



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113924311 A

(43) 申请公布日 2022.01.11

(21) 申请号 202080018011.6

(22) 申请日 2020.01.06

(30) 优先权数据

62/789,075 2019.01.07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.08.31

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/012296 2020.01.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/146221 EN 2020.07.16

(71) 申请人 印希比股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·C·蒂莫尔 B·P·埃克曼

K·M·威利斯 F·J·苏兹迈耶

B·R·贝克兰德

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int.Cl.

C07K 14/435 (2006.01)

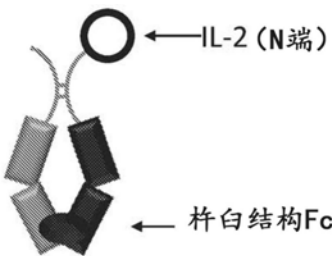
权利要求书7页 说明书53页
序列表107页 附图31页

(54) 发明名称

包含修饰的IL-2多肽的多肽及其用途

(57) 摘要

本文提供了包含修饰的IL-2的多肽,其中相对于野生型IL-2,所述修饰的IL-2具有降低的对IL-2受体的亲和力。在一些实施方案中,提供了包含修饰的IL-2的多肽,所述多肽结合并激动激活的T细胞。还提供了所述包含修饰的IL-2的多肽的用途。



1. 一种包含修饰的IL-2的多肽,其中所述修饰的IL-2在选自P65、D84、E95、M23和H16的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。
2. 根据权利要求1所述的多肽,其中所述修饰的IL-2是修饰的人IL-2。
3. 根据权利要求1或权利要求2所述的多肽,其中所述氨基酸位置对应于SEQ ID NO:1中的氨基酸位置。
4. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置P65处包含取代。
5. 根据权利要求4所述的多肽,其中所述取代选自P65R、P65E、P65K、P65H、P65Y、P65Q、P65D和P65N。
6. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置H16处包含取代。
7. 根据权利要求6所述的多肽,其中所述取代选自H16A、H16G、H16S、H16T、H16V和H16P。
8. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置D84处包含取代。
9. 根据权利要求8所述的多肽,其中所述取代选自D84S、D84G、D84A、D84T、D84V和D84P。
10. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置P65、H16和D84处包含取代。
11. 根据权利要求10所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A和D84S。
12. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置M23处包含取代。
13. 根据权利要求12所述的多肽,其中所述取代选自M23A、M23G、M23S、M23T、M23V和M23P。
14. 根据权利要求13所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S和M23A。
15. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置E95处包含取代。
16. 根据权利要求15所述的多肽,其中所述取代选自E95Q、E95G、E95S、E95T、E95V、E95P、E95H和E95N。
17. 根据权利要求16所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S和E95Q。
18. 根据权利要求17所述的多肽,其中其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S、M23A和E95Q。
19. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置F42处包含取代。
20. 根据权利要求19所述的多肽,其中所述在F42处的取代选自F42K、F42A、F42R、F42A、F42G、F42S和F42T。
21. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在选自Y45和L72的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。
22. 根据权利要求21所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含至少一个选自Y45A和L72G

的取代。

23. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2在选自T3和C125的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。

24. 根据权利要求23所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2包含至少一个选自T3A和C125A的取代。

25. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2包含选自以下的取代集: H16A-F42K; D84S-F42K; E15S-F42K; M23A-F42K; E95Q-F42K; P65R-H16A; P65R-D84S; P65R-E15S; P65R-M23A; P65R-E95Q; T3A-C125S; T3A-P65R-C125S; T3A-H16A-C125S; T3A-D84S-C125S; T3A-H16A-P65R-C125S; T3A-P65R-D84S-C125S; T3A-H16A-P65R-D84S-C125S; T3A-H16A-M23A-P65R-D84S-C125S; T3A-H16A-P65R-D84S-E95Q-C125S以及T3A-H16A-M23A-P65R-D84S-E95Q-C125S。

26. 根据权利要求25所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2包含所述取代集, 并且不包含任何另外的取代。

27. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2包含与SEQ ID NO: 84至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

28. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2包含与选自SEQ ID NO: 3-9、11-21和23-31的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

29. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2包含选自SEQ ID NO: 3-9、11-21和23-31的氨基酸序列。

30. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽, 其中所述多肽包含Fc区。

31. 根据权利要求30所述的多肽, 其中所述修饰的IL-2与所述Fc区的N端或C端融合。

32. 根据权利要求30或权利要求31所述的多肽, 其中所述Fc区在Kabat氨基酸位置T366处包含取代。

33. 根据权利要求32所述的多肽, 其中所述Fc区包含T366W取代。

34. 根据权利要求31所述的多肽, 其中所述Fc区在至少一个选自T366、L368和Y407的Kabat氨基酸位置处包含至少一个取代。

35. 根据权利要求34所述的多肽, 其中所述Fc区包含T366S、L368A和Y407V突变。

36. 根据权利要求30-35中任一项所述的多肽, 其中所述Fc区在选自S354和Y349的Kabat位置处包含取代。

37. 根据权利要求36所述的多肽, 其中所述Fc区包含S354C或Y349C取代。

38. 根据权利要求30-37中任一项所述的多肽, 其中所述Fc区在Kabat氨基酸位置H435处包含取代。

39. 根据权利要求38所述的多肽, 其中所述Fc区包含选自H435R和H435K的取代。

40. 根据权利要求30-39中任一项所述的多肽, 其中所述Fc区在至少一个选自M252和M428的Kabat氨基酸位置处包含至少一个取代。

41. 根据权利要求40所述的多肽, 其中所述Fc区包含M252Y和M428V取代。

42. 根据权利要求30-41中任一项所述的多肽, 其中所述Fc区包含Kabat氨基酸E233、L234和L235的缺失。

43. 根据权利要求30-41中任一项所述的多肽,其中所述Fc区在选自L234、L235和P329的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。

44. 根据权利要求43所述的多肽,其中所述Fc区包含L234A、L235A和P329G取代。

45. 根据权利要求30-44中任一项所述的多肽,其中所述Fc区包含与选自SEQ ID NO: 47-83的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

46. 根据权利要求30-44中任一项所述的多肽,其中所述Fc区是重链恒定区的一部分。

47. 根据权利要求46所述的多肽,其中所述重链恒定区是IgG恒定区。

48. 根据权利要求47所述的多肽,其中所述重链恒定区是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4恒定区。

49. 根据权利要求30-48中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2与所述Fc区或重链恒定区的C端融合。

50. 根据权利要求49所述的多肽,其中所述修饰的IL-2经由包含1-20个氨基酸的接头与所述Fc区或重链恒定区的C端融合。

51. 根据权利要求50所述的多肽,其中所述接头包含甘氨酸氨基酸。

52. 根据权利要求51所述的多肽,其中所述接头包含甘氨酸和丝氨酸氨基酸。

53. 根据权利要求50-52中任一项所述的多肽,其中所述接头中的大部分或全部氨基酸是甘氨酸和丝氨酸。

54. 根据权利要求30-33、42和49-53中任一项所述的多肽,其中所述多肽包含SEQ ID NO: 86、87、102、103或104的氨基酸序列。

55. 根据前述权利要求中任一项所述的多肽,其中所述多肽包含至少一个抗原结合结构域。

56. 根据权利要求55所述的多肽,其中所述多肽包含两个、三个或四个抗原结合结构域。

57. 根据权利要求55或权利要求56所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合T细胞抗原或自然杀伤细胞抗原。

58. 根据权利要求55-57中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合CD4⁺T细胞抗原或CD8⁺T细胞抗原。

59. 根据权利要求58所述的多肽,其中所述至少一个抗原结合结构域特异性结合激活的CD4⁺T细胞或激活的CD8⁺T细胞上的抗原。

60. 根据权利要求55-59中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域是激动剂。

61. 根据权利要求55-59中任一项所述的多肽,其中所述抗原结合结构域是拮抗剂。

62. 根据权利要求55-61中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、4-1BB、OX40、GITR、CD8a、CD8b、CD4、Nkp30、NKG2A、TIGIT、TGFβR1、TGFβR2、Fas、NKG2D、Nkp46、PD-L1、CD107a、ICOS、TNFR2或CD16a。

63. 根据权利要求55-62中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合PD-1。

64. 根据权利要求55-63中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域是人或人

源化抗原结合结构域。

65. 根据权利要求64所述的多肽, 其中每个抗原结合结构域独立地是人或人源化抗原结合结构域。

66. 根据权利要求55-65中任一项所述的多肽, 其中至少一个抗原结合结构域包含VHH结构域。

67. 根据权利要求66所述的多肽, 其中每个抗原结合结构域包含VHH结构域。

68. 根据权利要求55-65中任一项所述的多肽, 其中至少一个抗原结合结构域包含VH结构域和VL结构域。

69. 根据权利要求68所述的多肽, 其中至少一个抗原结合结构域包含选自以下的抗体的VH结构域和VL结构域: 派姆单抗、纳武单抗、AMP-514、TSR-042、STI-A1110、伊匹单抗、曲美单抗、乌瑞鲁单抗、乌托鲁单抗、阿特殊单抗和度伐鲁单抗。

70. 根据权利要求68或69所述的多肽, 其中所述至少一个抗原结合结构域包含单链Fv(scFv)。

71. 根据权利要求68或69所述的多肽, 其中所述多肽包含重链恒定区, 其中所述VH结构域与所述重链恒定区融合, 并且其中所述VL结构域与所述VH结构域关联。

72. 根据权利要求71所述的多肽, 其中所述VL结构域与轻链恒定区融合。

73. 根据权利要求72所述的多肽, 其中所述轻链恒定区选自 κ 和 λ 。

74. 根据权利要求55-73中任一项所述的多肽, 其中每个所述抗原结合结构域是相同的。

75. 根据权利要求55-74所述的多肽, 其中每个所述抗原结合结构域特异性结合相同的抗原。

76. 根据权利要求55-73所述的多肽, 其中至少一个所述抗原结合结构域与至少一个其他抗原结合结构域特异性结合不同的抗原。

77. 根据权利要求55-73中任一项所述的多肽, 其中至少一个抗原结合结构域特异性结合PD-1, 并且至少一个其他抗原结合结构域特异性结合除PD-1之外的T细胞抗原或自然杀伤细胞抗原。

78. 根据权利要求55-77中任一项所述的多肽, 其中至少一个抗原结合结构域结合PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、4-1BB、OX40、GITR、CD8a、CD8b、CD4、NKp30、NKG2A、TIGIT、TGF β R1、TGF β R2、Fas、NKG2D、NKp46、PD-L1、CD107a、ICOS、TNFR2或CD16a。

79. 根据权利要求31-78中任一项所述的多肽, 其中所述多肽在生理条件下形成同二聚体。

80. 根据权利要求1-79中任一项所述的多肽, 其中与人野生型IL-2对于IL-2R的亲合力相比, 所述修饰的IL-2以至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少50倍或至少100倍的亲合力结合人IL-2R。

81. 一种包含第一多肽和第二多肽的复合物, 其中所述第一多肽是根据权利要求1-79中任一项所述的多肽。

82. 根据权利要求81所述的复合物, 其中所述第一多肽包含第一Fc区并且所述第二多肽包含第二Fc区。

83. 根据权利要求81或82所述的复合物, 其中每个Fc区是选自人IgG1、IgG2、IgG3、IgG4

的同种型的。

84. 根据权利要求83所述的复合物, 其中每个Fc区是人IgG1的。

85. 根据权利要求81-84中任一项所述的复合物, 其中每个Fc区包含氨基酸E233、L234和L235的缺失。

86. 根据权利要求81-85中任一项所述的复合物, 其中每个Fc区包含H435R或H435K突变。

87. 根据权利要求81-86中任一项所述的复合物, 其中所述Fc区包含突变M252Y和M428L或突变M252Y和M428V。

88. 根据权利要求81-87中任一项所述的复合物, 其中所述第一Fc区或所述第二Fc区包含T366W突变, 并且另一个Fc区包含突变T366S、L368A和Y407V。

89. 根据权利要求88所述的复合物, 其中所述第一Fc区或所述第二Fc区包含S354C突变。

90. 根据权利要求81-89中任一项所述的复合物, 其中每个Fc区独立地包含与选自SEQ ID NO: 47-83的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

91. 根据权利要求81-90中任一项所述的复合物, 其中所述第二多肽不包含修饰的IL2。

92. 根据权利要求81-91中任一项所述的复合物, 其中所述第一多肽包含至少一个抗原结合结构域。

93. 根据权利要求81-92中任一项所述的复合物, 其中所述第二多肽包含至少一个抗原结合结构域。

94. 根据权利要求81-93中任一项所述的复合物, 其中所述第一多肽包含第一抗原结合结构域、Fc区和修饰的IL-2。

95. 根据权利要求94所述的复合物, 其中所述第一抗原结合结构域与所述Fc区的N端融合, 并且所述修饰的IL-2与所述Fc区的C端融合。

96. 根据权利要求94或95所述的复合物, 其中所述第二多肽包含第二抗原结合结构域和Fc区。

97. 根据权利要求96所述的复合物, 其中所述第一抗原结合结构域和所述第二抗原结合结构域是相同或不同的。

98. 根据权利要求97所述的复合物, 其中:

- a) 所述第一抗原结合结构域和所述第二抗原结合结构域均结合PD-1;
- b) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合LAG3;
- c) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合CTLA-4;
- d) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合4-1BB;
- e) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合OX40;
- f) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合GITR;
- g) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合CD8a;
- h) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合CD8b;
- i) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合CD4;
- j) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1, 并且所述第二抗原结合结构域结合NKp30;

k) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合NKG2A;
l) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合TIGIT;
m) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合NKG2D;
n) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
o) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
p) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合CD107a;
q) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合NKp46;
r) 所述第一抗原结合结构域结合CD8a,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
s) 所述第一抗原结合结构域结合CD8a,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
t) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2D,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
u) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2D,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
v) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2A,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
w) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2A,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
x) 所述第一抗原结合结构域结合NKp46,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
y) 所述第一抗原结合结构域结合NKp46,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
z) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合LAG3;
aa) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合Tim3;
bb) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合OX40;
cc) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合GITR;
dd) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合CD107a;
ee) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合NKp46;
或者

ff) 所述第一抗原结合结构域结合ICOS,并且所述第二抗原结合结构域结合TNFR2。

99. 根据权利要求81-98中任一项所述的复合物,其中与人野生型IL-2对于IL-2R的亲合力相比,所述修饰的IL-2以至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少50倍或至少100倍的亲合力结合人IL-2R。

100. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-80中任一项所述的多肽或根据权利要求81-99中任一项所述的复合物和药学上可接受的载体。

101. 一种分离的核酸,其编码根据权利要求1-80中任一项所述的多肽或根据权利要求81-99中任一项所述的复合物。

102. 一种表达载体,其包含根据权利要求101所述的核酸。

103. 一种分离的宿主细胞,其包含根据权利要求101所述的核酸或根据权利要求102所述的表达载体。

104. 一种分离的宿主细胞,其表达根据权利要求1-80中任一项所述的多肽或根据权利要求81-99中任一项所述的复合物。

105. 一种产生根据权利要求1-80中任一项所述的多肽或根据权利要求81-99中任一项所述的复合物的方法,其包括在适合表达所述多肽或复合物的条件下孵育根据权利要求103或权利要求104所述的宿主细胞。

106. 根据权利要求105所述的方法,其还包括分离所述多肽或复合物。

107. 一种增加CD4+和/或CD8+T细胞增殖的方法,其包括使T细胞与根据权利要求1-80中任一项所述的多肽或根据权利要求81-99中任一项所述的复合物接触。

108. 根据权利要求107所述的方法,其中所述CD4+和/或CD8+T细胞在体外。

109. 根据权利要求107所述的方法,其中所述CD4+和/或CD8+T细胞在体内。

110. 根据权利要求107-109中任一项所述的方法,其中所述增加为至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍。

111. 一种增加NK细胞增殖的方法,其包括使NK细胞与根据权利要求1-80中任一项所述的多肽或根据权利要求81-99中任一项所述的复合物接触。

112. 根据权利要求111所述的方法,其中所述增加为至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍。

113. 一种治疗癌症的方法,其包括向患有癌症的受试者施用药学有效量的根据权利要求1-80中任一项所述的多肽或根据权利要求81-99中任一项所述的复合物或根据权利要求100所述的药物组合物。

114. 根据权利要求113所述的方法,其中所述癌症选自基底细胞癌;胆道癌;膀胱癌;骨癌;脑和中枢神经系统癌症;乳腺癌;腹膜癌;宫颈癌;绒毛膜癌;结直肠癌;结缔组织癌;消化系统癌症;子宫内膜癌;食道癌;眼癌;头颈癌;胃癌;胃肠癌;胶质母细胞瘤;肝癌;肝肿瘤;上皮内瘤;肾脏癌或肾癌;喉癌;肝脏癌症;肺癌;小细胞肺癌;非小细胞肺癌;肺腺癌;肺鳞癌;黑色素瘤;骨髓瘤;神经母细胞瘤;口腔癌;卵巢癌;胰腺癌;前列腺癌;视网膜母细胞瘤;横纹肌肉瘤;直肠癌;呼吸系统癌症;唾液腺癌;肉瘤;皮肤癌;鳞状细胞癌;胃癌;睾丸癌;甲状腺癌;子宫或子宫内膜癌;泌尿系统癌症;外阴癌;淋巴瘤;霍奇金淋巴瘤;非霍奇金淋巴瘤;B细胞淋巴瘤;低级别/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL);小淋巴细胞(SL)NHL;中级/滤泡性NHL;中级弥漫性NHL;高级别免疫母细胞NHL;高级别淋巴母细胞NHL;高级别小非裂解细胞NHL;大肿块NHL;套细胞淋巴瘤;艾滋病相关淋巴瘤;华氏巨球蛋白血症;慢性淋巴细胞白血病(CLL);急性成淋巴细胞性白血病(ALL);毛细胞白血病;和慢性成髓细胞性白血病。

