扩展剂量(RED)。

[0487] 一旦提出与阿特殊单抗组合的XENP32803的RED,则额外的患者将入组扩展阶段并且以RED进行治疗。

[0488] 将评估XENP32803 PK。每周并且之后以更低的频率将通过体格检查和血液采集以用于常规血液学和代谢实验室评估,来对患者进行评估,持续时间为剂量递增期间的与阿特殊单抗组合的XENP32803治疗的前八个周期、扩展期间的前两个周期。肿瘤评估将在基线处和研究开始之后进行。

[0489] 在整个研究过程中以及在最后一剂研究治疗药物后至少90天或直至开始另一种全身抗癌疗法之前(以先发生者为准),将密切监测所有患者的不良事件。不良事件将根据NCI CTCAE v5.0进行分级。

[0490] 为了表征与阿特殊单抗组合的XENP32803的药代动力学、免疫原性应答和PD特性,将在给药前后的不同时间点处采集血样。

[0491] 在研究期间,患者将在筛选(基线)时接受肿瘤评估并且以规律间隔接受肿瘤评估,这将通过RECIST v1.1来进行测量。本研究中还将使用iRECIST,以更好地表征与癌症免疫疗法(CIT)相关联的不同应答模式,并且以允许更好地了解与阿特殊单抗组合的XENP32803的初步活性概况。iRECIST旨在补充本研究中的标准RECIST v1.1,以允许研究者对患者的益处和风险进行综合评估。

[0492] 本研究的活性目标为基于以下终点,对XENP32803与阿特殊单抗组合施用时的活性进行初步评估:

[0493] ■ XENP32803的血清浓度;

[0494] ■ 发生不良事件的参与者百分比;

[0495] ■ 客观缓解率(ORR),其定义为相隔 $\geq$ 4周连续两次发生完全缓解(CR)或部分缓解(PR)的患者比例;

[0496] ■ 缓解持续时间(DOR),其定义为从首次发生有记录的客观缓解到产生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);

[0497] ■ 入组后的无进展生存期(PFS),其定义为从入组到首次发生疾病进展或因任何原因死亡的时间(以先发生者为准);以及

[0498] ■ 入组后的总存活(OS),其定义为从入组到因任何原因死亡的时间。

[0499] 本研究的安全性目标为基于不良事件的发生率和严重程度以及基于目标生命体征或临床实验室测试结果或ECG参数相对于基线的变化,评估XENP32803与阿特殊单抗组合施用时的安全性。

[0500] 本研究的药代动力学(PK)目标为基于XENP32803在指定时间点处的血清浓度,表征XENP32803与阿特殊单抗组合施用时的PK曲线。

[0501] 本研究的免疫原性目标为基于对XENP32803的ADA和在研究期间对XENP32803和阿特殊单抗的ADA,评估对与阿特殊单抗组合施用时的XENP32803的免疫应答。

[0502] 尽管为了清楚理解的目的,已经通过说明和示例详细地提供了公开内容,但对于本领域技术人员显而易见的是,可以在不脱离本公开的精神或范围的情况下实施各种改变和修改。因此,前述描述和示例不应被解释为限制性的。

[0503] 实例13:单独的或与阿特殊单抗组合的IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合的开放标签、多中心、全球、剂量递增研究

[0504] 根据实例6进行一项单一疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究,以评估IL15/IL15R $\alpha$ 异二聚体蛋白的组合(XENP24306 (~82%) 和XENP32803 (~18%) (“XENP24306+XENP32803”))的安全性、耐受性药代动力学和活性,并且根据实例10进行一项组合疗法、开放标签、多中心、全球、剂量递增研究,以评估与抗PD-L1/PD-1抗体(例如阿特殊单抗)组合的XENP24306+XENP32803的安全性、耐受性药代动力学和活性。

[0505] 将十二位患有实体瘤的患者招募至该研究。在该研究的剂量递增组(1a期)中,一位患者接受了0.01mg/ml的XENP24306+XENP32803;三位患者接受了0.02mg/ml的XENP24306+XENP32803;三位患者接受了0.04mg/ml的XENP24306+XENP32803;并且两位患者在每个14天周期(Q2W)的第一天通过IV输注来接受0.06mg/ml的XENP24306+XENP32803。参见实例6和图7。通过CD8<sup>+</sup> T细胞和/或NK细胞的扩展来监测这些患者中的药效学(PD)活性。

[0506] 在1a期剂量递增研究中,用XENP24306+XENP32803观察到CD3-CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>NK细胞的剂量依赖性扩展。该研究的组合疗法组(1b期)的XENP24306+XENP32803的起始剂量设定为0.01mg/kg的XENP24306+XENP32803,并且三位患者通过IV Q2W接受了与840mg阿特殊单抗组合的0.01mg/ml的XENP24306+XENP32803。参见实例10和图8。



Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His  
 20 25 30  
 Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys Thr Glu Ala  
 35 40 45  
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 50 55 60  
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
 65 70 75 80  
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
 85 90 95  
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
 100 105 110  
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 115 120 125  
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 130 135 140  
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 145 150 155 160  
 Thr Ser  
 <210> 3  
 <211> 267  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 3  
 Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr  
 20 25 30  
 Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser  
 35 40 45  
 Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys  
 50 55 60  
 Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala  
 65 70 75 80  
 Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp  
 85 90 95  
 Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr  
 100 105 110  
 Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu

115	120	125
Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala		
130	135	140
Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr		
145	150	155
Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser		
165	170	175
Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln		
180	185	190
Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile		
195	200	205
Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu		
210	215	220
Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu		
225	230	235
Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg		
245	250	255
Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu		
260	265	

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 65

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 4

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val		
1	5	10
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly		
20	25	30
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn		
35	40	45
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile		
50	55	60

Arg

65

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 114

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<221> 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<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	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asn	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	Gln
	50					55				60					
Asp	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> 6

<211> 231

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<400> 6

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
1			5						10				15		
Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
			20					25					30		
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
		35					40					45			
Asp	Val	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
	50					55				60					
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Glu	Tyr
65				70					75					80	
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
				85				90					95		
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu



Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 115 120 125  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys  
 130 135 140  
 Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 145 150 155 160  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 165 170 175  
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 180 185 190  
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
 195 200 205  
 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 210 215 220  
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230  
 <210> 8  
 <211> 231  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”  
 <400> 8  
 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 1 5 10 15  
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Thr Pro Lys  
 20 25 30  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 35 40 45  
 Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 50 55 60  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr  
 65 70 75 80  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 85 90 95  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu  
 100 105 110  
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

115	120	125
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu	Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys	
130	135	140
Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
145	150	155
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
165	170	175
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
180	185	190
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser		
195	200	205
Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser		
210	215	220
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
225	230	
<210> 9		
<211> 350		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”		
<400> 9		
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 Asn 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 Gln		
50	55	60
Asp 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	95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn		
100	105	110
Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His		
115	120	125



20	25	30
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn		
35	40	45
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile		
50	55	60
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr		
65	70	75
80		
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu		
85	90	95
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
100	105	110
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys		
115	120	125
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
130	135	140
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu		
145	150	155
160		
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
165	170	175
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
180	185	190
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
195	200	205
Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys		
210	215	220
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
225	230	235
240		
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
245	250	255
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
260	265	270
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser		
275	280	285
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
290	295	300

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 350

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<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	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	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His
								115						120	
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
								130						135	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
145								150						155	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
								165						170	
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
								180						185	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Glu	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
								195						200	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
								210						215	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
225								230						235	
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
								245						250	
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Asp	Val
								260						265	
Ser	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asp	Gly



195	200	205
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
210	215	220
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
225	230	
<210> 13		
<211> 228		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 13		
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		
1	5	10
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
	20	25
		30
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
	35	40
		45
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
	50	55
		60
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
65	70	75
		80
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn		
	85	90
		95
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro		
	100	105
		110
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
	115	120
		125
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
	130	135
		140
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
145	150	155
		160
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
	165	170
		175
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
	180	185
		190
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
	195	200
		205
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
	210	215
		220
Ser Pro Gly Lys		