115. 根据权利要求113或114所述的方法,其还包括施用另外的治疗剂。

116. 根据权利要求115所述的方法,其中所述另外的治疗剂是抗癌剂。

117. 根据权利要求116所述的方法,其中所述抗癌剂选自化疗剂、抗癌生物制剂、放射疗法、CAR-T疗法和溶瘤病毒。

118. 根据权利要求116或权利要求117所述的方法,其中所述另外的治疗剂是抗癌生物制剂。

119. 根据权利要求118所述的方法,其中所述抗癌生物制剂是抑制PD-1和/或PD-L1的药剂。

120. 根据权利要求118所述的方法,其中所述抗癌生物制剂是抑制VISTA、gpNMB、B7H3、B7H4、HHLA2、CTLA4或TIGIT的药剂。

121. 根据权利要求116-120中任一项所述的方法,其中所述抗癌剂是抗体。

122. 根据权利要求118所述的方法,其中所述抗癌生物制剂是细胞因子。

123. 根据权利要求116所述的方法,其中所述抗癌剂是CAR-T疗法。

124. 根据权利要求116所述的方法,其中所述抗癌剂是溶瘤病毒。

125. 根据权利要求113-124中任一项所述的方法,其还包括肿瘤切除术和/或放射疗法。

包含修饰的IL-2多肽的多肽及其用途

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求2019年1月7日提交的美国临时申请号62/789,075的优先权权益,将所述临时申请出于任何目的通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0002] 本发明涉及具有降低的对CD25和CD122的亲力的修饰的IL-2以及与靶向部分融合的这种修饰的IL-2。本发明还涉及使用修饰的IL-2和包含修饰的IL-2的多肽的方法,包括但不限于治疗癌症的方法。

背景技术

[0003] IL-2是一种有力的细胞因子,可通过由CD25、CD122和CD132构成的异三聚体IL-2受体(IL-2R)或仅由CD122和CD132构成的异二聚体IL-2受体刺激T和NK细胞增殖。两种形式的IL-2R都是T细胞存活、增殖和整体激活状态的有力介导体。IL-2通常由T细胞和NK细胞在激活后产生,并在局部微环境中以顺式和反式介导信号传导。IL-2R信号传导可以诱导幼稚T细胞分化为效应T细胞和记忆T细胞,并且还可以刺激抑制性调节性T细胞。尽管三聚体形式的IL-2R对IL-2的亲合力高于二聚体形式,但两者都具有相当高的亲合力并导致受体介导的快速内化和降解,从而导致极短的半衰期。重组人IL-2(rhIL-2,阿地白介素(Proleukin))在临床上用于治疗肾细胞癌和恶性黑色素瘤;然而,它关联严重的毒性。由于IL-2信号传导对表达高亲合力IL-2R的内皮细胞的效应,血管渗漏综合征是接受阿地白介素治疗的癌症患者的主要毒性问题。

[0004] T细胞通过其TCR与呈递结合了互补肽的MHC的相邻细胞的连接而被激活,从而导致TCR复合物聚集并通过NFAT传导信号。通过CD28对T细胞的共刺激由CD80和CD86驱动,从而增强T细胞激活。在初始激活后,T细胞上调多种蛋白质,包括细胞因子受体以及许多用于调节T细胞应答的共刺激和检查点受体。

[0005] 最近报道了针对检查点受体(如CTLA-4、PD-1和PD-L1)的拮抗剂抗体具有持久的抗肿瘤临床反应。然而,即使在最具反应性的适应症中,反应率也仅限于约30%的患者。因此,需要改进的T细胞调节疗法。

发明内容

[0006] 本文提供了包含修饰的IL-2的多肽,所述修饰的IL-2在至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。在一些实施方案中,相对于野生型IL-2,所述修饰的IL-2具有降低的对CD25、CD122和/或IL-2R的结合亲合力。在一些实施方案中,相对于野生型IL-2,所述修饰的IL-2具有降低的对静息或激活T细胞的活性。

实施方案1.一种包含修饰的IL-2的多肽,其中所述修饰的IL-2在选自P65、D84、E95、M23和H16的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。

实施方案2.根据实施方案1所述的多肽,其中所述修饰的IL-2是修饰的人IL-2。

实施方案3.根据实施方案1或实施方案2所述的多肽,其中所述氨基酸位置对应于SEQ ID NO:1中的氨基酸位置。

实施方案4.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置P65处包含取代。

实施方案5.根据实施方案4所述的多肽,其中所述取代选自P65R、P65E、P65K、P65H、P65Y、P65Q、P65D和P65N。

实施方案6.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置H16处包含取代。

实施方案7.根据实施方案6所述的多肽,其中所述取代选自H16A、H16G、H16S、H16T、H16V和H16P。

实施方案8.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置D84处包含取代。

实施方案9.根据实施方案8所述的多肽,其中所述取代选自D84S、D84G、D84A、D84T、D84V和D84P。

实施方案10.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置P65、H16和D84处包含取代。

实施方案11.根据实施方案10所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A和D84S。

实施方案12.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置M23处包含取代。

实施方案13.根据实施方案12所述的多肽,其中所述取代选自M23A、M23G、M23S、M23T、M23V和M23P。

实施方案14.根据实施方案13所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S和M23A。

实施方案15.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置E95处包含取代。

实施方案16.根据实施方案15所述的多肽,其中所述取代选自E95Q、E95G、E95S、E95T、E95V、E95P、E95H和E95N。

实施方案17.根据实施方案16所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S和E95Q。

实施方案18.根据实施方案17所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S、M23A和E95Q。

实施方案19.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在氨基酸位置F42处包含取代。

实施方案20.根据实施方案19所述的多肽,其中所述在F42处的取代选自F42K、F42A、F42R、F42A、F42G、F42S和F42T。

实施方案21.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在选自Y45和L72的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。

实施方案22.根据实施方案21所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含至少一个选

自Y45A和L72G的取代。

实施方案23.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2在选自T3和C125的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。

实施方案24.根据实施方案23所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含至少一个选自T3A和C125A的取代。

实施方案25.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含选自以下的取代集:H16A-F42K;D84S-F42K;E15S-F42K;M23A-F42K;E95Q-F42K;P65R-H16A;P65R-D84S;P65R-E15S;P65R-M23A;P65R-E95Q;T3A-C125S;T3A-P65R-C125S;T3A-H16A-C125S;T3A-D84S-C125S;T3A-H16A-P65R-C125S;T3A-P65R-D84S-C125S;T3A-H16A-P65R-D84S-C125S;T3A-H16A-M23A-P65R-D84S-C125S;T3A-H16A-P65R-D84S-E95Q-C125S以及T3A-H16A-M23A-P65R-D84S-E95Q-C125S。

实施方案26.根据实施方案25所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含所述取代集,并且不包含任何另外的取代。

实施方案27.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含与SEQ ID NO:84至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

实施方案28.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含与选自SEQ ID NO:3-9、11-21和23-31的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

实施方案29.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2包含选自SEQ ID NO:3-9、11-21和23-31的氨基酸序列。

实施方案30.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述多肽包含Fc区。

实施方案31.根据实施方案30所述的多肽,其中所述修饰的IL-2与所述Fc区的N端或C端融合。

实施方案32.根据实施方案30或实施方案31所述的多肽,其中所述Fc区在Kabat氨基酸位置T366处包含取代。

实施方案33.根据实施方案32所述的多肽,其中所述Fc区包含T366W取代。

实施方案34.根据实施方案31所述的多肽,其中所述Fc区在选自T366、L368和Y407的至少一个Kabat氨基酸位置处包含至少一个取代。

实施方案35.根据实施方案34所述的多肽,其中所述Fc区包含T366S、L368A和Y407V突变。

实施方案36.根据实施方案30-35中任一项所述的多肽,其中所述Fc区在选自S354和Y349的Kabat位置处包含取代。

实施方案37.根据实施方案36所述的多肽,其中所述Fc区包含S354C或Y349C取代。

实施方案38.根据实施方案30-37中任一项所述的多肽,其中所述Fc区在Kabat氨基酸位置H435处包含取代。

实施方案39.根据实施方案38所述的多肽,其中所述Fc区包含选自H435R和H435K的取代。

实施方案40.根据实施方案30-39中任一项所述的多肽,其中所述Fc区在选自M252

和M428的至少一个Kabat氨基酸位置处包含至少一个取代。

实施方案41.根据实施方案40所述的多肽,其中所述Fc区包含M252Y和M428V取代。

实施方案42.根据实施方案30-41中任一项所述的多肽,其中所述Fc区包含Kabat氨基酸E233、L234和L235的缺失。

实施方案43.根据实施方案30-41中任一项所述的多肽,其中所述Fc区在选自L234、L235和P329的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。

实施方案44.根据实施方案43所述的多肽,其中所述Fc区包含L234A、L235A和P329G取代。

实施方案45.根据实施方案30-44中任一项所述的多肽,其中所述Fc区包含与选自SEQ ID NO:47-83的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

实施方案46.根据实施方案30-44中任一项所述的多肽,其中所述Fc区是重链恒定区的一部分。

实施方案47.根据实施方案46所述的多肽,其中所述重链恒定区是IgG恒定区。

实施方案48.根据实施方案47所述的多肽,其中所述重链恒定区是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4恒定区。

实施方案49.根据实施方案30-48中任一项所述的多肽,其中所述修饰的IL-2与所述Fc区或重链恒定区的C端融合。

实施方案50.根据实施方案49所述的多肽,其中所述修饰的IL-2经由包含1-20个氨基酸的接头与所述Fc区或重链恒定区的C端融合。

实施方案51.根据实施方案50所述的多肽,其中所述接头包含甘氨酸氨基酸。

实施方案52.根据实施方案51所述的多肽,其中所述接头包含甘氨酸和丝氨酸氨基酸。

实施方案53.根据实施方案50-52中任一项所述的多肽,其中所述接头中的大部分或全部氨基酸是甘氨酸和丝氨酸。

实施方案54.根据实施方案30-33、42和49-53中任一项所述的多肽,其中所述多肽包含SEQ ID NO:86、87、102、103或104的氨基酸序列。

实施方案55.根据前述实施方案中任一项所述的多肽,其中所述多肽包含至少一个抗原结合结构域。

实施方案56.根据实施方案55所述的多肽,其中所述多肽包含两个、三个或四个抗原结合结构域。

实施方案57.根据实施方案55或实施方案56所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合T细胞抗原或自然杀伤细胞抗原。

实施方案58.根据实施方案55-57中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合CD4⁺T细胞抗原或CD8⁺T细胞抗原。

实施方案59.根据实施方案58所述的多肽,其中所述至少一个抗原结合结构域特异性结合激活的CD4⁺T细胞或激活的CD8⁺T细胞上的抗原。

实施方案60.根据实施方案55-59中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域是激动剂。

实施方案61.根据实施方案55-59中任一项所述的多肽,其中所述抗原结合结构域是拮抗剂。

实施方案62.根据实施方案55-61中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、4-1BB、OX40、GITR、CD8a、CD8b、CD4、NKp30、NKG2A、TIGIT、TGF β R1、TGF β R2、Fas、NKG2D、NKp46、PD-L1、CD107a、ICOS、TNFR2或CD16a。

实施方案63.根据实施方案55-62中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合PD-1。

实施方案64.根据实施方案55-63中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域是人或人源化抗原结合结构域。

实施方案65.根据实施方案64所述的多肽,其中每个抗原结合结构域独立地是人或人源化抗原结合结构域。

实施方案66.根据实施方案55-65中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域包含VHH结构域。

实施方案67.根据实施方案66所述的多肽,其中每个抗原结合结构域包含VHH结构域。

实施方案68.根据实施方案55-65中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域包含VH结构域和VL结构域。

实施方案69.根据实施方案68所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域包含选自以下的抗体的VH结构域和VL结构域:派姆单抗、纳武单抗、AMP-514、TSR-042、STI-A1110、伊匹单抗、曲美目单抗、乌瑞鲁单抗、乌托鲁单抗、阿特珠单抗和度伐鲁单抗。

实施方案70.根据实施方案68或69所述的多肽,其中所述至少一个抗原结合结构域包含单链Fv(scFv)。

实施方案71.根据实施方案68或69所述的多肽,其中所述多肽包含重链恒定区,其中所述VH结构域与所述重链恒定区融合,并且其中所述VL结构域与所述VH结构域关联。

实施方案72.根据实施方案71所述的多肽,其中所述VL结构域与轻链恒定区融合。

实施方案73.根据实施方案72所述的多肽,其中所述轻链恒定区选自 κ 和 λ 。

实施方案74.根据实施方案55-73中任一项所述的多肽,其中每个所述抗原结合结构域是相同的。

实施方案75.根据实施方案55-74所述的多肽,其中每个所述抗原结合结构域特异性结合相同的抗原。

实施方案76.根据实施方案55-73所述的多肽,其中至少一个所述抗原结合结构域与至少一个其他抗原结合结构域特异性结合不同的抗原。

实施方案77.根据实施方案55-73中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域特异性结合PD-1,并且至少一个其他抗原结合结构域特异性结合除PD-1之外的T细胞抗原或自然杀伤细胞抗原。

实施方案78.根据实施方案55-77中任一项所述的多肽,其中至少一个抗原结合结构域结合PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、4-1BB、OX40、GITR、CD8a、CD8b、CD4、NKp30、NKG2A、TIGIT、TGF β R1、TGF β R2、Fas、NKG2D、NKp46、PD-L1、CD107a、ICOS、TNFR2或CD16a。

实施方案79.根据实施方案31-78中任一项所述的多肽,其中所述多肽在生理条件

下形成同二聚体。

实施方案80.根据实施方案1-79中任一项所述的多肽,其中与人野生型IL-2对于IL-2R的亲合力相比,所述修饰的IL-2以至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少50倍或至少100倍的亲合力结合人IL-2R。

实施方案81.一种包含第一多肽和第二多肽的复合物,其中所述第一多肽是根据实施方案1-79中任一项所述的多肽。

实施方案82.根据实施方案81所述的复合物,其中所述第一多肽包含第一Fc区并且所述第二多肽包含第二Fc区。

实施方案83.根据实施方案81或实施方案82所述的复合物,其中每个Fc区是选自人IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的同种型的。

实施方案84.根据实施方案83所述的复合物,其中每个Fc区是人IgG1。

实施方案85.根据实施方案81-84中任一项所述的复合物,其中每个Fc区包含氨基酸E233、L234和L235的缺失。

实施方案86.根据实施方案81-85中任一项所述的复合物,其中每个Fc区包含H435R或H435K突变。

实施方案87.根据实施方案81-86中任一项所述的复合物,其中所述Fc区包含突变M252Y和M428L或突变M252Y和M428V。

实施方案88.根据实施方案81-87中任一项所述的复合物,其中所述第一Fc区或所述第二Fc区包含T366W突变,并且另一个Fc区包含突变T366S、L368A和Y407V。

实施方案89.根据实施方案88所述的复合物,其中所述第一Fc区或所述第二Fc区包含S354C突变。

实施方案90.根据实施方案81-89中任一项所述的复合物,其中每个Fc区独立地包含与选自SEQ ID NO:47-83的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

实施方案91.根据实施方案81-90中任一项所述的复合物,其中所述第二多肽不包含修饰的IL2。

实施方案92.根据实施方案81-91中任一项所述的复合物,其中所述第一多肽包含至少一个抗原结合结构域。

实施方案93.根据实施方案81-92中任一项所述的复合物,其中所述第二多肽包含至少一个抗原结合结构域。

实施方案94.根据实施方案81-93中任一项所述的复合物,其中所述第一多肽包含第一抗原结合结构域、Fc区和修饰的IL-2。

实施方案95.根据实施方案94所述的复合物,其中所述第一抗原结合结构域与所述Fc区的N端融合,并且所述修饰的IL-2与所述Fc区的C端融合。

实施方案96.根据实施方案94或实施方案95所述的复合物,其中所述第二多肽包含第二抗原结合结构域和Fc区。

实施方案97.根据实施方案96所述的复合物,其中所述第一抗原结合结构域和所述第二抗原结合结构域是相同或不同的。

实施方案98.根据实施方案97所述的复合物,其中:

- a) 所述第一抗原结合结构域和所述第二抗原结合结构域均结合PD-1;
- b) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合LAG3;
- c) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合CTLA-4;
- d) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合4-1BB;
- e) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合OX40;
- f) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合GITR;
- g) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合CD8a;
- h) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合CD8b;
- i) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合CD4;
- j) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合NKp30;
- k) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合NKG2A;
- l) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合TIGIT;
- m) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合NKG2D;
- n) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
- o) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
- p) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合CD107a;
- q) 所述第一抗原结合结构域结合PD-1,并且所述第二抗原结合结构域结合NKp46;
- r) 所述第一抗原结合结构域结合CD8a,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
- s) 所述第一抗原结合结构域结合CD8a,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
- t) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2D,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
- u) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2D,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
- v) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2A,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
- w) 所述第一抗原结合结构域结合NKG2A,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
- x) 所述第一抗原结合结构域结合NKp46,并且所述第二抗原结合结构域结合TGFR β 2;
- y) 所述第一抗原结合结构域结合NKp46,并且所述第二抗原结合结构域结合Fas;
- z) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合LAG3;
- aa) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合Tim3;
- bb) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合OX40;
- cc) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4,并且所述第二抗原结合结构域结合

GITR;

dd) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4, 并且所述第二抗原结合结构域结合CD107a;

ee) 所述第一抗原结合结构域结合CTLA-4, 并且所述第二抗原结合结构域结合NKp46; 或者

ff) 所述第一抗原结合结构域结合ICOS, 并且所述第二抗原结合结构域结合TNFR2。

实施方案99. 根据实施方案81-98中任一项所述的复合物, 其中与人野生型IL-2对于IL-2R的亲和力相比, 所述修饰的IL-2以至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少50倍或至少100倍的亲和力结合人IL-2R。

实施方案100. 一种药物组合物, 其包含根据实施方案1-80中任一项所述的多肽或根据实施方案81-99中任一项所述的复合物和药学上可接受的载体。

实施方案101. 一种分离的核酸, 其编码根据实施方案1-80中任一项所述的多肽或根据实施方案81-99中任一项所述的复合物。

实施方案102. 一种表达载体, 其包含根据实施方案101所述的核酸。

实施方案103. 一种分离的宿主细胞, 其包含根据实施方案101所述的核酸或根据实施方案102所述的表达载体。

实施方案104. 一种分离的宿主细胞, 其表达根据实施方案1-80中任一项所述的多肽或根据实施方案81-99中任一项所述的复合物。

实施方案105. 一种产生根据实施方案1-80中任一项所述的多肽或根据实施方案81-99中任一项所述的复合物的方法, 其包括在适合表达所述多肽或复合物的条件下孵育根据实施方案103或实施方案104所述的宿主细胞。

实施方案106. 根据实施方案105所述的方法, 其还包括分离所述多肽或复合物。

实施方案107. 一种增加CD4+和/或CD8+T细胞增殖的方法, 其包括使T细胞与根据实施方案1-80中任一项所述的多肽或根据实施方案81-99中任一项所述的复合物接触。

实施方案108. 根据实施方案107所述的方法, 其中所述CD4+和/或CD8+T细胞在体外。

实施方案109. 根据实施方案107所述的方法, 其中所述CD4+和/或CD8+T细胞在体内。

实施方案110. 根据实施方案107-109中任一项所述的方法, 其中所述增加为至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍。

实施方案111. 一种增加NK细胞增殖的方法, 其包括使NK细胞与根据实施方案1-80中任一项所述的多肽或根据实施方案81-99中任一项所述的复合物接触。

实施方案112. 根据实施方案111所述的方法, 其中所述增加为至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍。

实施方案113. 一种治疗癌症的方法, 其包括向患有癌症的受试者施用药学有效量的根据实施方案1-80中任一项所述的多肽或根据实施方案81-99中任一项所述的复合物或根据实施方案100所述的药物组合物。

实施方案114. 根据实施方案113所述的方法, 其中所述癌症选自基底细胞癌; 胆道

癌;膀胱癌;骨癌;脑和中枢神经系统癌症;乳腺癌;腹膜癌;宫颈癌;绒毛膜癌;结直肠癌;结缔组织癌;消化系统癌症;子宫内膜癌;食道癌;眼癌;头颈癌;胃癌;胃肠癌;胶质母细胞瘤;肝癌;肝肿瘤;上皮内瘤;肾脏癌或肾癌;喉癌;肝脏癌症;肺癌;小细胞肺癌;非小细胞肺癌;肺腺癌;肺鳞癌;黑色素瘤;骨髓瘤;神经母细胞瘤;口腔癌;卵巢癌;胰腺癌;前列腺癌;视网膜母细胞瘤;横纹肌肉瘤;直肠癌;呼吸系统癌症;唾液腺癌;肉瘤;皮肤癌;鳞状细胞癌;胃癌;睾丸癌;甲状腺癌;子宫或子宫内膜癌;泌尿系统癌症;外阴癌;淋巴瘤;霍奇金淋巴瘤;非霍奇金淋巴瘤;B细胞淋巴瘤;低级别/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL);小淋巴细胞(SL) NHL;中级/滤泡性NHL;中级弥漫性NHL;高级别免疫母细胞NHL;高级别淋巴母细胞NHL;高级别小非裂解细胞NHL;大肿块NHL;套细胞淋巴瘤;艾滋病相关淋巴瘤;华氏巨球蛋白血症;慢性淋巴细胞白血病(CLL);急性成淋巴细胞性白血病(ALL);毛细胞白血病;和慢性成髓细胞性白血病。

实施方案115.根据实施方案113或114所述的方法,其还包括施用另外的治疗剂。

实施方案116.根据实施方案115所述的方法,其中所述另外的治疗剂是抗癌剂。

实施方案117.根据实施方案116所述的方法,其中所述抗癌剂选自化疗剂、抗癌生物制剂、放射疗法、CAR-T疗法和溶瘤病毒。

实施方案118.根据实施方案116或实施方案117所述的方法,其中所述另外的治疗剂是抗癌生物制剂。

实施方案119.根据实施方案118所述的方法,其中所述抗癌生物制剂是抑制PD-1和/或PD-L1的药剂。

实施方案120.根据实施方案118所述的方法,其中所述抗癌生物制剂是抑制VISTA、gpNMB、B7H3、B7H4、HHLA2、CTLA4或TIGIT的药剂。

实施方案121.根据实施方案116-120中任一项所述的方法,其中所述抗癌剂是抗体。

实施方案122.根据实施方案118所述的方法,其中所述抗癌生物制剂是细胞因子。

实施方案123.根据实施方案116所述的方法,其中所述抗癌剂是CAR-T疗法。

实施方案124.根据实施方案116所述的方法,其中所述抗癌剂是溶瘤病毒。

实施方案125.根据实施方案113-124中任一项所述的方法,其还包括肿瘤切除术和/或放射疗法。

附图说明

[0007] 图1A-1H示出各种IL-2融合蛋白形式的示意图。图1A示出IL-2连接至异二聚体杵臼结构IgG1 Fc的N端。图1B示出IL-2连接至单结构域抗体的异二聚体IgG1 Fc的C端。图1C-1E示出IL-2连接至一个VHH(图1E)、两个相同的VHH(图1C)或两个不同的VHH(图1D)。图1F示出IL-2与常规抗体的同二聚体重链恒定区的C端连接。图1G示出IL-2与常规抗体的异二聚体重链恒定区的C端连接。图1H示出IL-2与异二聚体scFv抗体的C端融合。

[0008] 图2A-2C示出如通过流式细胞术测量的如图1A所示的IL-2融合蛋白与293F细胞的结合,所述IL-2融合蛋白包含与异二聚体Fc的N端融合的野生型IL-2(图2A)或修饰的IL-2(图2A-2C),所述293F细胞瞬时转染了IL-2受体(CD25、CD122和CD132)的各种组合。“UT 293F”指示未转染的293F细胞。

[0009] 图3A-3B示出如通过流式细胞术测量的如图1A所示的融合蛋白与293F细胞的结合,所述融合蛋白包含与异二聚体Fc的N端融合的野生型IL-2或修饰的IL-2,所述293F细胞瞬时转染了CD25和CD122。

[0010] 图4A-4B示出如通过流式细胞术测量的如图1A所示的融合蛋白与293F细胞的结合,所述融合蛋白包含与异二聚体Fc的N端融合的野生型IL-2或修饰的IL-2,所述293F细胞瞬时转染了CD122和CD132,或者CD25、CD122和CD132。

[0011] 图5A-5B示出如通过流式细胞术测量的如图1B所示的融合蛋白与静息和激活CD4+T细胞的结合,所述融合蛋白包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2或修饰的IL-2。“同种型对照”指示不包含IL-2的对照蛋白。

[0012] 图6A-6B示出如通过流式细胞术测量的如图1B所示的融合蛋白与富集的调节性T细胞(Treg,图6A)、诱导的调节性T细胞(诱导Treg,图6B)和富集的应答CD4+T细胞(Tresp,图6C)的结合,所述融合蛋白包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2或修饰的IL-2。

[0013] 图7A-7D示出如图1B所示的融合蛋白对静息CD4+和CD8+T细胞的活性,所述融合蛋白包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2或修饰的IL-2。测量增殖(图7A和7C)和CD71水平(图7B和7D)。图7E-7F示出如通过流式细胞术检测细胞内磷酸化STAT5水平测量的如图1B所示的与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2或修饰的IL-2对静息CD4+和CD8+T细胞的活性。“同种型”指示不包含IL-2的对照蛋白。

[0014] 图8A-8B示出在用如图1B所示的融合蛋白处理7天后的增殖和CD25水平(作为富集的Treg激活的标记物),所述融合蛋白包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2或修饰的IL-2。

[0015] 图9A-9D示出派姆单抗、其中IL-2-RAS融合至重链C端的派姆单抗类似物(如图1F所示)以及单独的IL-2-RAS(图9C和9D)对CD8+和CD4+T细胞的活性和结合。对CD8+(图9A)和CD4+(图9B)T细胞的活性是通过CellTrace™Violet的流式细胞术检测来测量。通过流式细胞术测量与CD8+T细胞(图9C)和CD4+T细胞(图9D)的结合程度。

[0016] 图10A-10D示出诱导CD8+和CD4+T细胞增殖对IL-2的依赖性。在没有预先阻断(图10A和10B)或用饱和浓度的派姆单抗预先阻断(图10C和10D)的情况下,派姆单抗、非靶向IL-2-RAS、和其中IL-2-RAS融合至重链C端的派姆单抗类似物(如图1F所示)对CD8+(图10A和10C)或CD4+(图10B和10D)T细胞增殖的作用。

[0017] 图11示出通过其中IL-2-RAS融合至重链C端的派姆单抗类似物(如图1F所示)、以及与非靶向VHH的C端融合的IL-2-RAS(如图1B所示)和与非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2(如图1B所示)对CD4+T应答(Tresp)细胞增殖的恢复。Tresp增殖由CD3接合诱导(Tresp+珠),然后使用自体调节性T细胞(Treg)抑制。“Tresp+珠”线示出在没有Treg细胞的情况下在CD3接合情况下的基线Tresp细胞增殖。“无Ab”线示出在Treg细胞的存在下在CD3接合情况下的基线Tresp细胞增殖。

[0018] 图12A-12B示出由板结合的与非靶向VHH的C端融合的非靶向野生型IL-2(“IL-2WT”)或IL-2-RAS(如图1B所示)对T细胞的反式激活。通过流式细胞术检测细胞内磷酸化STAT5水平来测量T细胞激活。示出CD8+T细胞(图12A)和CD4+T细胞(图12B)应答。

[0019] 图13A-13I示出与靶向NKp46的异二聚体scFv抗体的C端融合的IL-2-RAS(如图1H

所示)、单独的靶向Nkp46的异二聚体scFv抗体、以及包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2或IL-2-RAS的融合蛋白(如图1B所示)对NK细胞、CD8+T细胞、和CD4+T细胞的活性和结合。通过流式细胞术测量NK细胞(图13A)、CD8+T细胞(图13B)和CD4+T细胞(图13C)的增殖以及NK细胞(图13D)、CD8+T细胞(图13E)和CD4+T细胞(图13F)的pSTAT水平。还通过流式细胞术测量了所指示多肽与NK细胞(图13G)、CD8+T细胞(图13H)和CD4+T细胞(图13I)的结合。

[0020] 图14A-14H示出与抗LAG3异二聚体常规抗体(MAb)的C端融合的IL-2-RAS(如图1G所示)、与具有异二聚体Fc的抗LAG3 VHH的C端融合的IL-2-RAS(如图1B所示)、与非靶向VHH的C端融合的IL-2-RAS(如图1B所示)、与非靶向异二聚体Fc的C端融合的野生型IL-2(如图1B所示)、或者靶向LAG3的MAb或靶向LAG3的VHH-Fc分子(无IL-2)对CD8+或CD4+T细胞的活性和结合。通过流式细胞术测量CD8+T细胞(图14A)和CD4+T细胞(图14B)的增殖以及激活标记物CD25(图14C和14D)和CD71(图14E和14F)在CD8+T细胞(图14C和14E)和CD4+T细胞(图14D和14F)上的表达。图14G和14H示出与预激活的CD8+T细胞(图14G)和CD4+T细胞(图14H)的结合。

[0021] 图15示出融合蛋白对HEK-Blue IL-2报告细胞的活性,所述融合蛋白包含与具有异二聚体Fc的VHH的C端融合的所指示的修饰的IL-2(如图1B所示),所述报告细胞不表达VHH靶抗原并因此仅依赖于修饰的IL-2与过表达的IL-2受体的结合以诱导报告基因。测量了在报告细胞中响应于IL-2受体介导的对pSTAT5信号传导的诱导而表达的分泌型胚胎碱性磷酸酶的活性。

具体实施方式

[0022] 本文提供的实施方案涉及包含调节T细胞活性的修饰的IL-2的多肽及其在治疗癌症的各种方法中的用途。

定义和各种实施方案

[0023] 本文使用的章节标题只是出于组织的目的,而不应解释为限制所描述的主题。

[0024] 本文引用的所有参考文献,包括专利申请、专利出版物和Genbank登录号均通过引用并入本文,就好像每个单独的参考文献都被具体地和单独地指示为通过引用以其整体并入。

[0025] 本领域技术人员通常熟知并且一般地使用常规方法采用本文描述或引用的技术和程序,所述常规方法是例如描述在以下参考文献中的广泛使用的方法: Sambrook等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual第3版(2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F.M. Ausubel, 等人编, (2003)); the series METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.): PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M.J. MacPherson, B.D. Hames和G.R. Taylor编(1995)), Harlow和Lane, 编(1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL, and ANIMAL CELL CULTURE (R.I. Freshney, 编(1987)); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, 编, 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, 编, 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney), 编, 1987; Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather和P.E. Roberts, 1998)

Plenum Press;Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A.Doyle, J.B.Griffiths, 和D.G.Newell, 编,1993-8) J.Wiley and Sons;Handbook of Experimental Immunology (D.M.Weir和C.C.Blackwell, 编);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M.Miller和M.P.Calos, 编.,1987);PCR:The Polymerase Chain Reaction, (Mullis等人,eds.,1994);Current Protocols in Immunology (J.E.Coligan等人, 编,1991);Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons,1999); Immunobiology (C.A.Janeway and P.Travers,1997);Antibodies (P.Finch,1997); Antibodies:A Practical Approach (D.Catty., 编,IRL Press,1988-1989);Monoclonal Antibodies:A Practical Approach (P.Shepherd和C.Dean, 编,Oxford University Press,2000);Using Antibodies:A Laboratory Manual (E.Harlow和D.Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press,1999);The Antibodies (M.Zanetti和J.D.Capra, 编,Harwood Academic Publishers,1995);以及Cancer:Principles and Practice of Oncology (V.T.DeVita等人, 编,J.B.Lippincott Company,1993);以及它们的更新版本。

[0026] 除非另外定义,否则结合本公开文本使用的科学和技术术语应具有由本领域普通技术人员通常所理解的含义。此外,除非另外通过上下文要求或明确指出,否则单数的术语应包括复数并且复数术语应包括单数。对于各种来源或参考文献之间的任何定义冲突,以本文提供的定义为准。

[0027] 通常,免疫球蛋白重链中残基的编号是如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md. (1991) 中的EU索引的编号。“如Kabat中的EU索引”是指人IgG1 EU抗体的残基编号。

[0028] 应理解,本文所述的本发明的实施方案包括“由实施方案组成”和/或“基本上由实施方案组成”。除非另有说明,否则如本文所用的单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数个指示物。本文使用术语“或”并不意味着替代方案是相互排斥的。

[0029] 在本申请中,除非本领域技术人员明确说明或理解,否则使用“或”意为“和/或”。在多个从属权利要求的上下文中,“或”的使用回指多于一个前述独立或从属权利要求。

[0030] 短语“参考样品”、“参考细胞”或“参考组织”表示具有至少一种已知特征的样品,所述样品可用作与具有至少一种未知特征的样品的比较物。在一些实施方案中,参考样品可用作阳性或阴性指示物。与具有未知特征的样品中存在的蛋白质和/或mRNA的水平相比,参考样品可用于确定存在于例如健康组织中的蛋白质和/或mRNA的水平。在一些实施方案中,参考样品来自相同的受试者,但来自受试者的与被测试的部分不同的部分。在一些实施方案中,参考样品来自癌症周围或邻近处的组织区域。在一些实施方案中,参考样品不是来自被测试的受试者,而是来自已知患有或未患有所讨论的障碍(例如,特定癌症或T细胞相关障碍)的受试者的样品。在一些实施方案中,参考样品来自同一受试者,但来自受试者发生癌症之前的时间点。在一些实施方案中,参考样品来自于来自相同或不同受试者的良性癌症样品。当阴性参考样品用于比较时,阴性参考样品中所讨论的分子的表达水平或量将指示本领域技术人员在给定本公开文本的情况下认为不存在和/或存在低水平所述分子时的水平。当阳性参考样品用于比较时,阳性参考样品中所讨论的分子的表达水平或量将指示本领域技术人员在给定本公开文本的情况下认为存在一定水平的所述分子时的水平。