225  
 <210> 14  
 <211> 231  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 14  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala  
 1                   5                   10                   15  
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
                   20                   25                   30  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
                   35                   40                   45  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val  
                   50                   55                   60  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 65                   70                   75                   80  
 Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
                   85                   90                   95  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
                   100                   105                   110  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gln Pro Arg  
                   115                   120                   125  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
                   130                   135                   140  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 145                   150                   155                   160  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asn  
                   165                   170                   175  
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
                   180                   185                   190  
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe Ser  
                   195                   200                   205  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser  
                   210                   215                   220  
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225                   230  
 <210> 15  
 <211> 229  
 <212> PRT



<400> 16  
 Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
 1                   5                   10                   15  
 Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
                   20                   25                   30  
 Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
                   35                   40                   45  
 Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
                   50                   55                   60  
 Arg Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr  
 65                   70                   75                   80  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu  
                   85                   90                   95  
 Phe Pro Pro Thr Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
                   100                   105                   110  
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
                   115                   120                   125  
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
                   130                   135                   140  
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 145                   150                   155                   160  
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
                   165                   170                   175  
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
                   180                   185                   190  
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
                   195                   200                   205  
 Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys  
                   210                   215                   220  
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 225                   230                   235                   240  
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
                   245                   250                   255  
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
                   260                   265                   270  
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser  
                   275                   280                   285  
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
                   290                   295                   300



	245	250	255
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val			
	260	265	270
Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly			
	275	280	285
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp			
	290	295	300
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp			
305	310	315	320
Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His			
	325	330	335
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	340	345	350
<210> 18			
<211> 301			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<221> 来源			
<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”			
<400> 18			
Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val			
1	5	10	15
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly			
	20	25	30
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn			
	35	40	45
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile			
	50	55	60
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr			
65	70	75	80
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu			
	85	90	95
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu			
	100	105	110
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys			
	115	120	125
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys			
	130	135	140



	85		90		95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Glu Met Phe Ile Asn					
	100		105		110
Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His					
	115		120		125
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe					
	130		135		140
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro					
145		150		155	160
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val					
	165		170		175
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr					
	180		185		190
Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val					
	195		200		205
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys					
	210		215		220
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser					
225		230		235	240
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro					
	245		250		255
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val					
	260		265		270
Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly					
	275		280		285
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp					
	290		295		300
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp					
305		310		315	320
Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His					
	325		330		335
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	340		345		350

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 301

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<400> 20

Ile	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val
1				5					10					15	
Lys	Ser	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly
				20				25					30		
Phe	Lys	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn
				35				40				45			
Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile
				50			55				60				
Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr
65					70					75				80	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
				85				90						95	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
				100				105						110	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
				115				120					125		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
				130				135					140		
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
145					150					155					160
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
				165						170				175	
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				180				185						190	
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
				195				200						205	
Arg	Glu	Gln	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
				210				215						220	
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
225					230					235				240	
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
				245						250				255	
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
				260						265				270	
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
				275						280				285	
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			

290	295	300
<210> 21		
<211> 350		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”		
<400> 21		
Asn Trp Val Asp 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		
Asp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His		
115                   120                   125		
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe		
130                   135                   140		
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro		
145                   150                   155                   160		
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val		
165                   170                   175		
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr		
180                   185                   190		
Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
195                   200                   205		
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys		
210                   215                   220		
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
225                   230                   235                   240		

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 245 250 255  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val  
 260 265 270  
 Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly  
 275 280 285  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 290 295 300  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 305 310 315 320  
 Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 325 330 335  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 340 345 350  
 <210> 22  
 <211> 301  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”  
 <400> 22  
 Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
 1 5 10 15  
 Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
 20 25 30  
 Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
 35 40 45  
 Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
 50 55 60  
 Arg Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr  
 65 70 75 80  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 85 90 95  
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 100 105 110  
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 115 120 125  
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

130	135	140																	
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu				
145						150				155					160				
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys				
					165					170					175				
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys				
					180					185					190				
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser				
					195					200					205				
Arg	Glu	Gln	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys				
					210					215					220				
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln				
225						230				235					240				
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly				
					245					250					255				
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln				
					260					265					270				
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn				
					275					280					285				
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
					290					295					300				
<210>	23																		
<211>	350																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			
<221>	来源																		
<223>	/备注 =“人工序列说明:合成的多肽”																		
<400>	23																		
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	Asn	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	Gln				
		50				55				60									
Asp	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val				
65					70					75					80				





His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 290 295 300  
 <210> 25  
 <211> 345  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”  
 <400> 25  
 Asp 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  
 Asp 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 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 115 120 125  
 Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 130 135 140  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 145 150 155 160  
 Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 165 170 175  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 180 185 190  
 Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 195 200 205  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 210 215 220  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

225	230	235	240
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met			
	245	250	255
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro			
	260	265	270
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
	275	280	285
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	290	295	300
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val			
305	310	315	320
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
	325	330	335
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	340	345	
<210> 26			
<211> 296			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<221> 来源			
<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”			
<400> 26			
Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val			
1	5	10	15
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly			
	20	25	30
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn			
	35	40	45
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile			
	50	55	60
Arg Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro			
65	70	75	80
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
	85	90	95
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
	100	105	110
Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val			
	115	120	125

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 130 135 140  
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 145 150 155 160  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 165 170 175  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 180 185 190  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr  
 195 200 205  
 Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 210 215 220  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 225 230 235 240  
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 245 250 255  
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 260 265 270  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 275 280 285  
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 290 295  
 <210> 27  
 <211> 345  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”  
 <400> 27  
 Asn Trp Val Asp 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  
 Asp 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 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
	115	120	125
Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
	130	135	140
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
145	150	155	160
Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr			
	165	170	175
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu			
	180	185	190
Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
	195	200	205
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
	210	215	220
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
225	230	235	240
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met			
	245	250	255
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro			
	260	265	270
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
	275	280	285
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	290	295	300
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val			
305	310	315	320
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
	325	330	335
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	340	345	
<210> 28			
<211> 296			
<212> PRT			
<213> 人工序列			



275	280	285
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
290	295	
<210> 29		
<211> 350		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”		
<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 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 Glu 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 Glu Met Phe Ile Asn		
	100	105
Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His		
	115	120
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe		
	130	135
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro		
145	150	155
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val		
	165	170
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr		
	180	185
Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
	195	200
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys		
	210	215
		220



115	120	125
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
130	135	140
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu		
145	150	155
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
165	170	175
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
180	185	190
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
195	200	205
Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys		
210	215	220
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
225	230	235
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
245	250	255
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
260	265	270
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser		
275	280	285
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
290	295	300
<210> 31		
<211> 350		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”		
<400> 31		
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	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

Asp	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	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His
			115						120					125	
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			130						135					140	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
145														155	160
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
														165	175
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
														180	190
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Glu	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
														195	205
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
														210	220
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
225														230	240
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
														245	255
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Asp	Val
														260	270
Ser	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asp	Gly
														275	285
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
														290	300
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
305														310	320
Glu	Gln	Gly	Asp	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
														325	335
Ser	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
														340	350

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 301

&lt;212&gt; PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<400> 32

Ile	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	1	5	10	15
Lys	Ser	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	20	25	30	
Phe	Lys	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	35	40	45	
Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	50	55	60	
Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	65	70	75	80
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	85	90	95	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	100	105	110	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	115	120	125	
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	130	135	140	
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	145	150	155	160
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	165	170	175	
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	180	185	190	
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	195	200	205	
Arg	Glu	Gln	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	210	215	220	
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	225	230	235	240
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	245	250	255	
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	260	265	270	

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser  
 275 280 285  
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 290 295 300  
 <210> 33  
 <211> 350  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”  
 <400> 33  
 Asn Trp Val Asp 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  
 Asp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His  
 115 120 125  
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe  
 130 135 140  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 145 150 155 160  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val  
 165 170 175  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 180 185 190  
 Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 195 200 205  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