[0031] 如本文所用的在受益于或响应于施用治疗剂的上下文中使用的术语“益处”、“临床益处”、“反应性”和“治疗反应性”可以通过评估各种终点来测量,所述终点例如在一定程度上对疾病进展的抑制,包括减慢和完全停止;疾病发作和/或症状的次数的减少;病灶大小的减小;疾病细胞浸润到邻近的外周器官和/或组织的抑制(即减少、减缓或完全终止);疾病传播的抑制(即减少、减缓或完全终止);在一定程度上对与障碍相关的一种或多种症状的缓解;治疗后无病表现的时间例如无进存活期的延长;增加的总存活期;更高的反应率;和/或降低的在治疗后给定时间点的死亡率。“无反应”或“反应失败”的受试者或癌症是未能满足上述“有反应”资格的受试者或癌症。

[0032] 术语“核酸分子”、“核酸”和“多核苷酸”可以互换使用,并且是指核苷酸的聚合物。此类核苷酸聚合物可包含天然和/或非天然核苷酸,并且包括但不限于DNA、RNA和PNA。“核酸序列”是指核酸分子或多核苷酸中包含的核苷酸的线性序列。

[0033] 术语“多肽”和“蛋白质”可互换使用以指代氨基酸残基的聚合物,并且不限于最小长度。氨基酸残基的此类聚合物可以含有天然或非天然氨基酸残基,并且包括但不限于氨基酸残基的肽、寡肽、二聚体、三聚体和多聚体。所述定义涵盖全长蛋白质以及其片段两者。所述术语还包括多肽的表达后修饰,例如糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化等。此外,出于本公开文本的目的,“多肽”是指包括对天然序列的修饰(如缺失、添加和取代,在本质上通常是保守的)的蛋白质,只要所述蛋白质保持期望的活性即可。这些修饰可能是故意的(如通过定点诱变),或者可能是偶然的(如通过产生蛋白质的宿主的突变或由于PCR扩增引起的错误)。“氨基酸序列”是指在多肽或蛋白质中包含的氨基酸的线性序列。

[0034] 如本文所用,“IL-2”或“白细胞介素-2”是指由细胞中IL-2前体的加工产生的任何天然成熟IL-2。除非另有说明,否则所述术语包括来自任何脊椎动物来源的IL-2,所述脊椎动物来源包括哺乳动物,如灵长类动物(例如,人和食蟹猴或恒河猴)和啮齿动物(例如,小鼠和大鼠)。所述术语还包括天然存在的IL-2变体,如剪接变体或等位基因变体。非限制性示例性人IL-2氨基酸序列示于例如GenBank登录号NP_000577.2中。参见SEQ ID NO.1(成熟形式)。

[0035] 如本文所用,“修饰的IL-2”是指由于在至少一个氨基酸位置处的取代而与野生型IL-2氨基酸序列不同的多肽。

[0036] 术语“特异性结合”抗原或表位是本领域熟知的术语,并且确定这种特异性结合的方法也是本领域熟知的。如果相比于分子与替代细胞或物质反应或相关联的情况,所述分子与特定细胞或物质更频繁更快速地以更长的持续时间和/或以更大的亲和力反应或相关联,则所述分子被视为展现出“特异性结合”或“优先结合”。如果相比于抗原结合结构域与其他物质结合的情况,所述抗原结合结构域以更大的亲和力、亲合力更容易地和/或以更长的持续时间与抗原结合,则所述抗原结合结构域“特异性结合”或“优先结合”抗原。例如,特异性或优先结合表位的含有sdAb或VHH的多肽是如下的含有sdAb或VHH的多肽,其相比于结合相同靶抗原上的其他表位或其他靶抗原上的表位的情况以更大的亲和力、亲合力更容易地和/或以更长的持续时间结合该表位。通过阅读该定义还可以理解:例如,特异性或优先结合第一抗原的抗原结合结构域可以或可以不特异性或优先结合第二抗原。这样,“特异性结合”或“优先结合”并不一定需要(尽管可以包括)专一结合。通常,但并非必须,对结合的提及意指优先结合。“特异性”是指结合蛋白选择性结合抗原的能力。

[0037] 如本文所用,关于IL-2活性的术语“调节”是指IL-2活性的变化。在一些实施方案中,“调节”是指IL-2活性的增加。

[0038] 如本文所用,术语“表位”是指抗原结合分子(例如,含有抗原结合结构域的多肽)结合的在靶分子(例如,抗原,如蛋白质、核酸、碳水化合物或脂质)上的位点。表位通常包括诸如氨基酸、多肽或糖侧链等分子的化学活性表面分组,并且具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。表位可以由所述靶分子的连续和/或并置的非连续残基(例如,氨基酸、核苷酸、糖、脂质部分)形成。由连续残基(例如,氨基酸、核苷酸、糖、脂质部分)形成的表位通常在暴露于变性溶剂时保留,而通过三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丢失。表位可包括但不限于至少3个、至少5个或8-10个残基(例如,氨基酸或核苷酸)。在一些实施方案中,表位长度为少于20个残基(例如,氨基酸或核苷酸)、少于15个残基或少于12个残基。如果两种抗体显示对一种抗原的竞争性结合,则它们可以结合所述抗原内的相同表位。在一些实施方案中,表位可以通过与抗原结合分子上的CDR残基的一定最小距离来鉴定。在一些实施方案中,表位可以通过上述距离来鉴定,并且进一步限于参与抗原结合分子的残基与抗原残基之间的键(例如,氢键)的那些残基。表位也可以通过各种扫描来鉴定,例如丙氨酸或精氨酸扫描可以指示抗原结合分子可以与之相互作用的一个或多个残基。除非明确指出,否则作为表位的一组残基不排除其他残基为特定抗原结合结构域或分子的表位的一部分。相反,这样一组的存在表示表位的最小系列(或物种组)。因此,在一些实施方案中,鉴定为表位的一组残基表示与抗原相关的最小表位,而不是抗原上表位的残基的排他列表。

[0039] “非线性表位”或“构象表位”包含抗原蛋白内的非连续多肽、氨基酸和/或糖,对所述表位具有特异性的抗原结合分子(例如,含有抗原结合结构域的多肽)与之结合。在一些实施方案中,残基中的至少一个将与表位的其他指出的残基不邻接;然而,残基中的一个或多个也可以与其他残基邻接。

[0040] “线性表位”包含抗原蛋白内的连续多肽、氨基酸和/或糖,对所述表位具有特异性的抗原结合分子(例如,含有抗原结合结构域的多肽)与之结合。应注意,在一些实施方案中,并非线性表位内的每一个残基都需要由抗原结合分子直接结合(或参与键合)。在一些实施方案中,线性表位可以来自用有效地由线性表位的序列组成的肽的免疫接种,或来自与蛋白质的其余部分相对分离的蛋白质的结构部分(使得抗原结合分子可以至少主要仅与该序列部分相互作用)。

[0041] 术语“抗体”和“抗原结合分子”在最广泛的意义上可互换使用,并且涵盖包含抗原结合结构域的各种多肽,包括但不限于常规抗体(通常包含至少一条重链和至少一条轻链)、单结构域抗体(sdAb,仅包含一条链,通常与重链相似)、含有VHH的多肽(包含至少一个仅重链抗体可变结构域或VHH的多肽)、以及前述任一者的片段,只要它们展现出所需的抗原结合活性即可。在一些实施方案中,抗体包含二聚化结构域。此类二聚化结构域包括但不限于重链恒定结构域(包含CH1、铰链、CH2和CH3,其中CH1通常与轻链恒定结构域CL配对,而铰链介导二聚化)和Fc区(包含铰链、CH2和CH3,其中铰链介导二聚化)。术语抗体还包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、和各种物种(如骆驼科(包括美洲驼)、鲨鱼、小鼠、人、食蟹猴等)的抗体。

[0042] 术语“单结构域抗体”和“sdAb”在本文中可互换使用,以指代具有单个单体结构域

(通常为重链(或VHH))而没有轻链的抗体。

[0043] 如本文所用,术语“VHH”或“VHH结构域”或“VHH抗原结合结构域”是指单结构域抗体如骆驼科抗体或鲨鱼抗体的抗原结合部分。在一些实施方案中,VHH包含三个CDR和四个框架区,指定为FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。在一些实施方案中,VHH可以在N端或C端被截短以使其仅包含部分FR1和/或FR4,或缺少那些框架区中的一个或两个,只要VHH基本上保持抗原结合和特异性即可。

[0044] 术语“含有VHH的多肽”是指包含至少一个VHH结构域的多肽。在一些实施方案中,VHH多肽包含两个、三个或四个或更多个VHH结构域,其中每个VHH结构域可以是相同或不同的。在一些实施方案中,含有VHH的多肽包含Fc区。在一些此类实施方案中,VHH多肽可以形成二聚体。含有VHH的多肽的非限制性结构包括VHH₁-Fc、VHH₁-VHH₂-Fc、和VHH₁-VHH₂-VHH₃-Fc,其中VHH₁、VHH₂和VHH₃可以是相同或不同的。在此类结构的一些实施方案中,一个VHH可以通过接头连接至另一个VHH,或者一个VHH可以通过接头连接至Fc。在一些此类实施方案中,接头包含1-20个氨基酸,优选1-20个主要由甘氨酸和任选的丝氨酸构成的氨基酸。在一些实施方案中,当含有VHH的多肽包含Fc时,它形成二聚体。因此,如果结构VHH₁-VHH₂-Fc形成二聚体,则认为它是四价的(即,二聚体具有四个VHH结构域)。类似地,如果结构VHH₁-VHH₂-VHH₃-Fc形成二聚体,则认为它是六价的(即,二聚体具有六个VHH结构域)。

[0045] 术语“单克隆抗体”是指基本上同质的抗体群体中的一种抗体(包括含有sdAb或VHH的多肽),即除了少量存在的可能天然存在的突变之外,构成所述群体的单个抗体是相同的。单克隆抗体针对单一抗原位点具有高度特异性。此外,与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。因此,单克隆抗体样品可以与抗原上的相同表位结合。修饰语“单克隆的”指示抗体的特征是从基本上同质的抗体群体获得,并且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,单克隆抗体可以通过Kohler和Milstein,1975,Nature 256:495首次描述的杂交瘤方法制备,或者可以通过诸如美国专利号4,816,567等中所述的重组DNA方法制备。例如,也可以从使用McCafferty等人,1990,Nature348:552-554中描述的技术产生的噬菌体文库中分离单克隆抗体。

[0046] 术语“CDR”表示通过本领域技术人员的至少一种鉴定方式定义的互补决定区。在一些实施方案中,CDR可以根据Chothia编号方案、Kabat编号方案、Kabat和Chothia的组合、AbM定义和/或接触定义中的任一个来定义。VHH包含三个CDR,指定为CDR1、CDR2和CDR3。

[0047] 如本文所用,术语“重链恒定区”是指包含至少三个重链恒定结构域C_H1、铰链、C_H2和C_H3的区域。当然,除非另有说明,否则结构域内的非功能改变性缺失和改变都涵盖在术语“重链恒定区”的范围内。非限制性示例性重链恒定区包括 γ 、 δ 和 α 。非限制性示例性重链恒定区还包括 ϵ 和 μ 。每个重链恒定区对应于一种抗体同种型。例如,含有 γ 恒定区的抗体为IgG抗体,含有 δ 恒定区的抗体为IgD抗体,以及含有 α 恒定区的抗体为IgA抗体。此外,包含 μ 恒定区的抗体为IgM抗体,以及包含 ϵ 恒定区的抗体为IgE抗体。某些同种型可以进一步细分为子类。例如,IgG抗体包括但不限于IgG1(包含 γ_1 恒定区)、IgG2(包含 γ_2 恒定区)、IgG3(包含 γ_3 恒定区)和IgG4(包含 γ_4 恒定区)抗体;IgA抗体包括但不限于IgA1(包含 α_1 恒定区)和IgA2(包含 α_2 恒定区)抗体;以及IgM抗体包括但不限于IgM1和IgM2。

[0048] 如本文所用,“Fc区”是指包含CH2和CH3的重链恒定区的一部分。在一些实施方案

中,Fc区包含铰链、CH2和CH3。在各种实施方案中,当Fc区包含铰链时,铰链介导两个含Fc多肽之间的二聚化。Fc区可以是本文讨论的任何抗体重链恒定区同种型的。在一些实施方案中,Fc区是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的。

[0049] 如本文所用,“受体人框架”是包含源自人免疫球蛋白框架或人共有框架的重链可变结构域(V_H)框架的氨基酸序列的框架,如本文所讨论的。源自人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可以包含其相同的氨基酸序列,或者它可以含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中,跨单个抗原结合结构域(如VHH)中的所有人框架,氨基酸变化的数量为少于10、或少于9、或少于8、或少于7、或少于6、或少于5、或少于4、或少于3。

[0050] “亲和力”是指分子(例如,含有抗体或VHH的多肽)的单个结合位点与其结合配偶体(例如,抗原)之间的非共价相互作用总和的强度。分子X对其配偶体Y的亲和力或表观亲和力通常可以分别由解离常数(KD)或 $K_{D-表观}$ 表示。可以通过本领域已知的常用方法(例如ELISA K_D 、KinExA、流式细胞术和/或表面等离子体共振装置)(包括本文所述的那些)测量亲和力。此类方法包括但不限于涉及BIAcore®、Octet®或流式细胞术的方法。

[0051] 如本文所用,术语“ K_D ”是指抗原结合分子/抗原相互作用的平衡解离常数。当本文使用术语“ K_D ”时,它包括KD和 $K_{D-表观}$ 。

[0052] 在一些实施方案中,抗原结合分子的 K_D 是使用表达抗原的细胞系通过流式细胞术并将在每个抗体浓度下测量的平均荧光拟合到非线性单位点结合方程(Prism Software graphpad)来测量。在一些此类实施方案中, K_D 是 $K_{D-表观}$ 。

[0053] 术语“生物活性”是指分子的任何一种或多种生物学特性(无论是在体内发现的天然存在的,还是通过重组方式提供或实现的)。生物学特性包括但不限于结合配体、诱导或增加细胞增殖(如T细胞增殖)、以及诱导或增加细胞因子的表达。

[0054] 如本文所用,术语“IL-2活性”或IL-2的“生物活性”包括IL-2的任何生物学效应或至少一种生物学相关功能。在一些实施方案中,IL-2活性包括IL-2诱导T细胞增殖和/或激活自然杀伤(NK)细胞的能力。非限制性示例性IL-2活性包括增加pSTAT5表达、增加CD4⁺和/或CD8⁺T细胞的增殖、增加T细胞上的CD71表达、和降低Treg细胞对CD4⁺和CD8⁺T细胞激活和增殖的抑制活性。

[0055] “激动剂”或“激活性”抗体(如含有sdAb或VHH的多肽)是一种增加和/或激活靶抗原生物活性的抗体。在一些实施方案中,激动剂抗体结合抗原并将其生物活性提高至少约20%、40%、60%、80%、85%或更多。

[0056] “拮抗剂”、“阻断性”或“中和”抗体是使靶抗原的生物活性降低和/或失活的抗体。在一些实施方案中,中和抗体结合抗原并将其生物活性降低至少约20%、40%、60%、80%、85%、90%、95%、99%或更多。

[0057] “亲和力成熟的”含有VHH的多肽是指与不具有此类改变的含有VHH的亲本多肽相比,在一个或多个CDR中具有一个或多个改变的含有VHH的多肽,此类改变导致含有VHH的多肽对于抗原的亲和力提高。

[0058] 如本文所用,“人源化VHH”是指其中一个或多个框架区已基本被人框架区替代的VHH。在一些情况下,人免疫球蛋白的某些框架区(FR)残基被相应的非人残基替代。此外,人源化VHH可以包含在原始VHH和人框架序列中均未发现的、但被包括在内以进一步改善和优化VHH或含VHH多肽性能的残基。在一些实施方案中,含有人源化VHH的多肽包含人Fc区。

应当理解,人源化序列可以通过其一级序列来鉴定,并且不一定表示产生抗体的过程。

[0059] “功能性Fc区”具有天然序列Fc区的“效应子功能”。示例性“效应子功能”包括Fc受体结合;C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;下调细胞表面受体(例如B细胞受体);和B细胞激活等。此类效应子功能通常需要将Fc区与结合结构域(例如,抗体可变结构域)组合,并且可以使用各种测定进行评估。

[0060] “天然序列Fc区”包含与在自然界中发现的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区(非A同种异型和A同种异型);天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区以及其天然存在的变体。

[0061] “变体Fc区”包含由于至少一个氨基酸修饰而不同于天然序列Fc区氨基酸序列的氨基酸序列。在一些实施方案中,“变体Fc区”包含的氨基酸序列由于至少一个氨基酸修饰而不同于天然序列Fc区氨基酸序列,但仍保留天然序列Fc区的至少一种效应子功能。在一些实施方案中,与天然序列Fc区或与亲本多肽的Fc区相比,变体Fc区具有在天然序列Fc区或在亲本多肽的Fc区中的至少一个氨基酸取代,例如约一至约十个氨基酸取代,并且优选约一至约五个氨基酸取代。在一些实施方案中,本文的变体Fc区将与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少约80%的序列同一性,与其至少约90%的序列同一性,与其至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%的序列同一性。