210	215	220
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
225	230	235
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro		
	245	250
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val		
	260	265
Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly		
	275	280
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp		
290	295	300
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		
305	310	315
Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His		
	325	330
Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	340	345
		350

<210> 34

<211> 301

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<400> 34

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val		
1	5	10
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly		
	20	25
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn		
	35	40
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile		
	50	55
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr		
65	70	75
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu		
	85	90
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
	100	105
		110

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 115 120 125  
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 130 135 140  
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 145 150 155 160  
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 165 170 175  
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 180 185 190  
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 195 200 205  
 Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 210 215 220  
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 225 230 235 240  
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 245 250 255  
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 260 265 270  
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser  
 275 280 285  
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 290 295 300

<210> 35

<211> 345

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<400> 35

Asp 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
Asp 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 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
	115	120
Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
130	135	140
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
145	150	155
Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
	165	170
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
	180	185
Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
195	200	205
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
210	215	220
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
225	230	235
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
	245	250
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro		
	260	265
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
275	280	285
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
290	295	300
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val		
305	310	315
Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln		
	325	330
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	340	345

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 296





Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 210 215 220  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 225 230 235 240  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 245 250 255  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro  
 260 265 270  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 275 280 285  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 290 295 300  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val  
 305 310 315 320  
 Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln  
 325 330 335  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 340 345

<210> 38

<211> 296

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注 =“人工序列说明:合成的多肽”

<400> 38

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
 1 5 10 15  
 Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
 20 25 30  
 Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
 35 40 45  
 Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
 50 55 60  
 Arg Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 65 70 75 80  
 Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 85 90 95  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val



Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
20 25

<210> 40

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列说明:合成的肽"

<220>

<221> 位点

<222> (1) .. (25)

<223> /备注 = "这一序列可涵盖 1 个至 5 个 'Ser Ser Ser Ser Gly' 重复单元"

<400> 40

Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser  
1 5 10 15

Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly  
20 25

<210> 41

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列说明:合成的肽"

<220>

<221> 位点

<222> (1) .. (25)

<223> /备注 = "这一序列可涵盖 1 个至 5 个 'Gly Ser Ser Gly Gly' 重复单元"

<400> 41

Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly  
20 25

<210> 42

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>



Thr Val Ala Ala Pro Ser

1 5

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列说明:合成的肽"

<400> 46

Thr Val Ala

1

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列说明:合成的肽"

<400> 47

Ala Ser Thr Ser Gly Pro Ser

1 5

<210> 48

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列说明:合成的肽"

<400> 48

Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser

1 5 10 15

Leu Asp

<210> 49

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源



<221> 来源

<223> /备注="人工序列说明:合成的肽"

<400> 53

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 54

<211> 175

<212> PRT

<213> 智人

<400> 54

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val

1 5 10 15

Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly

20 25 30

Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn

35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile

50 55 60

Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val

65 70 75 80

Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly

85 90 95

Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr

100 105 110

Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro

115 120 125

Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr

130 135 140

Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser

145 150 155 160

His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr

165 170 175

<210> 55

<211> 551

<212> PRT

<213> 智人

<400> 55

Met Ala Ala Pro Ala Leu Ser Trp Arg Leu Pro Leu Leu Ile Leu Leu

1 5 10 15

Leu Pro Leu Ala Thr Ser Trp Ala Ser Ala Ala Val Asn Gly Thr Ser  
 20 25 30  
 Gln Phe Thr Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp  
 35 40 45  
 Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp  
 50 55 60  
 Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser  
 65 70 75 80  
 Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln  
 85 90 95  
 Lys Leu Thr Thr Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu  
 100 105 110  
 Gly Val Arg Trp Arg Val Met Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu  
 115 120 125  
 Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu  
 130 135 140  
 Thr His Arg Cys Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr  
 145 150 155 160  
 Phe Glu Arg His Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His  
 165 170 175  
 Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp  
 180 185 190  
 Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val  
 195 200 205  
 Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser  
 210 215 220  
 Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr  
 225 230 235 240  
 Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly Leu Ser Gly Ala Phe Gly  
 245 250 255  
 Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn Cys Arg Asn Thr Gly Pro  
 260 265 270  
 Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr Pro Asp Pro Ser Lys Phe  
 275 280 285  
 Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly Asp Val Gln Lys Trp Leu  
 290 295 300  
 Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser Pro Gly Gly Leu Ala Pro  
 305 310 315 320  
 Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg Asp Lys Val Thr Gln Leu

	325		330		335										
Leu	Leu	Gln	Gln	Asp	Lys	Val	Pro	Glu	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn
	340		345		350										
His	Ser	Leu	Thr	Ser	Cys	Phe	Thr	Asn	Gln	Gly	Tyr	Phe	Phe	Phe	His
	355		360		365										
Leu	Pro	Asp	Ala	Leu	Glu	Ile	Glu	Ala	Cys	Gln	Val	Tyr	Phe	Thr	Tyr
	370		375		380										
Asp	Pro	Tyr	Ser	Glu	Glu	Asp	Pro	Asp	Glu	Gly	Val	Ala	Gly	Ala	Pro
385			390		395		400								
Thr	Gly	Ser	Ser	Pro	Gln	Pro	Leu	Gln	Pro	Leu	Ser	Gly	Glu	Asp	Asp
	405		410		415										
Ala	Tyr	Cys	Thr	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Asp	Leu	Leu	Leu	Phe	Ser	Pro
	420		425		430										
Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Pro	Pro	Ser	Thr	Ala	Pro	Gly	Gly	Ser
	435		440		445										
Gly	Ala	Gly	Glu	Glu	Arg	Met	Pro	Pro	Ser	Leu	Gln	Glu	Arg	Val	Pro
	450		455		460										
Arg	Asp	Trp	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Pro	Pro	Thr	Pro	Gly	Val	Pro
465			470		475		480								
Asp	Leu	Val	Asp	Phe	Gln	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Val	Leu	Arg	Glu	Ala
	485		490		495										
Gly	Glu	Glu	Val	Pro	Asp	Ala	Gly	Pro	Arg	Glu	Gly	Val	Ser	Phe	Pro
	500		505		510										
Trp	Ser	Arg	Pro	Pro	Gly	Gln	Gly	Glu	Phe	Arg	Ala	Leu	Asn	Ala	Arg
	515		520		525										
Leu	Pro	Leu	Asn	Thr	Asp	Ala	Tyr	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Gln	Gly
	530		535		540										
Gln	Asp	Pro	Thr	His	Leu	Val									
545			550												
<210>	56														
<211>	214														
<212>	PRT														
<213>	智人														
<400>	56														
Ala	Val	Asn	Gly	Thr	Ser	Gln	Phe	Thr	Cys	Phe	Tyr	Asn	Ser	Arg	Ala
1			5						10					15	
Asn	Ile	Ser	Cys	Val	Trp	Ser	Gln	Asp	Gly	Ala	Leu	Gln	Asp	Thr	Ser
	20							25					30		
Cys	Gln	Val	His	Ala	Trp	Pro	Asp	Arg	Arg	Arg	Trp	Asn	Gln	Thr	Cys