[0062] “Fc受体”或“FcR”描述了与抗体Fc区结合的受体。在一些实施方案中,Fc γ R是天然人FcR。在一些实施方案中,FcR是结合IgG抗体的受体(γ 受体),并包括Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII亚类的受体,包括这些受体的等位基因变体和选择性剪接形式。Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“激活性受体”)和Fc γ RIIB(“抑制性受体”),它们具有相似的氨基酸序列,主要区别在于其细胞质结构域。激活性受体Fc γ RIIA在其细胞质结构域中包含免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM)。抑制性受体Fc γ RIIB在其细胞质结构域中包含免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM)。(参见例如Daeron,Annu.Rev.Immunol.15:203-234(1997))。在例如Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-92(1991);Capel等人,Immunomethods 4:25-34(1994);和de Haas等人,J.Lab.Clin.Med.126:330-41(1995)中对FcR进行了综述。本文中的术语“FcR”涵盖其他FcR,包括将来要鉴定的那些。例如,术语“Fc受体”或“FcR”还包括新生儿受体FcRn,所述FcRn负责将母体IgG转移到胎儿(Guyer等人,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人,J.Immunol.24:249(1994))和调节免疫球蛋白的稳态。测量与FcRn结合的方法是已知的(参见例如Ghetie和Ward,Immunol.Today 18(12):592-598(1997);Ghetie等人,Nature Biotechnology,15(7):637-640(1997);Hinton等人,J.Biol.Chem.279(8):6213-6216(2004);WO 2004/92219(Hinton等人)。

[0063] 如本文所用,术语“基本上相似”或“基本上相同”表示两个或更多个数值之间足够高的相似度,使得本领域技术人员认为这两个或更多个值之间的差异在由所述值测量的生物学特征的背景下具有很小或者没有生物学和/或统计学显著性。在一些实施方案中,两个或更多个基本上相似的值的差异不超过约5%、10%、15%、20%、25%或50%中的任一个。

[0064] 多肽“变体”意指在比对序列和引入缺口(如果需要)以实现最大序列同一性百分比并且不将任何保守取代视为序列同一性的一部分之后,与天然序列多肽具有至少约80%氨基酸序列同一性的生物活性多肽。此类变体包括例如其中在多肽的N端或C端添加、或缺

失一个或多个氨基酸残基的多肽。在一些实施方案中,变体将具有至少约80%的氨基酸序列同一性。在一些实施方案中,变体将具有至少约90%的氨基酸序列同一性。在一些实施方案中,变体将与天然序列多肽具有至少约95%的氨基酸序列同一性。

[0065] 如本文所用,关于肽、多肽或抗体序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同源性”定义为在比对序列和引入缺口(如果需要)以实现最大序列同一性百分比并且不将任何保守取代视为序列同一性的一部分之后,候选序列中与特定肽或多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以以本领域熟知的多种方式来实现,例如,使用公众可获得的计算机软件,如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN™(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包括在所比较序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。

[0066] 氨基酸取代可以包括但不限于将多肽中的一种氨基酸用另一种氨基酸替代。示例性取代在表1中示出。可以将氨基酸取代引入目的抗体中,并筛选产物的所需活性,例如,保留/改善的抗原或受体结合,减少的抗原或受体结合,降低的免疫原性,或改善的ADCC或CDC。

表1

原始残基	示例性取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸

[0067] 可根据常见的侧链特性将氨基酸分组：

- (1) 疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 碱性：His、Lys、Arg；
- (5) 影响链取向的残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

[0068] 非保守取代将需要将这些类别之一的成员交换为另一类别。

[0069] 术语“载体”用于描述可以被工程化为含有一种或多种克隆的多核苷酸的可以在宿主细胞中繁殖的多核苷酸。载体可包括一种或多种以下元件：复制起点、调节目多肽表达的一种或多种调节序列（如启动子和/或增强子）、和/或一种或多种选择性标记基因（如抗生素抗性基因和可用于比色测定的基因，例如 β -半乳糖苷酶）。术语“表达载体”是指用于在宿主细胞中表达目的多肽的载体。

[0070] “宿主细胞”是指可以是或已经是载体或分离的多核苷酸的受体的细胞。宿主细胞可以是原核细胞或真核细胞。示例性真核细胞包括哺乳动物细胞，如灵长类动物或非灵长类动物细胞；真菌细胞，如酵母；植物细胞；以及昆虫细胞。非限制性示例性哺乳动物细胞包括但不限于NS0细胞、PER.C6[®]细胞（CruCell）以及293F和CHO细胞，以及它们的衍生物，如293-6E、CHO-DG44、CHO-K1、CHO-S、和CHO-DS细胞。宿主细胞包括单个宿主细胞的后代，并且由于天然的、偶然的或故意的突变，所述后代可能不一定与原始亲本细胞完全相同（在形态学或基因组DNA互补序列方面）。宿主细胞包括用本文提供的一种或多种多核苷酸在体内转染的细胞。

[0071] 如本文所用，术语“分离的”是指已经与通常在自然界中发现或产生的至少一些组分分离的分子。例如，当多肽与产生它的细胞的至少一些组分分离时，称其为“分离的”。当多肽在表达后由细胞分泌时，将含有所述多肽的上清液与产生它的细胞物理分离，认为是“分离”所述多肽。类似地，当多核苷酸不是通常在自然界中发现的较大的多核苷酸（诸如例如，在DNA多核苷酸的情况下的基因组DNA或线粒体DNA）的一部分时，或例如在RNA多核苷酸的情况下与产生它的细胞的至少一些组分分离时，多核苷酸被称为“分离的”。因此，在宿主细胞内的载体中包含的DNA多核苷酸可称为“分离的”。

[0072] 术语“个体”和“受试者”在本文中可互换使用以指代动物，例如哺乳动物。在一些实施方案中，提供了治疗哺乳动物的方法，所述哺乳动物包括但不限于人、啮齿动物、猿猴、猫科动物、犬科动物、马科动物、牛科动物、猪、绵羊、山羊、哺乳动物实验室动物、哺乳动物家畜、哺乳动物运动动物和哺乳动物宠物。在一些例子中，“个体”或“受试者”是指需要治疗疾病或障碍的个体或受试者。在一些实施方案中，接受治疗的受试者可以是指明如下事实的患者：受试者已被鉴定为患有与治疗相关的障碍，或有患上所述障碍的足够风险。

[0073] 如本文所用，“疾病”或“障碍”是指需要和/或期望治疗的病症。

[0074] 除非另有说明，否则术语“肿瘤细胞”、“癌细胞”、“癌症”、“肿瘤”和/或“瘤”在本文中可互换使用，并且是指展现出会干扰身体器官和系统的正常功能发挥的不受控制的生长和/或异常增加的细胞存活和/或细胞凋亡的抑制的一种细胞（或多种细胞）。此定义包括良性和恶性癌症、息肉、增生以及休眠的肿瘤或微转移。

[0075] 术语“癌症”和“肿瘤”涵盖实体癌和血液/淋巴癌,并且还涵盖恶性、恶变前和良性生长,如发育不良。此定义还包括具有不受免疫系统阻碍(例如免疫逃避和免疫逃避机制)的异常增殖的细胞(例如病毒感染的细胞)。示例性癌症包括但不限于:基底细胞癌;胆道癌;膀胱癌;骨癌;脑和中枢神经系统癌症;乳腺癌;腹膜癌;宫颈癌;绒毛膜癌;结直肠癌;结缔组织癌;消化系统癌症;子宫内膜癌;食道癌;眼癌;头颈癌;胃癌(包括胃肠癌);胶质母细胞瘤;肝癌;肝肿瘤;上皮内瘤;肾脏癌或肾癌;喉癌;白血病;肝脏癌症;肺癌(例如小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌、和肺鳞癌);黑色素瘤;骨髓瘤;神经母细胞瘤;口腔癌(唇、舌、口、和咽);卵巢癌;胰腺癌;前列腺癌;视网膜母细胞瘤;横纹肌肉瘤;直肠癌;呼吸系统癌症;唾液腺癌;肉瘤;皮肤癌;鳞状细胞癌;胃癌;睾丸癌;甲状腺癌;子宫或子宫内膜癌;泌尿系统癌症;外阴癌;淋巴瘤,包括霍奇金和非霍奇金淋巴瘤、以及B细胞淋巴瘤(包括低级别/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL);小淋巴细胞(SL)NHL;中级/滤泡性NHL;中级弥漫性NHL;高级别免疫母细胞NHL;高级别淋巴母细胞NHL;高级别小非裂解细胞NHL;大肿块NHL;套细胞淋巴瘤;艾滋病相关淋巴瘤;以及华氏巨球蛋白血症;慢性淋巴细胞白血病(CLL);急性成淋巴细胞性白血病(ALL);毛细胞白血病;慢性骨髓细胞性白血病;以及其他癌和肉瘤;以及移植后淋巴增殖性疾病(PTLD),以及与斑痣性错构瘤病相关的异常血管增生,水肿(如与脑肿瘤相关的),以及梅格斯综合征。

[0076] 如本文所用,术语“非肿瘤细胞”是指正常细胞或组织。示例性非肿瘤细胞包括但不限于:T细胞,B细胞,自然杀伤(NK)细胞,自然杀伤T(NKT)细胞,树突细胞,单核细胞,巨噬细胞,上皮细胞,成纤维细胞,肝细胞,肾间质细胞,成纤维细胞样滑膜细胞,成骨细胞,和位于乳房、骨骼肌、胰腺、胃、卵巢、小肠、胎盘、子宫、睾丸、肾、肺、心脏、脑、肝、前列腺、结肠、淋巴器官、骨骼中的细胞,和骨源性间充质干细胞。如本文所用,术语“位于外周的细胞或组织”是指不位于肿瘤细胞附近和/或在肿瘤微环境内的非肿瘤细胞。

[0077] 如本文所用,术语“肿瘤微环境内的细胞或组织”是指围绕和/或滋养肿瘤细胞的细胞、分子、细胞外基质和/或血管。肿瘤微环境内的示例性细胞或组织包括但不限于:肿瘤脉管系统;肿瘤浸润性淋巴细胞;成纤维细胞网状细胞;内皮祖细胞(EPC);癌症相关成纤维细胞;周细胞;其他基质细胞;细胞外基质(ECM)的组分;树突细胞;抗原呈递细胞;T细胞;调节性T细胞(Treg细胞);巨噬细胞;嗜中性粒细胞;髓源性抑制细胞(MDSC)和位于肿瘤附近的其它免疫细胞。鉴定肿瘤细胞和/或位于肿瘤微环境内的细胞/组织的方法是本领域熟知的,如下文所述。

[0078] 在一些实施方案中,“增加”或“减少”分别是指统计学上显著的增加或减少。技术人员将清楚,“调节”还可以涉及与相同条件但不存在测试药剂的情况相比,实现靶标或抗原对其配体、结合配偶体、用于缔合为同多聚体或异多聚体形式的配偶体、或底物中的一种或多种的亲合力、亲合力、特异性和/或选择性的改变(可以是增加或减少);实现靶标或抗原对存在靶标或抗原的介质或环境中的一种或多种条件(如pH、离子强度、存在辅因子等)的敏感性的改变(可以是增加或减少);和/或细胞增殖或细胞因子产生。这可以以任何合适的方式和/或使用本身已知的或本文描述的任何合适的测定来确定,这取决于所涉及的靶标。

[0079] 如本文所用,“免疫应答”意在涵盖足以抑制或预防疾病(例如,癌症或癌症转移)的发作或改善所述疾病的症状的细胞免疫应答和/或体液免疫应答。“免疫应答”可以涵盖

先天免疫系统和适应性免疫系统的方面。

[0080] 如本文所用,“治疗”是用于获得有益的或期望的临床结果的途径。如本文所用,“治疗”涵盖针对包括人在内的哺乳动物中的疾病的治疗剂的任何施用或应用。出于本公开文本的目的,有益或期望的临床结果包括但不限于以下中的任何一个或多个:减轻一种或多种症状,降低疾病程度,预防或延迟疾病的传播(例如转移,例如转移到肺或淋巴结),预防或延迟疾病的复发,延迟或减缓疾病的进展,改善疾病状态,抑制疾病或疾病进展,抑制或减缓疾病或疾病进展,停滞疾病发展和缓解(无论是部分还是全部)。“治疗”还涵盖降低增殖性疾病的病理后果。本文提供的方法考虑了这些治疗方面中的任何一个或多个。与上述一致,术语治疗不需要百分之百地去除所述障碍的所有方面。

[0081] “改善”是指与不施用治疗剂相比,一种或多种症状的减轻或改进。“改善”还包括缩短或减少症状的持续时间。

[0082] 术语“抗癌剂”在本文中以其最广泛的意义使用,是指用于治疗一种或多种癌症的药剂。此类药剂的示例性类别包括但不限于化学治疗剂、抗癌生物制剂(如细胞因子、受体细胞外结构域-Fc融合物、和抗体)、放射疗法、CAR-T疗法、治疗性寡核苷酸(如反义寡核苷酸和siRNA)和溶瘤病毒。

[0083] 术语“生物样品”意指来自活物或曾经的活物的物质的量。此类物质包括但不限于血液(例如全血)、血浆、血清、尿液、羊水、滑液、内皮细胞、白细胞、单核细胞、其他细胞、器官、组织、骨髓、淋巴结和脾脏。

[0084] 术语“对照”或“参考”是指已知不含有分析物(“阴性对照”)或含有分析物(“阳性对照”)的组合物。阳性对照可包含已知浓度的分析物。

[0085] 术语“抑制”(“inhibition”或“inhibit”)是指任何表型特征的减少或停止,或该特征的发生率、程度或可能性的减少或停止。“降低”或“抑制”是指与参考相比,活性、功能和/或量的减少、降低或阻滞。在一些实施方案中,“降低”或“抑制”意指导致总体减少10%或更多的能力。在一些实施方案中,“降低”或“抑制”意指导致总体减少50%或更多的能力。在一些实施方案中,“降低”或“抑制”意指引起总体减少75%、85%、90%、95%或更多的能力。在一些实施方案中,在相同的时间段内,相对于对照,上述量在一段时间内被抑制或减少。

[0086] 如本文所用,“延迟疾病的发展”意指推迟、阻碍、减缓、延缓、稳定、抑制和/或延期疾病(例如癌症)的发展。此延迟可以具有不同的时间长度,这取决于病史和/或所治疗的个体。对于本领域技术人员清楚的是,足够或显著的延迟实际上可以涵盖预防,因为个体不会患上疾病。例如,可能延迟晚期癌症,如转移的发展。

[0087] 如本文所用,“预防”包括提供关于受试者的疾病的发生或复发的预防,所述受试者可能易患所述疾病但尚未被诊断患有所述疾病。除非另有说明,否则术语“降低”、“抑制”或“预防”并不表示或要求在所有时间内完全预防,而只是在所测量的时间段内如此。

[0088] 物质/分子、激动剂或拮抗剂的“治疗有效量”可根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重,以及物质/分子、激动剂或拮抗剂在个体中引发所需应答的能力等因素而变化。治疗有效量也是治疗有益效果超过物质/分子、激动剂或拮抗剂的任何毒性或有害作用的量。治疗有效量可以按一次或多次施用来递送。“治疗有效量”是指在必要的剂量和持续必要的时间段的情况下有效实现所需治疗和/或预防结果的量。

[0089] 术语“药物配制品”和“药物组合物”是指呈使得一种或多种活性成分的生物活性有效的形式、并且不含对所述配制品所施用的受试者具有不可接受的毒性的其他组分的制剂。此类配制品可以是无菌的。

[0090] “药学上可接受的载体”是指本领域常规的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料、配制辅助剂或载体，其与共同包含用于施用于受试者的“药物组合物”的治疗剂一起使用。药学上可接受的载体在使用的剂量和浓度下对接受者无毒，并且与配制品的其他成分相容。药学上可接受的载体适用于所用配制品。

[0091] 与一种或多种其他治疗剂“组合”施用包括同时（并行）和以任何顺序依序施用。

[0092] 术语“并行”在本文中用于指两种或更多种治疗剂的施用，其中至少部分施用在时间上重叠或者其中一种治疗剂的施用相对于另一种治疗剂的施用在很短的时间段内发生，或者其中两种药剂的治疗作用重叠持续至少一段时间。

[0093] 术语“依序”在本文中用于指两种或更多种治疗剂的施用在时间上不重叠，或者其中药剂的治疗作用不重叠。

[0094] 如本文所用，术语“与……结合”是指除了一种治疗模式之外还施用另一种治疗模式。因此，“与……结合”是指在向个体施用一种治疗模式之前、期间或之后施用另一种治疗模式。

[0095] 术语“包装插页”用于指代通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书，所述说明书含有关于使用此类治疗产品的适应症、用法、剂量、施用、组合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0096] “制品”是包含至少一种试剂（例如用于治疗疾病或障碍（例如癌症）的药物）或用于特异性地检测本文所述的生物标记物的探针的任何制造物（例如包装或容器）或试剂盒。在一些实施方案中，所述制造物或试剂盒作为用于实施本文所述的方法的单元进行促销、分发或销售。