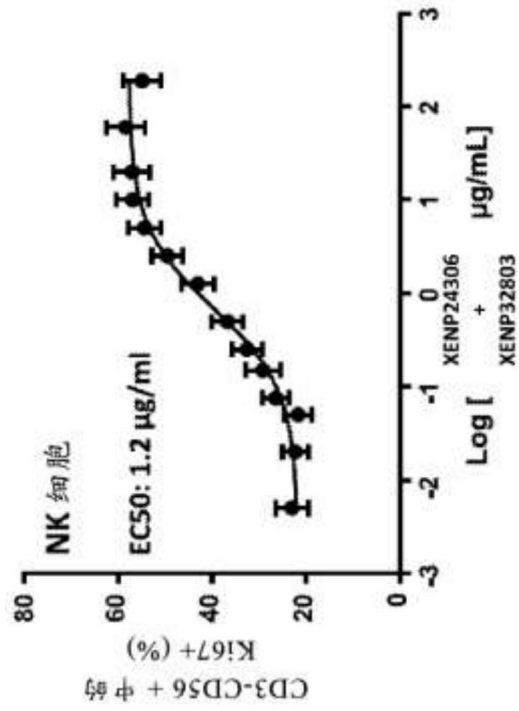


图1A

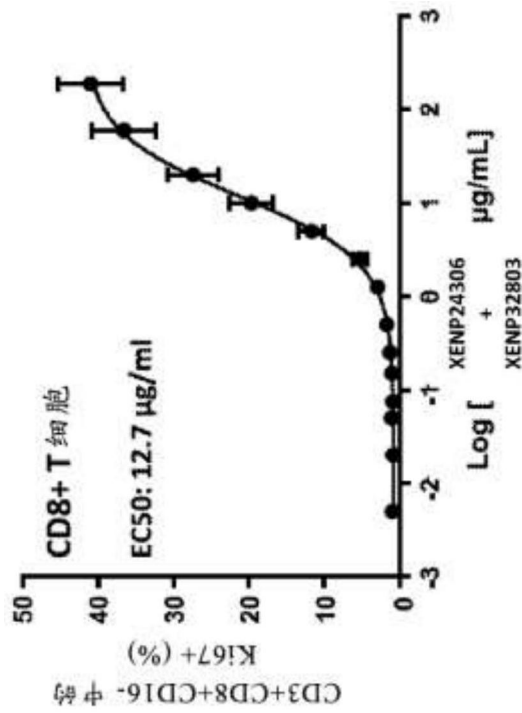


图1B

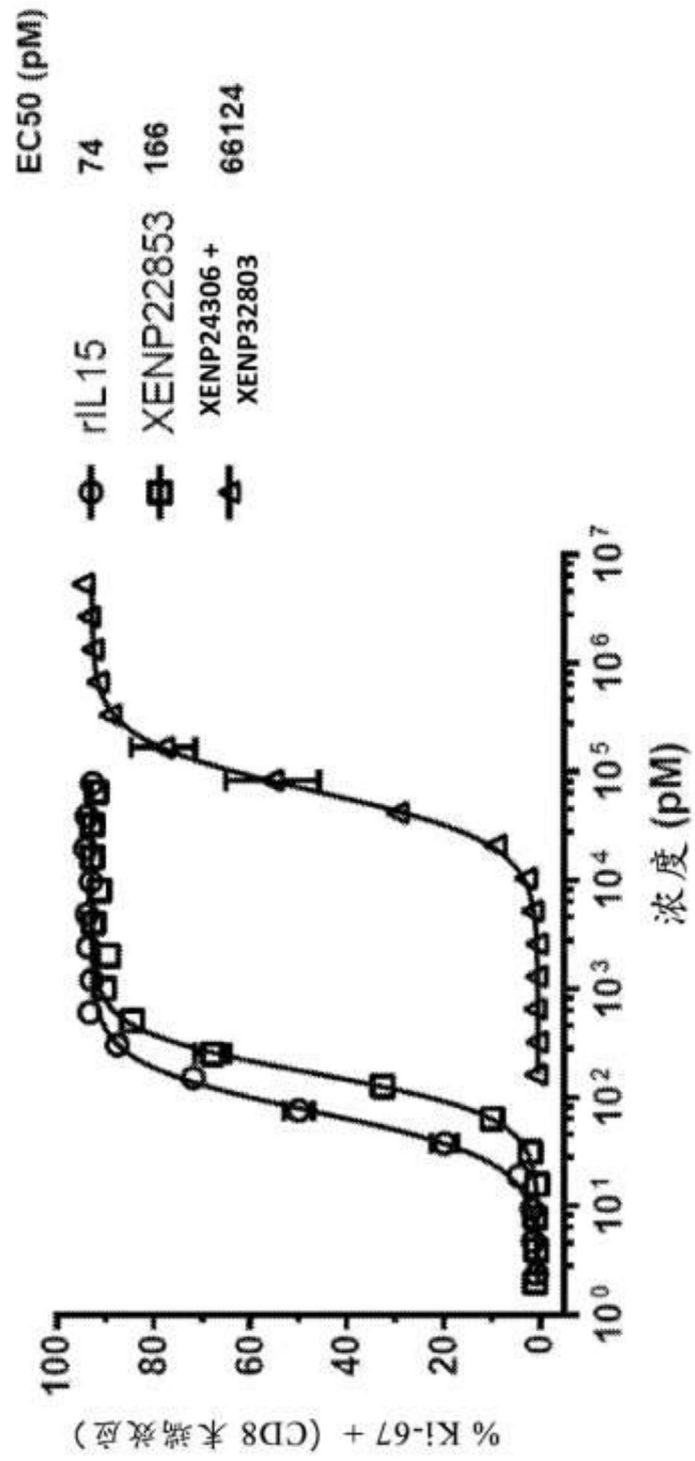


图2

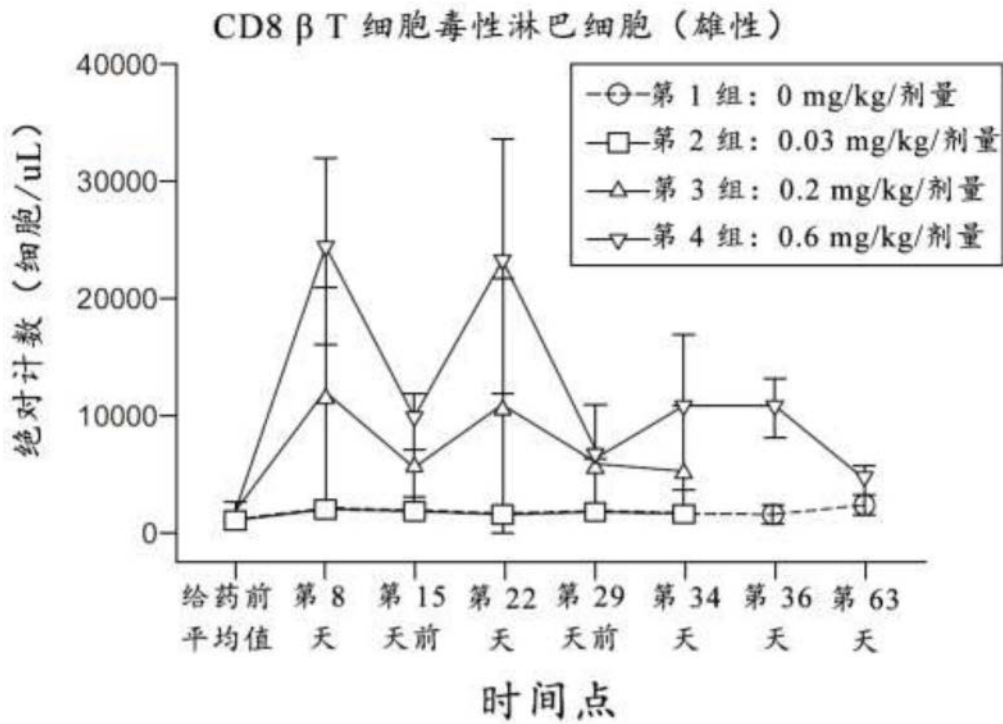


图3A

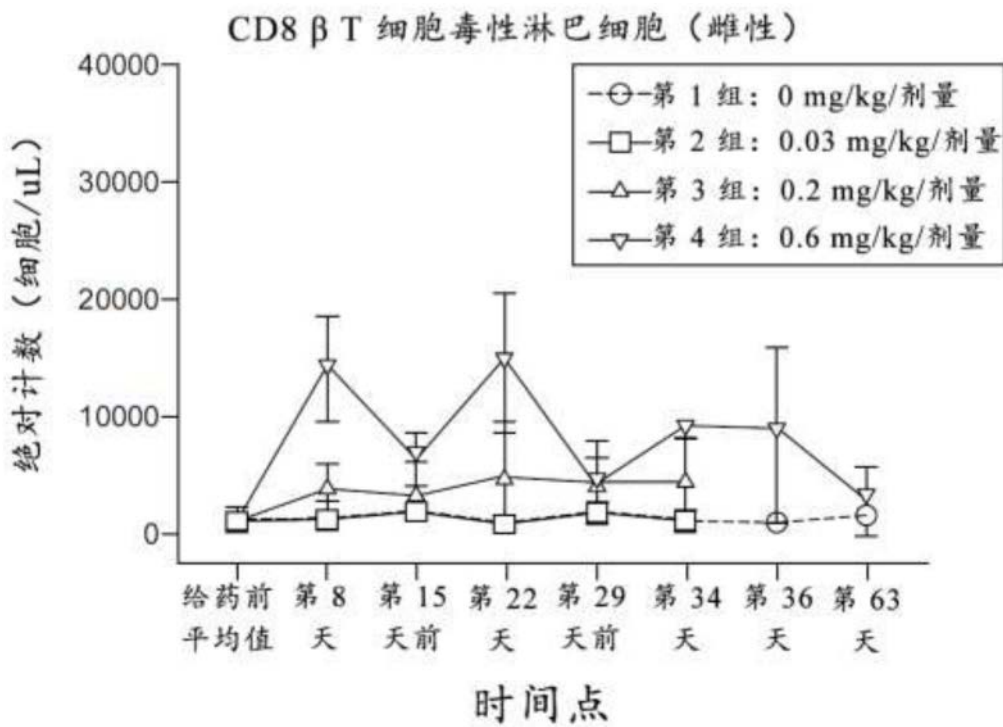


图3B

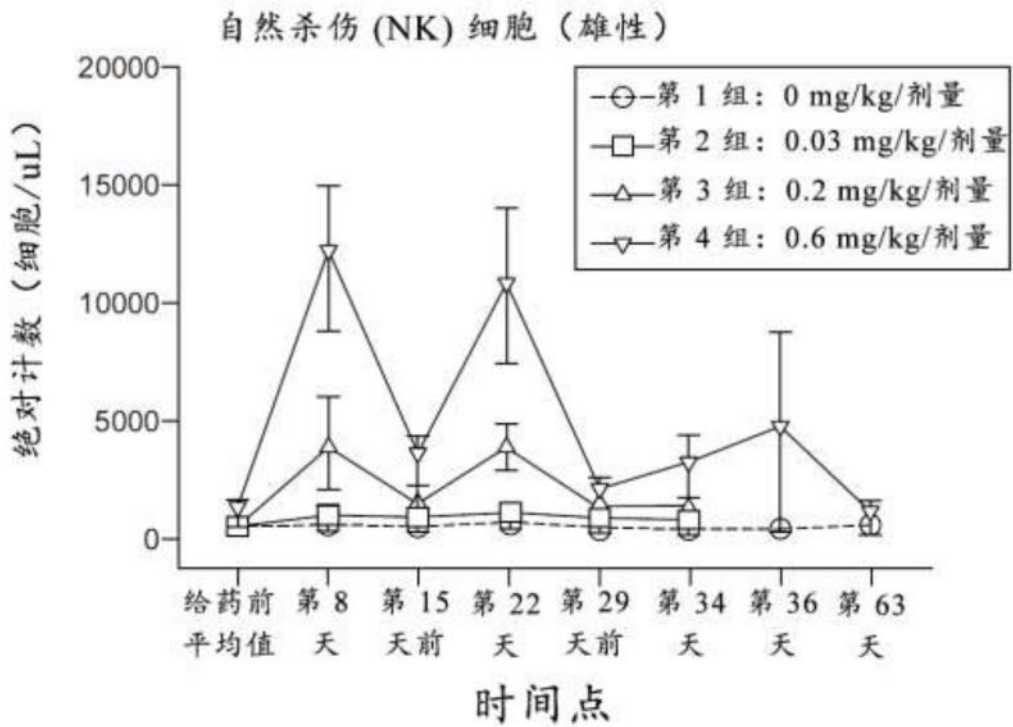


图3C

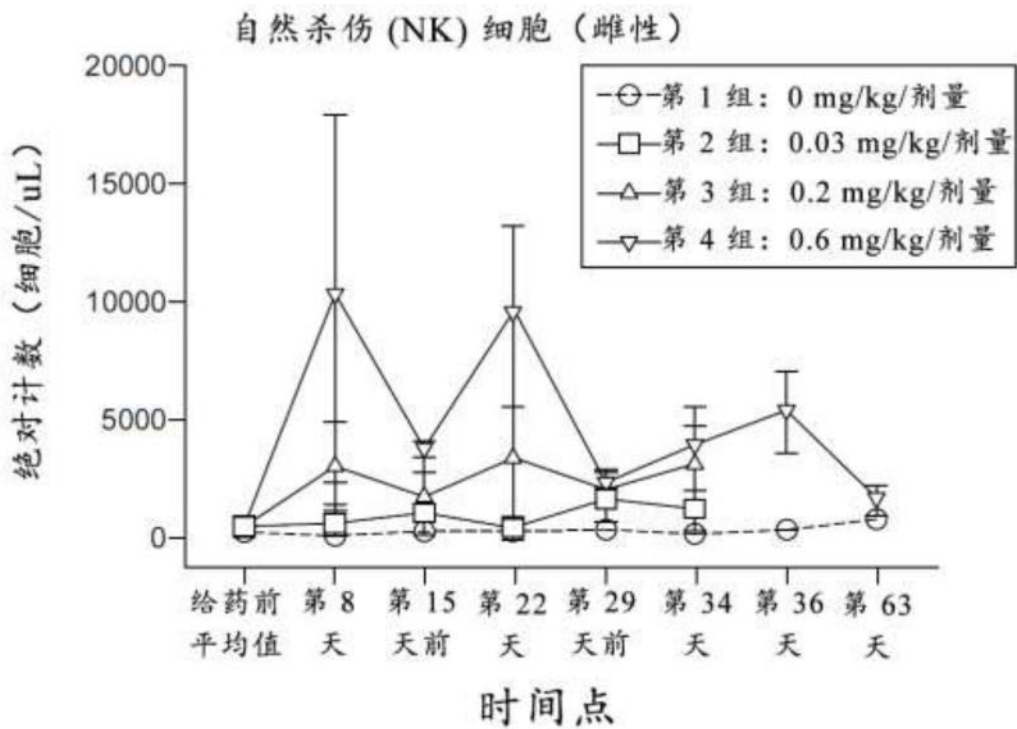


图3D

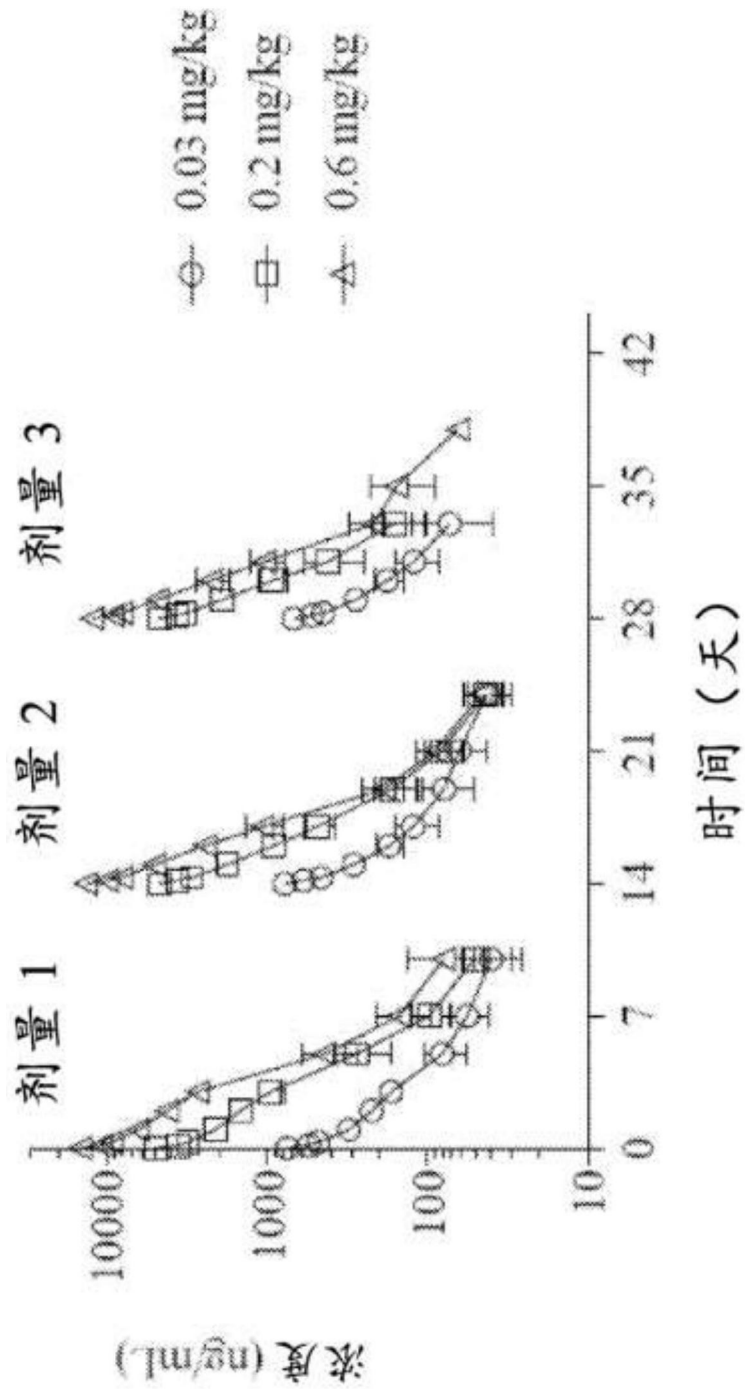


图4

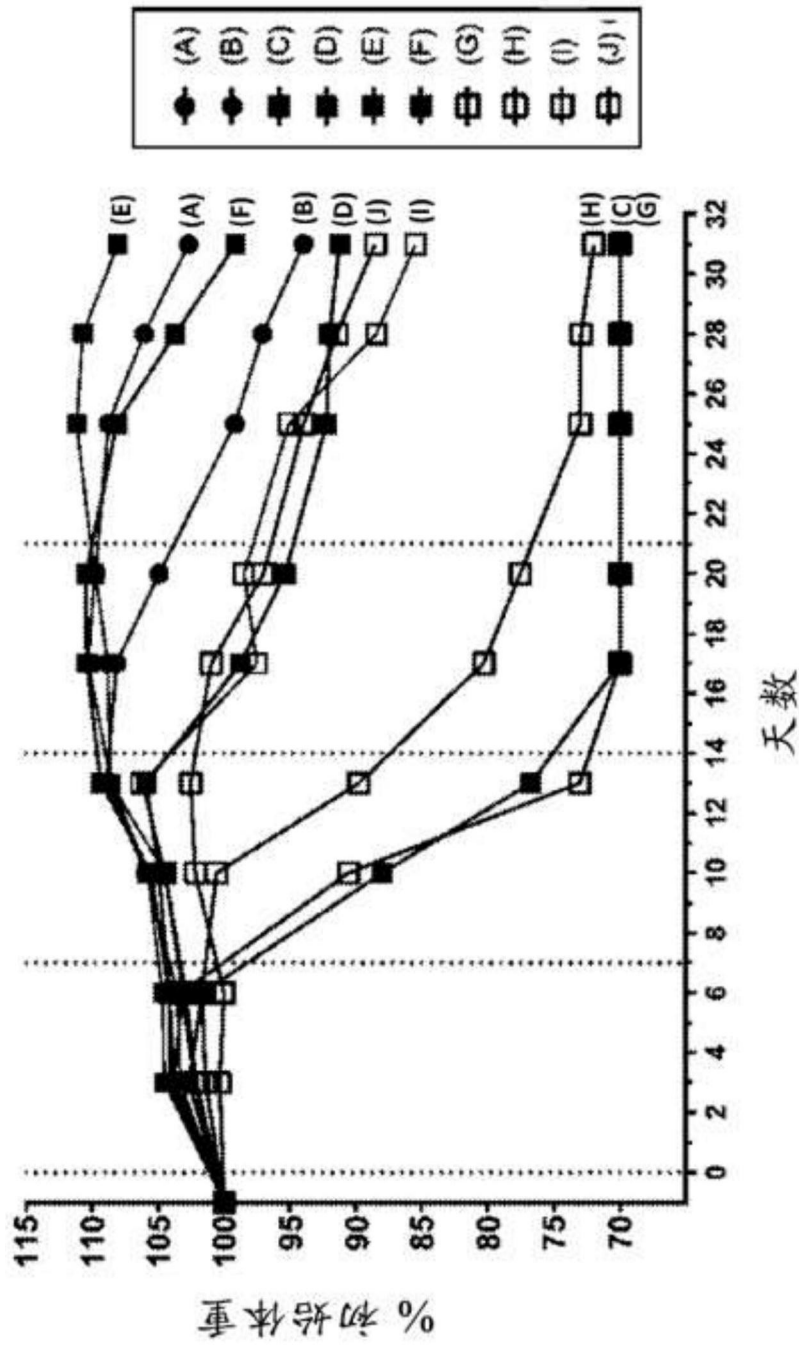


图5

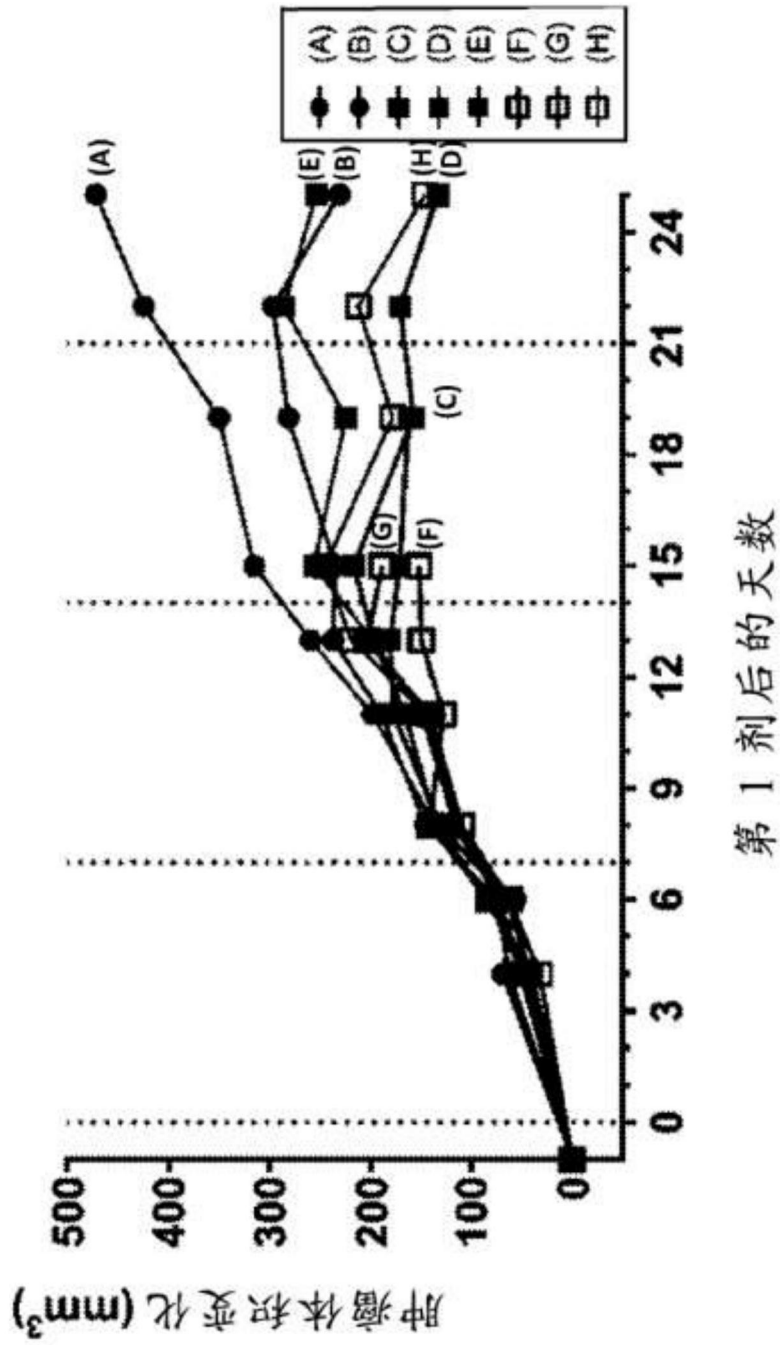


图6



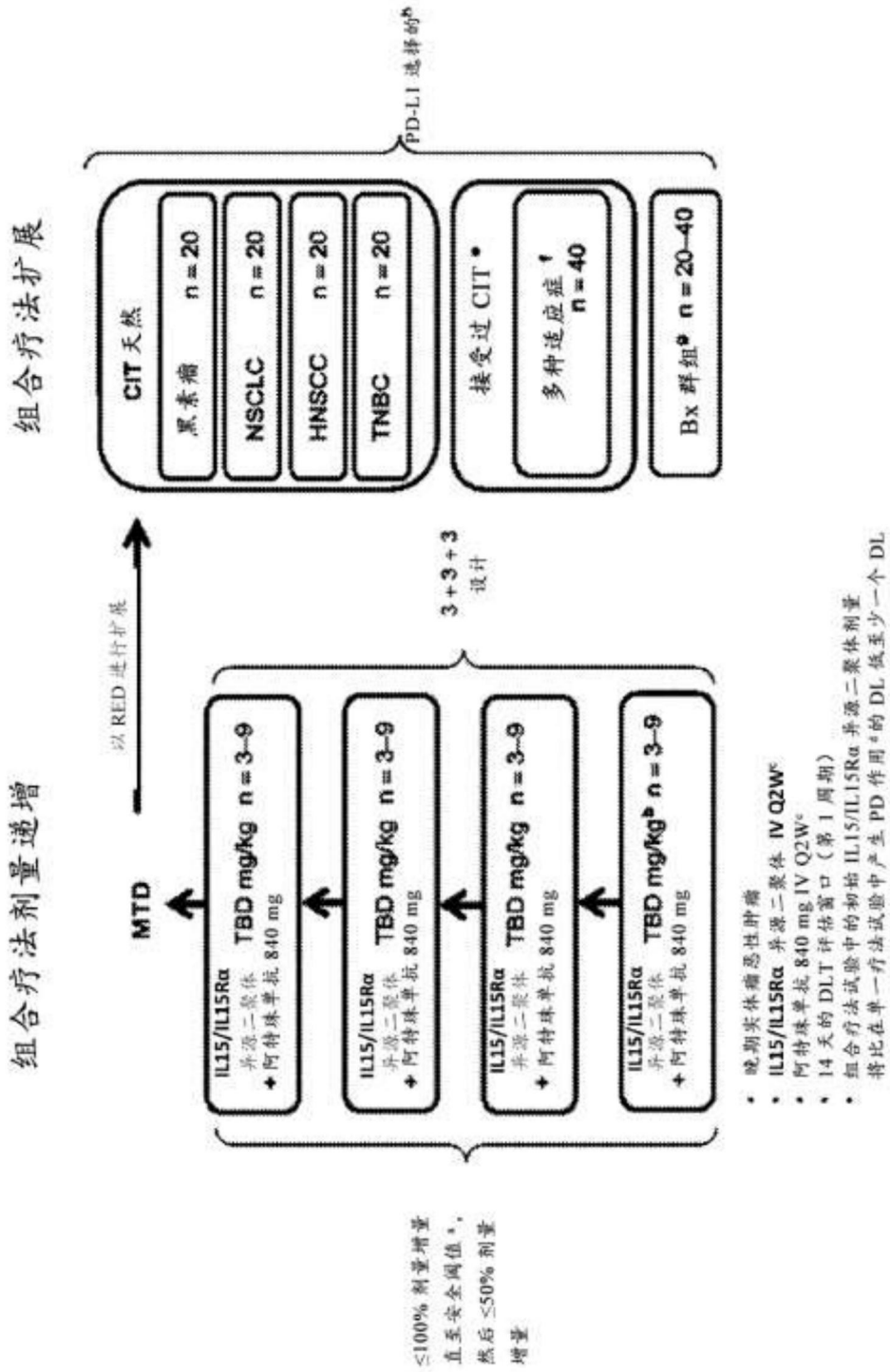


图8

```

>XENP24306 人_IL15_D30N/E64Q/N65D_(GGGGS)1-人_IL15Ra(Sushi)_Fc(216)_IgG1_pH-
]_等排_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - 人_IL15_D30N/E64Q/N65D_(GGGGS)1_Fc(216)_IgG1_pH(-)_等排_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO:9)
NMVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCVYAMKGFLELQVLSLESGDASIHDTVDQLIILANNLSLSNGVYTESGGKECEEELEKNIKEFLQSFVHIY
QMEINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPETVTCVVVDVKKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPRPEQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGEYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSR
WEQGDVFSVLSVLSLSPGK

链 2 - 人_IL15Ra(Sushi)_(GGGGS)1_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO:10)
ITCPPMSVEHADIMVKSYLSRYICMSGFKRAGTSSLTECVLNKATNVAHWHTTTPSLKCIK/EGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVKKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPRPEQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGEYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGDVFSVLSVLSLSPGK

>XENP32803 人_IL15_D30N/E64Q/N65D_(GGGGS)1-人_IL15Ra(Sushi)_(GGGGS)1_Fc(216)_IgG1_pH-
]_等排_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/K246T/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - 人_IL15_D30N/E64Q/N65D_(GGGGS)1_Fc(216)_IgG1_pH(-)_等排_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO:9)
NMVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCVYAMKGFLELQVLSLESGDASIHDTVDQLIILANNLSLSNGVYTESGGKECEEELEKNIKEFLQSFVHIY
QMEINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPETVTCVVVDVKKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPRPEQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGEYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSR
WEQGDVFSVLSVLSLSPGK

链 2 - 人_IL15Ra(Sushi)_(GGGGS)1_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/K246T/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO:16)
ITCPPMSVEHADIMVKSYLSRYICMSGFKRAGTSSLTECVLNKATNVAHWHTTTPSLKCIK/EGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVKKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPRPEQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGEYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGDVFSVLSVLSLSPGK

```

图9

人 IL-15 前体序列

>sp|P40933  
 MRISKPHLRSISIQYLCLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYT  
 ESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS  
 FVHIVQMFINTS

人 IL-15 成熟形式序列

>sp|P40933|49-162  
 NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSS  
 SNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

人 IL-15R $\alpha$  序列

>sp|Q13261  
 MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLRRPPATRGITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC  
 VLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAALVHQRPAPPSVTTAGVTPQPELSPSGKEPAASSPSSNNTAATAAIVPGS  
 QLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLLA  
 CYLKSRTPPPLASVEMEALPVTWGTSSRDEDELENCSHHL

人 IL-15R $\alpha$ , 细胞外结构域

>sp|Q13261|31-205  
 ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAALVHQRP  
 APSTVTTAGVTPQPELSPSGKEPAASSPSSNNTAATAAIVPGSQLMPKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTA  
 KNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT

图10A

人 IL-15R $\alpha$ , sushi 结构域

>sp|Q13261|31-95  
 ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR

人 IL-15R $\beta$  序列

>sp|P14784

MAAPALSWRLPLLLIPLATSWASAAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCE  
 LLPVSQASWACNLIIGAPDSQKLTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVHVHETHRCNI  
 SWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPTDQYEFQVRVKPLQGEFTTWSFWSQ  
 PLAFRTKPAALGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLINCRNTGPWLKVKLKCNTPPDPSKFFSLSSEHGGDV  
 QKWLSPFPSSSFPGLAPEISPLEVLERDKVTQLLQODKVPPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEI  
 EACQVYFTYDYPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPPSRDLLLLFSPSLLGGSPSPSTAPGGSGA  
 GEERMPPSLQERVPRDWDPPQLGPPPTPGVVDLVDFFQPPPELVLREAGEEVPDAGPREGVSPFWSRPPGQGEFRAL  
 NARLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV

人 IL-15R $\beta$ , 细胞外结构域

>sp|P14784|27-240  
 AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLIIGAPDSQKLTTV  
 DIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVHVHETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGH  
 TWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPTDQYEFQVRVKPLQGEFTTWSFWSQPLAFRTKPAALGKDT

图10B

>XENP22853 人 IL15 (GGGGG)1-人 IL15Ra(Sushi) (GGGGG)1 Fc(216) IgG1 pl(-)  
)\_等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-  
Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

XENP22853 链 1-人 IL15 (GGGGG)1-Fc(216)\_IgG1\_pl(-)  
)\_等排\_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S  
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLII LANNLSLSSNGV  
TESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVCMFINTS /GGGGG/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR  
TPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT  
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS  
RWEQGDVFPSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

图11A

>XENP022822 人 IL15 Q108E (GGGGG)<sub>1</sub>- 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGG)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-)  
)\_等排 A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S-Fc(216) IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q

链 1- 人 IL15\_Q108E (GGGGG)<sub>1</sub> (1769)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLII LANNLSL  
SNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVEMFINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP  
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
CKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTP  
PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2- 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGG)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-)  
)\_等排 A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S-Fc(216) IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q (15908)

ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R/GGGGS/EPK  
SSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP023504 人 IL15 Q108E (GGGGG)<sub>1</sub>- 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGG)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-)  
)\_等排 A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-  
Fc(216) IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1- 人 IL15\_Q108E (GGGGG)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-)  
)\_等排 A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLII LANNLSL  
SNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVEMFINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP  
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
CKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTP  
PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 2- 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGG)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357QM428L/N434S

ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R/GGGGS/EPK  
SSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHSHYTQKSLSLSPGK

图11B

>XENP024045 人 IL15 D30N/E64Q/N65D (GGGGS)<sub>1</sub>-  
 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGS)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S-  
 Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

链 1 - 人 IL15 D30N/E64Q/N65D (GGGGS)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-)  
 ) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPGCKVTAMKCFLELEQVISLESGDASIHDTVQDLILLANNLSL  
SNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPP  
 KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTP  
 PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGS)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

ITCPPMSEVHADIVKSYSLYSRERYICNSGFKRAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR/GGGGS/EPK  
SSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE  
 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP022821 - 人 IL15 N65D (GGGGS)<sub>1</sub>- 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGS)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-)  
 ) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S-Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

链 1 - 人 IL15 N65D (GGGGS)<sub>1</sub> (17692)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPGCKVTAMKCFLELEQVISLESGDASIHDTVEDLILLANNLSL  
SNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPP  
 KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTP  
 PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 人 IL15Rα(Sushi) (GGGGS)<sub>1</sub> Fc(216) IgG1 pl(-)

) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S-Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q (15908)

ITCPPMSEVHADIVKSYSLYSRERYICNSGFKRAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR/GGGGS/EPK  
SSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE  
 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图11C

>XENP023343 - 人 IL15 N65D (GGGGS)1- 人 IL15Ra(Sushi) (GGGGS)1 Fc(216) IgG1 pl(-)  
 ) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-  
 Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - 人 IL15\_N65D\_(GGGGS)1\_Fc(216)\_IgG1\_pl(-)  
 )\_等排 \_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (18295)  
 NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEDLIILANNSLS  
 SNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP  
 KPKDTLMI SRTP EVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
 CKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTT P  
 PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSVCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 人 IL15Ra(Sushi)\_(GGGGS)1\_Fc(216)\_IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S  
 (17761)  
 ITCPPMSEVHADIIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKGAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKCI R/GGGGS/EPK  
 SSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTP EVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVCSVLHEALHSHYTQKSLSL  
 PGK

>XENP023557 - 人 IL15 N4D/N65D (GGGGS)1- 人 IL15Ra(Sushi) (GGGGS)1 Fc(216) IgG1 pl(-)  
 ) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S -Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

链 1 - 人 IL15\_N4D/N65D\_(GGGGS)1\_Fc(216)\_IgG1\_pl(-)  
 )\_等排 \_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S (18786)  
 NWDVVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEDLIILANNSLS  
 SNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP  
 KPKDTLMI SRTP EVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
 CKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTT P  
 PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 人 IL15Ra(Sushi)\_(GGGGS)1\_Fc(216)\_IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q (15908)  
 ITCPPMSEVHADIIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKGAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKCI R/GGGGS/EPK  
 SSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTP EVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSL  
 PGK

图11D

>XENP024113 人 IL15 N4D/N65D (GGGG5)1-人 IL15Ra(Sushi) (GGGG5)1 Fc(216) IgG1 pl(-)  
)\_等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-  
Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1-人\_IL15\_N4D/N65D\_(GGGG5)1\_Fc(216)\_IgG1\_pl(-  
)\_等排\_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S  
NWVDVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEDLIILANNSLS  
SNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS/GGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP  
KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTP  
PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 2-人\_IL15Ra(Sushi)\_(GGGG5)1\_Fc(216)\_IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

ITCPPPMSVEHADIIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR/GGGGS/EPK  
SSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVLHEALHSHYTQKSLSL  
PGK

>XENP024051 人 IL15 N1D/N65D-人 IL15Ra(Sushi) Fc(216) IgG1 pl(-)  
)\_等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S-Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

链 1-人\_IL15\_N1D/N65D-人\_Fc(216)\_IgG1\_pl(-  
)\_等排\_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S  
DWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEDLIILANNSLS  
SNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL  
MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK  
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTPPVLDS D  
GSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2-人\_IL15Ra(Sushi)-Fc(216)\_IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q

ITCPPPMSVEHADIIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR/EPKSSDKTH  
TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY  
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS  
DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图11E

>XENP024341 人 IL15 N1D/N65D-人 IL15Rα(Sushi) Fc(216) IgG1 pl(-)  
 ) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-  
 Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1- 人 IL15\_N1D/N65D- 人 Fc(216)\_IgG1\_pl(-)

) 等排\_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S

DWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVEDLIILANNSLS  
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS /EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL  
 MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK  
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDS  
 GSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSVCSVLHEALHSHYDQKSLSLSPGK

链 2- 人 IL15Rα(Sushi)\_Fc(216)\_IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR /EPKSSDKTH  
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY  
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVCLTKLVKGFYPS  
 DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVCSVLHEALHSHYDQKSLSLSPGK

>XENP024052 人 IL15 N4D/N65D-人 IL15Rα(Sushi) Fc(216) IgG1 pl(-)

) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S-Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

链 1- 人 IL15\_N4D/N65D- 人 Fc(216)\_IgG1\_pl(-)

) 等排\_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S

NWVDVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVEDLIILANNSLS  
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS /EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL  
 MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK  
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDS  
 GSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSVCSVMHEALHSHYDQKSLSLSPGK

链 2- 人 IL15Rα(Sushi)\_Fc(216)\_IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR /EPKSSDKTH  
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY  
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVCLTKLVKGFYPS  
 DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVCSVMHEALHSHYDQKSLSLSPGK

图11F

>XENP024301 人 IL15 N4D/N65D-人 IL15R $\alpha$ (Sushi) Fc(216) IgG1 pl(-)  
 ) 等排 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-  
 Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1-人\_IL15\_N4D/N65D\_Fc(216)\_IgG1\_pl(-)

) 等排\_A\_C220S/PVA\_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S

NWVDVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVEDLIILANNSLS  
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL  
 MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK  
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSD  
 GSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVVFSCSVLHEALHSHYQTQKSLSLSPGK

链 2-人\_IL15R $\alpha$ (Sushi)\_Fc(216)\_IgG1\_C220S/PVA\_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR/EPKSSDKTH  
TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY  
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVCLVKGFYPS  
 DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVVFSCSVLHEALHSHYQTQKSLSLSPGK

图11G