[0097] 术语“标记”和“可检测标记”意指例如与抗体或抗原附接的部分，以使特异性结合对的成员之间的反应（例如，结合）可检测。所述特异性结合对的经标记的成员被称为“被可检测地标记”。因此，术语“经标记的结合蛋白”是指掺入了用于鉴定所述结合蛋白的标记的蛋白质。在一些实施方案中，所述标记是可产生能通过视觉或仪器手段检测的信号的可检测标记，例如，掺入经放射性标记的氨基酸或将生物素基部分附接到多肽，所述生物素基部分可以通过加标记的抗生物素蛋白检测（例如，链霉抗生物素蛋白含有荧光标记物或酶活性，可通过光学方法或比色法检测）。用于多肽的标记的例子包括但不限于以下：放射性同位素或放射性核素（例如， ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 或 ^{153}Sm ）；色原、荧光标记（例如，FITC、罗丹明、镧系荧光粉）、酶标记（例如，辣根过氧化物酶、萤光素酶、碱性磷酸酶）；化学发光标记；生物素基团；由第二报道分子识别的预定多肽表位（例如，亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合位点、金属结合结构域、表位标签）；和诸如钆螯合物等的磁性剂。通常用于免疫测定的标记的代表性例子包括产生光的部分，例如吖啶化合物；和产生荧光的部分，例如荧光素。在这方面，所述部分本身可能没有被可检测地标记，但在与又另一部分反应时可能变得可检测。

示例性含有修饰的IL-2的多肽

[0098] 本文提供了包含修饰的IL-2的多肽。在一些实施方案中，修饰的IL-2包含至少一

个氨基酸取代,与野生型IL-2相比,所述至少一个氨基酸取代降低修饰的IL-2对IL-2受体的亲和力。在各种实施方案中,本文提供的包含修饰的IL-2的多肽是IL-2R的激动剂。在一些实施方案中,修饰的IL-2是修饰的人IL-2,并且IL-2R是人IL-2R。在一些实施方案中,与人野生型IL-2对于IL-2R的亲和力相比,所述修饰的IL-2以至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少50倍或至少100倍的亲和力结合人IL-2R。

[0099] 在各种实施方案中,包含修饰的IL-2的多肽包含结合T细胞或自然杀伤(NK)细胞抗原的至少一个抗原结合结构域。在一些实施方案中,包含本文提供的修饰的IL-2的多肽包含一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个抗原结合结构域,其中至少一个或全部结合T细胞或自然杀伤细胞抗原。在一些实施方案中,包含本文提供的修饰的IL-2的多肽包含一个、两个、三个或四个抗原结合结构域,其中至少一个或全部结合T细胞或自然杀伤细胞抗原。在一些实施方案中,在不存在抗原结合结构域的情况下,含有修饰的IL-2的多肽不结合或激活IL-2R。在一些实施方案中,仅当含有修饰的IL-2的多肽包含与IL-2R所处的相同细胞上的抗原结合的抗原结合结构域时,所述多肽才结合和/或激活细胞上的IL-2R。

[0100] 在各种实施方案中,修饰的IL-2在选自P65、D84、E95、M23和H16的至少一个氨基酸位置处包含至少一个取代。在一些实施方案中,修饰的IL-2在氨基酸位置P65、H16和D84处包含取代。在一些实施方案中,修饰的IL-2在氨基酸位置P65、H16、D84和M23处包含取代。在一些实施方案中,修饰的IL-2在氨基酸位置P65、H16、D84和E95处包含取代。在一些实施方案中,修饰的IL-2在氨基酸位置P65、H16、D84、M23和E95处包含取代。

[0101] 在一些实施方案中,在氨基酸位置P65处的取代选自P65R、P65E、P65K、P65H、P65Y、P65Q、P65D和P65N。在一些实施方案中,在氨基酸位置H16处的取代选自H16A、H16G、H16S、H16T、H16V和H16P。在一些实施方案中,在氨基酸位置D84处的取代选自D84S、D84G、D84A、D84T、D84V和D84P。在一些实施方案中,在氨基酸位置M23处的取代选自M23A、M23G、M23S、M23T、M23V和M23P。在一些实施方案中,在氨基酸位置E95处的取代选自E95Q、E95G、E95S、E95T、E95V、E95P、E95H和E95N。

[0102] 在一些实施方案中,修饰的IL-2还包含在氨基酸位置F42处的取代。在一些此类实施方案中,在F42处的取代选自F42K、F42A、F42R、F42A、F42G、F42S和F42T。

[0103] 在一些实施方案中,修饰的IL-2在选自Y45和L72的至少一个氨基酸位置处还包含至少一个取代。在一些这样的实施方案中,所述修饰的IL-2包含至少一个选自Y45A和L72G的取代。

[0104] 在一些实施方案中,修饰的IL-2在选自T3和C125的至少一个氨基酸位置处还包含至少一个取代。在一些这样的实施方案中,所述修饰的IL-2包含至少一个选自T3A和C125A的取代。

[0105] 在一些实施方案中,修饰的IL-2包含取代P65R、H16A和D84S。在一些实施方案中,修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S和M23A。在一些实施方案中,修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S和E95Q。在一些实施方案中,修饰的IL-2包含取代P65R、H16A、D84S、M23A和E95Q。在一些实施方案中,修饰的IL-2包含选自以下的取代: H16A-F42K; D84S-F42K; E15S-F42K; M23A-F42K; E95Q-F42K; P65R-H16A; P65R-D84S; P65R-E15S; P65R-M23A; P65R-E95Q; T3A-C125S; T3A-P65R-C125S; T3A-H16A-C125S; T3A-D84S-C125S; T3A-H16A-P65R-C125S; T3A-P65R-D84S-C125S; T3A-H16A-P65R-D84S-C125S; T3A-H16A-M23A-P65R-D84S-C125S;

T3A-H16A-P65R-D84S-E95Q-C125S以及T3A-H16A-M23A-P65R-D84S-E95Q-C125S。

[0106] 在本文所述的任何实施方案中,修饰的IL-2可以是修饰的人IL-2。在各种实施方案中,取代的氨基酸位置对应于SEQ ID NO:1中的氨基酸位置。

[0107] 在一些实施方案中,修饰的IL-2包含与SEQ ID NO:84至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,并且包括本文讨论的取代中的一个或多个。在一些实施方案中,修饰的IL-2包含与选自SEQ ID NO:3-9、11-21和23-31的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列,并且包括本文讨论的取代中的一个或多个。在一些实施方案中,修饰的IL-2包含选自SEQ ID NO:3-9、11-21和23-31的氨基酸序列。在一些实施方案中,修饰的IL-2包含选自SEQ ID NO:3、5-9、12-21和23-31的氨基酸序列。

[0108] 在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽包含结合T细胞或自然杀伤细胞抗原的至少一个抗原结合结构域和Fc区。在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽包含一个、两个、三个或四个抗原结合结构域和Fc区。在一些实施方案中,Fc区在生理条件下介导含有修饰的IL-2的多肽的二聚化,从而形成使抗原结合位点数量加倍的二聚体。例如,包含三个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽作为单体是三价的,但在生理条件下,Fc区可介导二聚化,使得含有修饰的IL-2的多肽在此类条件下以六价二聚体存在。

[0109] 在各种实施方案中,包含修饰的IL-2的多肽包含选自SEQ ID NO:3-9、11-21和23-31的序列。在各种实施方案中,包含修饰的IL-2的多肽包含选自SEQ ID NO:3、5-9和12-21和23-31的序列。在各种实施方案中,包含修饰的IL-2的多肽包含SEQ ID NO:21。在一些实施方案中,所述多肽还包含抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述抗原结合结构域是人源化的。

[0110] 在一些实施方案中,至少一个抗原结合结构域是自然或天然同源结合配偶体、Anticalin(工程化脂质运载蛋白)、Darpin、Fynomer、Centyrin(工程化纤连蛋白III结构域)、胱氨酸结结构域、Affilin、亲和体(Affibody)或工程化CH3结构域。在一些实施方案中,所述自然同源结合配偶体包含肿瘤相关抗原(TAA)的天然同源结合配偶体的配体或细胞外结构域或其结合片段,或其展现出与所述TAA的结合活性的变体。

[0111] 在一些实施方案中,包含修饰的IL-2和至少一个抗原结合结构域的多肽增强抗肿瘤T细胞应答或自然杀伤细胞应答,同时规避Treg、外周T细胞和内皮细胞。在一些此类实施方案中,所述至少一个抗原结合结构域将修饰的IL-2靶向激活的T细胞。在一些实施方案中,仅当IL-2R与由所述至少一个抗原结合结构域结合的抗原在同一细胞上时,修饰的IL-2才结合并调节IL-2R。在一些实施方案中,当IL-2R在与表达由所述至少一个抗原结合结构域结合的抗原的细胞不同的细胞上时,修饰的IL-2不结合或激活IL-2R。

[0112] 在各种实施方案中,抗原结合结构域结合选自PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、4-1BB、OX40、GITR、CD8a、CD8b、CD4、NKp30、NKG2A、TIGIT、TGFBR1、TGFBR2、Fas、NKG2D、NKp46、PD-L1、CD107a、ICOS、TNFR2和CD16a的蛋白质。在一些实施方案中,包含修饰的IL-2的多肽包含以下抗体的抗原结合结构域:纳武单抗(BMS;PD-1);派姆单抗(Merck;PD-1);AMP-514(Amplimmune;PD-1);TSR-042(Tesaro/AnaptysBio,ANB-011;PD-1);STI-A1110(Sorrento Therapeutics;PD-1)、伊匹单抗(BMS;CTLA-4);曲美目单抗(AstraZeneca,CTLA-4);乌瑞鲁

单抗(BMS,4-1BB);乌托鲁单抗(Pfizer,4-1BB);阿特殊单抗(Roche,PD-L1),度伐鲁单抗(AstraZeneca,PD-L1);莫那利珠单抗(NKG2A,Innate Pharma和AstraZeneca);BMS-986016(Bristo-Meyers Squibb,LAG-3)。

[0113] 在一些实施方案中,所述多肽包含特异性结合PD-1的至少一个抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述多肽包含特异性结合LAG3的至少一个抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述多肽包含特异性结合NKp46的至少一个抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述多肽包含特异性结合NKG2D的至少一个抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述多肽包含特异性结合CD8a的至少一个抗原结合结构域。

[0114] 在一些实施方案中,抗原结合结构域可以是人源化的。包含人源化抗原结合结构域的多肽(如含有VHH的多肽)可用作治疗分子,因为人源化抗原结合结构域和人源化抗体降低或消除人对非人抗体的免疫应答,人对非人抗体的免疫应答可导致对抗体治疗剂的免疫应答以及降低的治疗剂的有效性。通常,人源化抗原结合结构域或人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中CDR(或其部分)源自非人抗体,并且FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗原结合结构域或人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗原结合结构域或人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0115] 人源化抗体及其制备方法综述于例如Almagro和Fransson(2008) Front.Biosci.13:1619-1633中,并且进一步描述于例如以下文献中:Riechmann等人,(1988) Nature 332:323-329;Queen等人,(1989) Proc.Natl Acad.Sci.USA 86:10029-10033;美国专利号5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409;Kashmiri等人,(2005) Methods 36:25-34;Padlan,(1991) Mol.Immunol.28:489-498(描述了“表面重修”);Dall’Acqua等人,(2005) Methods 36:43-60(描述了“FR改组”);以及Osborn等人,(2005) Methods 36:61-68和Klimka等人,(2000) Br.J.Cancer,83:252-260(描述了用于FR改组“导向选择”方法)。

[0116] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”法选择的框架区(参见例如,Sims等人(1993) J.Immunol.151:2296);衍生自具有特定亚组的重链可变区的人抗体的共有序列的框架区(参见例如,Carter等人(1992) Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285;和Presta等人(1993) J.Immunol,151:2623);人成熟(体细胞突变)框架区或人种系框架区(参见例如,Almagro和Fransson(2008) Front.Biosci.13:1619-1633);和衍生自筛选FR文库的框架区(参见例如,Baca等人,(1997) J.Biol.Chem.272:10678-10684和Rosok等人,(1996) J.Biol.Chem.271:22611-22618)。通常,将VHH的FR区替代为人FR区以制备人源化VHH。在一些实施方案中,替代人FR的某些FR残基以改善人源化VHH的一种或多种特性。具有此类替代残基的VHH结构域在本文中仍称为“人源化”的。

[0117] 在各种实施方案中,在含有修饰的IL-2的多肽中包含的Fc区是人Fc区,或源自人Fc区。

[0118] 在一些实施方案中,在含有修饰的IL-2的多肽中包含的Fc区源自人Fc区,并且在对应于IgG1 E233、L234和L235的下铰链中包含三个氨基酸缺失,在本文称为“Fc xELL”。Fc xELL多肽不与Fc γ R接合,并因此被称为“效应子沉默”或“效应子无效”,然而在一些实施方案中,xELL Fc区结合FcRn并因此具有与FcRn介导的再循环相关的延长半衰期和胞吞转运。

[0119] 在一些实施方案中,在含有修饰的IL-2的多肽中包含的Fc区源自人Fc区,并且包含突变M252Y和M428V,在本文称为“Fc-YV”。在一些实施方案中,在含有修饰的IL-2的多肽中包含的Fc区源自人Fc区,并且包含突变M252Y和M428L,在本文称为“Fc-YL”。在一些实施方案中,此类突变在内体的酸性pH(接近6.5)下增强与FcRn的结合,同时在中性pH(约7.2)下失去可检测的结合,从而允许增强的FcRn介导的再循环和延长的半衰期。

[0120] 在一些实施方案中,在本文的含有修饰的IL-2的多肽中包含的Fc区源自人Fc区,并且包含被设计用于异二聚化的突变,所述突变在本文称为“杵状结构”和“臼状结构”。在一些实施方案中,“杵状”Fc区包含突变T366W。在一些实施方案中,“臼状”Fc区包含突变T366S、L368A和Y407V。在一些实施方案中,用于异二聚化的Fc区包含另外的突变,如异二聚体Fc对的第一成员上的突变S354C,其与异二聚体Fc对的第二成员上的相应突变Y349C形成不对称二硫键。在一些实施方案中,异二聚体Fc对的一个成员包含修饰H435R或H435K以防止蛋白A结合同时维持FcRn结合。在一些实施方案中,异二聚体Fc对的一个成员包含修饰H435R或H435K,而异二聚体Fc对的第二成员在H435处未修饰。在各种实施方案中,臼状Fc区包含修饰H435R或H435K(当修饰是H435R时,在一些情况下称为“臼状R”),而杵状Fc区不包含这些。在一些情况下,臼状R突变相比于可能存在的同二聚体臼状Fc区改善了异二聚体的纯化。

[0121] 可用于含有修饰的IL-2的多肽的非限制性示例性Fc区包括包含SEQ ID NO:47-83的氨基酸序列的Fc区。

[0122] 在一些实施方案中,包含至少一个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽包含选自SEQ ID NO:3-9、11-21和23-31的氨基酸序列以及与该氨基酸序列的C端融合的Fc区。在一些实施方案中,包含至少一个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽包含选自SEQ ID NO:3、5-9、12-21和23-31的氨基酸序列以及与该氨基酸序列的C端融合的Fc区。在一些实施方案中,包含至少一个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列以及与该氨基酸序列的C端融合的Fc区。在一些实施方案中,包含至少一个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽包含选自SEQ ID NO:3-9、11-21和23-31的氨基酸序列以及与该氨基酸序列的N端融合的Fc区。在一些实施方案中,包含至少一个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽包含选自SEQ ID NO:3、5-9、12-21和23-31的氨基酸序列以及与该氨基酸序列的N端融合的Fc区。在一些实施方案中,包含至少一个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列以及与该氨基酸序列的N端融合的Fc区。在一些实施方案中,包含至少一个抗原结合结构域和Fc区的含有修饰的IL-2的多肽包含选自SEQ ID NO:34-43和46的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述多肽包含SEQ ID NO:43和结合在T细胞或自然杀伤细胞上表达的抗原的抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述多肽包含SEQ ID NO:46和结合在T细胞或自然杀伤细胞上表达的抗原的抗原结合结构域。

含有修饰的IL-2的多肽的示例性活性

[0123] 在各种实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽是IL-2R活性的激动剂。在一些实施方案中,可以使用本文实施例中提供的方法,如使用293F细胞或类似细胞来测定激动剂活性。在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在靶向T细胞时是IL-2R活性的激动剂,但在没有靶向的情况下显示几乎没有激动剂活性。在一些实施方案中,本

文提供的含有修饰的IL-2的多肽在靶向NK细胞和/或T细胞时是IL-2R活性的激动剂,但在没有靶向的情况下显示几乎没有激动剂活性。在一些实施方案中,靶向T细胞或NK细胞的含有修饰的IL-2的多肽包含至少一个抗原结合结构域,其特异性结合T细胞或NK细胞上表达的抗原。

[0124] 在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外和/或体内增加CD4⁺和/或CD8⁺T细胞的增殖。在一些实施方案中,所述多肽在Treg细胞的存在下增加CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖。在一些此类实施方案中,CD4⁺和/或CD8⁺T细胞是激活的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞。在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外增加激活的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖。在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽,相对于不存在所述多肽时的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖而言,使激活的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍。在一些实施方案中,相对于不存在所述多肽时观察到的增殖而言,所述多肽使激活的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞的增殖增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍,并且基本上不增加静息CD4⁺和/或CD8⁺T细胞的增殖。

[0125] 在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外和/或体内增加NK细胞的增殖。在一些此类实施方案中,NK细胞是激活的NK细胞。在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外增加激活的NK细胞增殖。在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽,相对于不存在所述多肽时的NK细胞增殖而言,使激活的NK细胞增殖增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍。在一些实施方案中,相对于不存在所述多肽时观察到的增殖而言,所述多肽使激活的NK细胞的增殖增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍,并且基本上不增加静息NK细胞的增殖。

[0126] 激活的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖的增加可以通过本领域的任何方法,例如本文实施例中提供的方法来确定。非限制性示例性测定如下。CD4⁺和/或CD8⁺T细胞可以从一个或多个健康人供体中分离。将T细胞用CellTrace Violet (CTV) 染色并用抗CD3抗体激活,与包含修饰的IL-2的多肽接触,然后通过FACS进行分析。CTV染色缺失指示增殖。在一些实施方案中,CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖的增加被确定为来自一组实验或来自汇集的T细胞的平均值,如通过测量从不同健康人供体分离的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞的增殖。在一些实施方案中,CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖的增加被确定为来自使用来自至少五个或至少十个不同健康供体的T细胞或来自至少五个或至少十个不同健康供体的T细胞库的T细胞进行的实验的平均值。在一些实施方案中,即使在Treg细胞的存在下,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽也增加CD4⁺和/或CD8⁺T细胞的增殖。

[0127] 在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外和/或体内增加CD4⁺和/或CD8⁺T细胞上的CD71表达。CD71表达指示T细胞激活。在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外增加CD4⁺和/或CD8⁺T细胞上的CD71表达。在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽,相对于不存在所述多肽时的CD71表达而言,使CD4⁺和/或CD8⁺T细胞上的CD71表达增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、或至少5倍。在一些实施方案中,相对于不存在所述多肽时观察到的CD71表达而言,所述多肽使激活的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞上的CD71表达增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍或至少5倍,并且基本上不增加静息CD4⁺和/或CD8⁺T细胞上的CD71表达。在一些实施方案中,所述多肽在Treg细胞的存在下增加CD4⁺和/或CD8⁺T细胞上的CD71表达。

[0128] $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞上的CD71表达的增加可以通过本领域的任何方法,例如本文实施例中提供的方法来确定。非限制性示例性测定如下。可以将 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞从一个或多个健康人供体中分离,并用抗CD3抗体刺激,与含有修饰的IL-2的多肽接触,然后通过FACS分析CD71表达。在一些实施方案中, $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞上的CD71表达的增加被确定为来自一组实验或来自汇集的T细胞的平均值,如通过测量从不同健康人供体分离的 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞上的CD71表达。在一些实施方案中, $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞上的CD71表达的增加被确定为来自使用来自至少五个或至少十个不同健康供体的T细胞或来自至少五个或至少十个不同健康供体的T细胞库的T细胞进行的实验的平均值。在一些实施方案中,即使在Treg细胞的存在下,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽也增加 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞上的CD71表达。

[0129] 在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外和/或体内增加 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞中的pSTAT5表达。pSTAT5表达指示T细胞激活。在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外增加 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞中的pSTAT5表达。在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽,相对于不存在所述多肽时的pSTAT5表达而言,使 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞上的pSTAT5表达增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、或至少5倍。在一些实施方案中,所述多肽在Treg细胞的存在下增加 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞上的pSTAT5表达。 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞中的pSTAT5表达的增加可以通过本领域的任何方法,例如本文实施例中提供的方法来确定。在一些实施方案中,即使在Treg细胞的存在下,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽也增加 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞中的pSTAT5表达。

[0130] 在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外和/或体内增加NK细胞中的pSTAT5表达。pSTAT5表达指示NK细胞激活。在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在体外增加NK细胞中的pSTAT5表达。在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽,相对于不存在所述多肽时的pSTAT5表达而言,使NK细胞上的pSTAT5表达增加至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、或至少5倍。在一些实施方案中,所述多肽在Treg细胞的存在下增加NK细胞中的pSTAT5表达。NK细胞中的pSTAT5表达的增加可以通过本领域的任何方法,例如本文实施例中提供的方法来确定。

[0131] 在一些实施方案中,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽降低或减弱调节性T细胞(Treg)的抑制活性。在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽使Treg对 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞的抑制活性降低至少10%、至少20%、至少30%或至少50%。Treg对常规 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞的抑制活性的降低可以通过本领域的任何方法,例如本文实施例中提供的方法来确定。非限制性示例性测定如下。将Treg和 $CD4^+$ T细胞在从健康人供体PBMC中分离后,用荧光增殖细胞染料进行差异标记。将 $CD4^+$ T细胞用抗CD3抗体刺激,而将Treg细胞在本文提供的含有修饰的IL-2多肽的存在下孵育。将两种T细胞群共培养3天,并且通过流式细胞术监测 $CD4^+$ T细胞的增殖和激活。在一些实施方案中,例如与在Treg细胞的存在下但不存在本文提供的含有修饰的IL-2的多肽的情况下的 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞激活和增殖相比,本文提供的含有修饰的IL-2的多肽在Treg细胞的存在下增加了 $CD4^+$ 和/或 $CD8^+$ T细胞激活和增殖。

多肽表达和生产

[0132] 提供了包含编码含有修饰的IL-2的结合多肽的多核苷酸的核酸分子。因此,在各种实施方案中,提供了编码包含修饰的IL-2的多肽的核酸分子。在一些实施方案中,所述核

酸分子编码修饰的IL-2和至少一个抗原结合结构域。在各种实施方案中,所述核酸分子编码修饰的IL-2和Fc区以及任选的至少一个抗原结合结构域。在一些实施方案中,Fc区包含设计用于异二聚化的突变,如“杵状结构”或“臼状结构”突变。在一些实施方案中,提供了编码含有修饰的IL-2的多肽的核酸分子,所述多肽包含修饰的IL-2、至少一个抗原结合结构域和Fc区,其中所述Fc区与所述至少一个抗原结合结构域的C端融合,并且所述修饰的IL-2与所述Fc区的C端融合。在任何前述实施方案中,所述核酸分子还可以编码引导含有修饰的IL-2的多肽分泌的前导序列,所述前导序列通常被切割以使其不存在于分泌的多肽中。前导序列可以是天然重链(或VHH)前导序列,或者可以是另一种异源前导序列。

[0133] 可以使用本领域常规的重组DNA技术构建核酸分子。在一些实施方案中,核酸分子是适合在选择的宿主细胞中表达的表达载体。

[0134] 提供了包含编码本文所述的含有修饰的IL-2的多肽的核酸的载体。此类载体包括但不限于DNA载体、噬菌体载体、病毒载体、逆转录病毒载体等。在一些实施方案中,选择优化用于在所需细胞类型如293F、CHO、或CHO衍生细胞、或NS0细胞中表达多肽的载体。示例性的此类载体描述于例如Running Deer等人,Biotechnol.Prog.20:880-889(2004)。

[0135] 在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽可以在原核细胞如细菌细胞中;或在真核细胞如真菌细胞(如酵母)、植物细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞中表达。这种表达可以例如根据本领域已知的程序进行。可用于表达多肽的示例性真核细胞包括但不限于COS细胞,包括COS 7细胞;293细胞,包括293F细胞;CHO细胞,包括CHO-S、DG44.Lec13 CHO细胞和FUT8CHO细胞;PER.C6[®]细胞(Crucell);以及NS0细胞。在一些实施方案中,可以在酵母中表达含有修饰的IL-2的多肽。参见例如美国公开号US2006/0270045A1。在一些实施方案中,基于其对所述多肽进行所需翻译后修饰的能力来选择特定的真核宿主细胞。例如,在一些实施方案中,CHO细胞产生的多肽的唾液酸化水平高于293F细胞中产生的相同多肽的唾液酸化水平。

[0136] 可通过任何方法将一种或多种核酸(如载体)引入所需宿主细胞,所述方法包括但不限于磷酸钙转染、DEAE-葡聚糖介导的转染、阳离子脂质介导的转染、电穿孔、转导、感染等。非限制性示例性方法描述于例如Sambrook等人,Molecular Cloning,A Laboratory Manual,第3版Cold Spring Harbor Laboratory Press(2001)。根据任何合适的方法,可以在所需宿主细胞中瞬时地或稳定地转染核酸。

[0137] 还提供了包含本文所述的任何核酸或载体的宿主细胞。在一些实施方案中,提供了表达本文所述的含有修饰的IL-2的多肽的宿主细胞。在宿主细胞中表达的含有修饰的IL-2的多肽可以通过任何合适的方法进行纯化。此类方法包括但不限于使用亲和和基质或疏水相互作用色谱。合适的亲和配体包括ROR1 ECD和结合Fc区的药剂。例如,蛋白A、蛋白G、蛋白A/G或抗体亲和柱可用于结合Fc区并纯化包含Fc区的含有修饰的IL-2的多肽。疏水相互作用色谱,例如丁基或苯基柱,也可适用于纯化一些多肽,如抗体。离子交换色谱(例如阴离子交换色谱和/或阳离子交换色谱)也可适用于纯化一些多肽,如抗体。混合模式色谱(例如反相/阴离子交换、反相/阳离子交换、亲水相互作用/阴离子交换、亲水相互作用/阳离子交换等)也可适用于纯化某些多肽,如抗体。许多纯化多肽的方法是本领域已知的。

[0138] 在一些实施方案中,含有修饰的IL-2的多肽在无细胞系统中产生。非限制性示例性无细胞系统描述于例如Sitaraman等人,Methods Mol.Biol.498:229-44(2009);Spirin,

Trends Biotechnol.22:538-45 (2004);Endo等人,Biotechnol.Adv.21:695-713 (2003) 中。

[0139] 在一些实施方案中,提供了通过上述方法制备的含有修饰的IL-2的多肽。在一些实施方案中,在宿主细胞中制备含有修饰的IL-2的多肽。在一些实施方案中,在无细胞系统中制备含有修饰的IL-2的多肽。在一些实施方案中,纯化含有修饰的IL-2的多肽。在一些实施方案中,提供了包含含有修饰的IL-2的多肽的细胞培养基。

[0140] 在一些实施方案中,提供了包含通过上述方法制备的抗体的组合物。在一些实施方案中,所述组合物包含在宿主细胞中制备的含有修饰的IL-2的多肽。在一些实施方案中,所述组合物包含在无细胞系统中制备的含有修饰的IL-2的多肽。在一些实施方案中,所述组合物包含纯化的含有修饰的IL-2的多肽。

使用含有修饰的IL-2的多肽治疗疾病的示例性方法

[0141] 在一些实施方案中,提供了治疗个体疾病的方法,其包括施用含有修饰的IL-2的多肽。此类疾病包括将受益于CD4⁺和/或CD8⁺T细胞增殖和激活的增加了的任何疾病。在一些实施方案中,提供了治疗个体的癌症的方法。所述方法包括向所述个体施用有效量的本文提供的含有修饰的IL-2的多肽。此类治疗方法可用于人或动物。在一些实施方案中,提供了治疗人的方法。可以用本文提供的含有修饰的IL-2的多肽治疗的非限制性示例性癌症包括基底细胞癌;胆道癌;膀胱癌;骨癌;脑和中枢神经系统癌症;乳腺癌;腹膜癌;宫颈癌;绒毛膜癌;结直肠癌;结缔组织癌;消化系统癌症;子宫内膜癌;食道癌;眼癌;头颈癌;胃癌;胃肠癌;胶质母细胞瘤;肝癌;肝肿瘤;上皮内瘤;肾脏癌或肾癌;喉癌;肝脏癌症;肺癌;小细胞肺癌;非小细胞肺癌;肺腺癌;肺鳞癌;黑色素瘤;骨髓瘤;神经母细胞瘤;口腔癌;卵巢癌;胰腺癌;前列腺癌;视网膜母细胞瘤;横纹肌肉瘤;直肠癌;呼吸系统癌症;唾液腺癌;肉瘤;皮肤癌;鳞状细胞癌;胃癌;睾丸癌;甲状腺癌;子宫或子宫内膜癌;泌尿系统癌症;和外阴癌;淋巴瘤;霍奇金淋巴瘤;非霍奇金淋巴瘤;B细胞淋巴瘤;低级别/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL);小淋巴细胞(SL)NHL;中级/滤泡性NHL;中级弥漫性NHL;高级别免疫母细胞NHL;高级别淋巴母细胞NHL;高级别小非裂解细胞NHL;大肿块NHL;套细胞淋巴瘤;艾滋病相关淋巴瘤;华氏巨球蛋白血症;慢性淋巴细胞白血病(CLL);急性成淋巴细胞性白血病(ALL);毛细胞白血病;和慢性成髓细胞性白血病。

[0142] 可以根据需要向受试者施用含有修饰的IL-2的多肽。施用频率的确定可以由本领域技术人员(如主治医生)基于对以下因素的考量来进行:所治疗的病症、所治疗受试者的年龄、所治疗病症的严重程度、所治疗受试者的一般健康状态等。在一些实施方案中,将有效剂量的含有修饰的IL-2的多肽施用于受试者一次或多次。在一些实施方案中,每天、每半周、每周、每两周、每月一次等向受试者施用有效剂量的含有修饰的IL-2的多肽。将有效剂量的含有修饰的IL-2的多肽施用于受试者至少一次。在一些实施方案中,可多次施用有效剂量的含有修饰的IL-2的多肽,包括在至少一个月、至少六个月或至少一年的历程中多次施用。

[0143] 在一些实施方案中,以有效治疗(包括预防)癌症和/或增加T细胞增殖的量施用包含含有修饰的IL-2的多肽的药物组合物。治疗有效量通常取决于所治疗受试者的体重、其身体或健康状况、要治疗的病症的广泛性或所治疗受试者的年龄。通常,可以以每剂量约0.05mg/kg体重至约100mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量约10μg/kg体重至约100mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量

约50 μ g/kg体重至约5mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量约100 μ g/kg体重至约10mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量约100 μ g/kg体重至约20mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量约0.5mg/kg体重至约20mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量约0.5mg/kg体重至约10mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量约0.05mg/kg体重至约20mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以每剂量约0.05mg/kg体重至约10mg/kg体重范围内的量施用多肽。在一些实施方案中,可以以约5mg/kg体重或更低,例如少于4、少于3、少于2、或少于1mg/kg的抗体的范围内的量施用多肽。

[0144] 在一些实施方案中,可以通过各种途径在体内施用含有修饰的IL-2的多肽,所述途径包括但不限于静脉内、动脉内、肠胃外、腹膜内或皮下。可以根据预期的应用选择适当的配制品和施途径。

[0145] 在一些实施方案中,使用含有修饰的IL-2的多肽的治疗性处理是通过增加T细胞增殖和/或激活来实现的。在一些实施方案中,增加T细胞增殖和/或激活抑制癌症的生长。

药物组合物

[0146] 在一些实施方案中,包含含有修饰的IL-2的多肽的组合物以具有各种药学上可接受的载体的配制品形式提供(参见例如Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 第20版(2003); Ansel等人, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 第7版, Lippencott Williams and Wilkins(2004); Kibbe等人, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第3版, Pharmaceutical Press(2000))。可以使用各种药学上可接受的载体,包括媒介物、佐剂和稀释剂。此外,还可以使用各种药学上可接受的辅助物质,如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、湿润剂等。非限制性示例性载体包括盐水、缓冲盐水、右旋糖、水、甘油、乙醇及其组合。

[0147] 在一些实施方案中,药物组合物包含以下浓度的含有修饰的IL-2的多肽:至少10mg/mL、20mg/mL、30mg/mL、40mg/mL、50mg/mL、60mg/mL、70mg/mL、80mg/mL、90mg/mL、100mg/mL、125mg/mL、150mg/mL、175mg/mL、200mg/mL、225mg/mL、或250mg/mL。

组合疗法

[0148] 可以将含有修饰的IL-2的多肽单独施用或与其他治疗模式如其他抗癌剂组合施用。可以将它们在其他治疗模式之前、基本上同时或之后(即,并行或依序)提供。在一些实施方案中,本文所述的治疗方法还可以包括施用:放射疗法、化学疗法、疫苗接种、靶向肿瘤疗法、CAR-T疗法、溶瘤病毒疗法、癌症免疫疗法、细胞因子疗法、手术切除术、染色质修饰、消融、冷冻疗法、针对肿瘤靶标的反义药剂、针对肿瘤靶标的siRNA剂、针对肿瘤靶标的微小RNA剂或抗癌/抗肿瘤剂、或生物制剂(如抗体、细胞因子或受体细胞外结构域-Fc融合物)。

[0149] 在一些实施方案中,将本文提供的含有修饰的IL-2的多肽与第二治疗剂例如PD-1抗体并行给予。PD-1抗体的例子包括纳武单抗(BMS); 派姆单抗(Merck); AMP-514(Amplimmune); TSR-042(Tesaro/AnaptysBio, ANB-011); STI-A1110(Sorrento Therapeutics); 和其他针对程序性死亡分子-1(PD-1)的药剂。

[0150] 在一些实施方案中,将本文提供的含有修饰的IL-2的多肽与第二治疗剂例如PD-

L1疗法并行给予。PD-L1疗法的例子包括匹地利珠单抗 (CureTech, CT-011); 度伐鲁单抗 (Medimmune/AstraZeneca); 阿特珠单抗 (Genentech/Roche); 阿维鲁单抗 (Pfizer); AMP-224 (Amplimmune); BMS-936559 (Bristol-Myers Squibb); STI-A1010 (Sorrento Therapeutics); 和其他针对程序性死亡分子-1配体 (PD-L1) 的药剂。

[0151] 在一些实施方案中, 将本文提供的含有修饰的IL-2多肽与CAR-T (嵌合抗原受体T细胞) 疗法、溶瘤病毒疗法、细胞因子疗法和/或靶向其他检查点分子如VISTA、gpNMB、B7H3、B7H4、HLA2、CD73、CTLA4、TIGIT等的药剂并行给予。

诊断和治疗的非限制性示例性方法

[0152] 在一些实施方案中, 本文描述的方法可用于评价受试者和/或来自受试者 (例如癌症患者) 的样本。在一些实施方案中, 评价是诊断、预后和/或对治疗的反应中的一者或多者。

[0153] 在一些实施方案中, 本文所述的方法包括评价蛋白质的存在、不存在或水平。在一些实施方案中, 本文所述的方法包括评价核酸的存在、不存在或表达水平。本文所述的组合物可用于这些测量。例如, 在一些实施方案中, 本文所述的方法包括使肿瘤样本或从肿瘤培养的细胞与如本文所述的治疗剂接触。

[0154] 在一些实施方案中, 评价可以指导治疗 (包括用本文所述的多肽的治疗)。在一些实施方案中, 评价可以指导切除术后辅助疗法的使用或停止。辅助疗法, 也称为辅助护理, 是在初级、主要或初始治疗之外给予的治疗。作为非限制性例子, 辅助疗法可以是通常在手术后给予的其他治疗, 其中所有可检测的疾病均已去除, 但由于隐匿性疾病仍存在复发的统计学风险。在一些实施方案中, 所述多肽用作治疗癌症的辅助疗法。在一些实施方案中, 抗体用作治疗癌症的唯一辅助疗法。在一些实施方案中, 本文所述的抗体不作为治疗癌症的辅助疗法。例如, 如果患者不太可能对本文所述的抗体有反应或将具有最小反应, 则可能为了生活质量和避免无效化学疗法引起的不必要毒性而不会施用治疗。在此类情况下, 可以使用缓和照顾。

[0155] 在一些实施方案中, 在切除术之前将所述多肽作为新辅助疗法施用。在一些实施方案中, 新辅助疗法是指在任何手术之前使肿瘤缩小和/或降级的疗法。在一些实施方案中, 新辅助疗法是指在手术前施用于癌症患者的化学疗法。在一些实施方案中, 新辅助疗法是指在手术前施用于癌症患者的多肽。通常考虑进行新辅助化学疗法的癌症类型包括例如乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌、宫颈癌、膀胱癌和肺癌。在一些实施方案中, 抗体用作治疗癌症的新辅助疗法。在一些实施方案中, 在切除术之前使用。

[0156] 在一些实施方案中, 本文描述的方法中考虑的肿瘤微环境是以下中的一种或多种: 肿瘤脉管系统; 肿瘤浸润性淋巴细胞; 成纤维细胞网状细胞; 内皮祖细胞 (EPC); 癌症相关成纤维细胞; 周细胞; 其他基质细胞; 细胞外基质 (ECM) 的组分; 树突细胞; 抗原呈递细胞; T细胞; 调节性T细胞; 巨噬细胞; 嗜中性粒细胞; 和位于肿瘤附近的其他免疫细胞。

试剂盒

[0157] 还提供了制品和试剂盒, 其包括如本文所述的任何含有修饰的IL-2的多肽以及合适的包装。在一些实施方案中, 本发明包括试剂盒, 其具有 (i) 含有修饰的IL-2的多肽, 和 (ii) 使用所述试剂盒向个体施用含有修饰的IL-2的多肽的说明书。

[0158] 用于本文所述组合物的合适包装是本领域中已知的, 并且包括例如小瓶 (例如密

封的小瓶)、器皿、安瓿、瓶子、罐子、软包装(例如密封的Mylar或塑料袋)等。可以进一步将这些制品灭菌和/或密封。还提供了包含本文所述的组合物的单位剂型。这些单位剂型可以以单个或多个单位剂量储存在合适的包装中,并且也可以进一步灭菌和密封。本发明的试剂盒中提供的说明书通常是标签或包装说明书(例如,试剂盒中包括的纸页)上的书面说明书,但机器可读的说明书(例如,磁性或光学存储盘上携带的说明书)也是可接受的。与抗体的使用有关的说明书通常包括关于用于预期治疗或工业用途的剂量、给药时间表、和施用途径的信息。所述试剂盒还可包括选择合适的个体或治疗的描述。

[0159] 所述容器可以是单位剂量、散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。例如,还可以提供包含足够剂量的本文公开的分子的试剂盒以在延长的时间段内为个体提供有效治疗,所述延长的时间段为如约一周、2周、3周、4周、6周、8周、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月或更长时间中的任一者。试剂盒还可以包括多个单位剂量的分子和使用说明书,并且其包装量足以在药房(例如,医院药房和复合药房)中存储和使用。在一些实施方案中,试剂盒包括干燥(例如冻干的)组合物,所述干燥组合物可以重构、再悬浮或再水合以形成总体上稳定的多肽水性悬浮液。

实施例

[0160] 以下所讨论的实施例仅旨在举例说明本发明,并且因此不应视为以任何方式限制本发明。实施例并不旨在表示以下实验是进行的全部或仅有的实验。已经努力确保关于所使用的数字(例如,量、温度等)的准确性,但是应考虑到一些实验误差和偏差。除非另有指示,否则份数是重量份,分子量是重均分子量,温度是按摄氏度计,并且压力是大气压或接近大气压。

实施例1:IL-2的P65R突变基本上消除了CD25结合

[0161] IL-2突变体被设计为通过空间阻塞破坏CD25界面(P65R和P65E),并测试与瞬时转染了IL-2受体的一种或多种组分(CD25、CD122和/或CD132)的293F细胞的结合)。将突变体与IL-2-F42K进行比较,IL-2-F42K是一种据报道具有降低的对CD25的亲合力的突变体。将渐增浓度的包含与“杵状”Fc的N端融合并与“臼状”Fc(SEQ ID NO:44)复合的野生型人IL-2(SEQ ID NO:32)、IL-2-F42K(SEQ ID NO:33)、IL-2-P65R(SEQ ID NO:35)或IL-2-P65E(SEQ ID NO:34)的融合蛋白添加至转染的293F细胞中,并在4℃下孵育45分钟。

[0162] 基本上如下通过流式细胞术分析结合。将细胞在200μL FACS缓冲液(PBS、2%FBS、0.05%叠氮化钠)中洗涤一次,然后将细胞沉淀重悬浮在100μL表面标记物染色溶液(在FACS缓冲液中以1:300稀释度含有A647缀合的抗人Fcγ2抗)中。在最后一次洗涤之前,将细胞在4℃下孵育45分钟,并在流式细胞仪上进行分析。通过FSC/SSC尺寸排除法排除细胞碎片,并基于其阳性碘化丙啶信号排除死细胞。使用FSC-A/FSC-H双峰和聚集体排除法选择单个细胞。瞬时转染的细胞也表达细胞质EGFP,并对FL1阳性的细胞进行分析。抗人二抗的渐增MFI水平指示IL-2结合。FlowJo软件用于分析细胞群。然后导出每个标记物的原始平均荧光强度(“MFI”),并使用Excel和GraphPad PRISM进行分析。对值进行绘图,并拟合滴定曲线以使用非线性回归单点-总曲线拟合来评估剂量-反应关系。

[0163] 如图2A-C所示,相对于包含野生型IL-2的融合蛋白,包含IL-2-P65E变体的融合蛋白对IL-2R的亲合力略微降低。包含IL-2-F42K的融合蛋白展现出比包含IL-2-P65E的融合蛋白更低的亲合力,而包含IL-2-P65R的融合蛋白对异三聚体IL-2R展现出最低的亲合力(图

2A)。此外,包含IL-2-P65R的融合蛋白未展现出与CD25/CD132的可检测结合,并且仅与CD25/CD122弱结合(图2C),而包含IL-2-F42K的融合蛋白保留了一些对CD25/CD132的亲合力(图2B)并且以比包含IL-2-P65R的融合蛋白更大的亲合力结合CD25/CD122(图2B和2C)。因此,在P65R突变的IL-2显著降低了与含有CD25的IL-2受体的结合。

实施例2:降低对CD122的亲合力的IL-2修饰

[0164] 如实施例1中所述,P65R IL-2突变被设计为通过空间阻塞破坏CD25界面。此外,IL-2突变被设计为通过消除某些接触残基相互作用(例如D84S、E95Q、M23A、H16A和E15S)来降低对CD122界面的亲合力。单突变体或双突变体与异二聚体Fc(二硫化物稳定的杵状结构进入包含“臼状”Fc SEQ ID NO:44的臼状结构中)的“杵状”半部分的N端融合,以用于单价IL-2结合IL-2R。通过用CD25和CD122瞬时转染293F细胞来评估相对结合亲合力(与CD132共转染显示类似的结果,但额外的结合亲合力降低了观察到的亲和力的差异)。基本上如实施例1中所述,将结合的IL-2-Fc融合蛋白用荧光抗人二抗检测,并通过流式细胞术分析。

[0165] 如图3A-3B所示,所有包含掺入F42K的以及在CD122界面中掺入突变的双IL-2突变体的融合蛋白(SEQ ID NO:36-39)相对于包含单突变体IL-2-F42K的融合蛋白(SEQ ID NO:33)显示出降低的对于CD25/CD122的结合亲合力,但IL-2-F42K-E15S(SEQ ID NO:85)除外。

实施例3:IL-2-RAS (P65R、H16A和D84S) 具有降低的对在IL-2R的三聚体和二聚体形式的背景中的CD122的亲合力

[0166] 将实施例2中描述的降低CD122亲和力的突变与P65R突变组合以构建IL-2双突变体和三突变体。IL-2突变体与异二聚体Fc的“杵状”半部分的N端融合,并与包含SEQ ID NO:44的“臼状”Fc配对,以用于单价IL-2结合IL-2受体(IL-2R)。基本上如实施例1中所述,评估所得融合蛋白对用IL-2R亚基瞬时转染的293F细胞的相对结合亲合力。

[0167] 相对于包含野生型IL-2的融合蛋白(SEQ ID NO:32),包含IL-2-P65R-H16A的融合蛋白(SEQ ID NO:41)和包含IL-2-P65R-D84S的融合蛋白(SEQ ID NO:42)具有降低的对CD122/CD132(异二聚体IL-2R)(图4A)和异三聚体IL-2R(图4B)的亲合力,而包含三突变体的融合蛋白IL-2-P65R-H16A-D84S(“IL-2-RAS”,SEQ ID NO:43)甚至更弱(图4A-4B)。在最大结合和 EC_{50} 方面观察到的对这些IL-2突变体的结合变化表明这些突变降低了结合速率(EC_{50} 右移)和解离速率(降低的最大结合)。

实施例4. IL-2-RAS具有降低的对静息T细胞和预激活T细胞的亲合力

[0168] 为了分离T细胞,将非T细胞群在室温下用针对CD14、CD16、CD19、CD20、CD36、CD56、CD123、TCR γ/δ (BioLegend)的生物素化抗谱系标记物抗体标记20分钟。然后通过室温下与磁性链霉亲和素颗粒(500 μ l珠浆液加500 μ l细胞悬浮液/100 $\times 10^6$,在磁体上孵育2 $\times$ 8分钟)一起孵育20分钟来耗尽非T细胞群。未结合的细胞上清液含有分离的T细胞。

[0169] 将一些分离的T细胞(5.5×10^6 , 3mL)通过在预先包被有1 μ g/ml抗CD3 OKT3抗体(BD Biosciences)的6孔板中孵育2天来激活,然后用PBS/2%FBS洗涤,并在RPMI+10%FBS中以 2×10^6 /mL静置1天。静息或预激活T细胞直接用于结合测定。通过流式细胞术测量非靶向VHH-Fc同种型对照以及包含和连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的IL-2-RAS或野生型IL-2的融合蛋白与静息或预激活T细胞的结合,基本上如实施例1所述,不同之处在于使用以下二抗:AF647抗人Fc(1:1000)、PI(1:2000)、BV785-CD4(1:300)、APC/Fire-CD8(1:500)和PE/Cy7-CD25(1:100)。

[0170] 与包含非靶向VHH结构域和野生型IL-2的融合蛋白(包含SEQ ID NO:45)相比,非靶向IL-2-RAS融合蛋白(包含SEQ ID NO:46)以降低的亲和力结合静息(图5A)和预激活(图5B) T细胞。不包含IL-2的同种型对照不结合静息或预激活T细胞,如图5A和5B所示。

实施例5:IL-2-RAS具有降低的对Treg的亲和力

[0171] 调节性T细胞(“Treg”)具有CD25以及CD122和CD132的高内源性表达,并且对野生型IL-2具有高反应性。测量了包含和非靶向VHH的异二聚体Fc(二硫化物稳定的杵臼结构)的“杵状”半部分的C端融合的野生型IL-2(包含SEQ ID NO:45)或IL-2-RAS三突变体(包含SEQ ID NO:46)的融合蛋白与Treg的结合。

[0172] 按照制造商的说明,使用EasySep人CD4⁺CD127^低CD25⁺调节性T细胞分离试剂盒(Stemcell)从新鲜的健康供体PBMC中富集和分离Treg和CD4⁺T应答细胞(Tresp)。通过在补充有rhTGF-β1、全反式视黄酸、CD3/CD28 T细胞激活剂和IL-2的ImmunoCult-XF T细胞扩增培养基中培养7天,从幼稚CD4⁺T细胞产生Treg。

[0173] 为了区分两种细胞群,将富集的Treg和CD4⁺应答T细胞分别用增殖染料CellTrace Violet (CTV)和CFSE标记,在37°C下持续10分钟。洗涤后,将Treg和CD4⁺T细胞在补充有10% FBS和1X抗生素/抗真菌剂的RPMI中重悬浮至 1.5×10^6 个细胞/ml。将Treg以50μl体积接种,在96孔圆底板中产生75,000个Treg/孔。如实施例1中所述,通过流式细胞术将Treg在37°C下在10nM IL-2-RAS的存在下孵育过夜。

[0174] 如图6所示,与包含野生型IL-2的融合蛋白相比,包含IL-2-RAS的融合蛋白没有显示出与从PBMC(图6A)、诱导的Treg(图6B)或CD4⁺T应答细胞(图6C)富集的Treg的可观察到的结合。

实施例6:IL-2-RAS具有降低的对静息T细胞的活性

[0175] 基本上如实施例4中所述,通过磁珠分离来分离T细胞,用CellTrace Violet (CTV)标记,并用包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2(包含SEQ ID NO:45)或IL-2-RAS(包含SEQ ID NO:46)的融合蛋白处理。通过流式细胞术测量CD4、CD8、CD71和CTV的水平。增殖的T细胞具有降低的CTV水平。

[0176] 如图7A和图7C所示,诱导静息CD4⁺和CD8⁺T细胞增殖所需的包含IL-2-RAS的融合蛋白的浓度是实现相同的增殖诱导所需的包含野生型IL-2的融合蛋白的浓度或包含IL-2v-类似物的融合蛋白的浓度的超过100倍。

[0177] 如图7B和图7D所示,诱导CD8⁺和CD4⁺T细胞上的CD71表达(为T细胞激活的标记物)所需的包含IL-2-RAS的融合蛋白的浓度是实现相同的激活诱导所需的包含野生型IL-2或IL-2v-类似物的融合蛋白的浓度的至少100倍。

[0178] T细胞激活也可以通过磷酸化STAT5水平来测量,所述水平在激活的T细胞中会增加。将T细胞通过磁珠分离来分离,并用包含与含异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2的融合蛋白(包含SEQ ID NO:45)或包含与含异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的IL-2-RAS的融合蛋白(包含SEQ ID NO:46)处理15分钟。将细胞用BD Cytofix/CytopermTM(BD Biosciences)固定,在90%冰冷甲醇中透化,并使用流式细胞术使用抗pSTAT5-PE抗体(1:70)来测量CD4⁺和CD8⁺T细胞上的磷酸化STAT5(“pSTAT5”)的水平。将细胞用以下抗体共染色:抗CD3-FITC(1:200)、CD56-BV421(1:100)、CD4-BV785(1:200)、CD8-APC-Fire(1:300)。

[0179] 如图7E和图7F所示,即使在测试的最高浓度下,非靶向IL-2-RAS融合蛋白在静息CD4⁺和CD8⁺T细胞中实现了最少的STAT5磷酸化,而非靶向IL-2-野生型融合蛋白在比测试的最高浓度低多于1000倍的浓度下诱导STAT5磷酸化。

实施例7:IL-2突变体具有降低的对Treg的活性

[0180] 使用EasySep™人CD4⁺CD127^低CD25⁺调节性T细胞分离试剂盒(Stemcell)从PBMC中分离Treg。将Treg用CellTrace Violet标记,并在100μl RPMI/10%FBS中以 0.15×10^6 个细胞/孔(96孔,U形底)铺板。将细胞与100μl融合蛋白逐步调整液(以100nM起始、按1:4逐步调整)组合。将细胞孵育7天。在第7天,基本上如实施例1中所述,通过流式细胞术(Novocyte)测量增殖和激活标记物CD25,不同之处在于使用以下抗体:BV785-CD4(1:300)、APC/Fire-CD8(1:500)PE/Cy7-CD25(1:100)、PI(1:2000)。

[0181] 如图8A和8B所示,包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2的融合蛋白(包含SEQ ID NO:45),但不是包含替代野生型IL-2的IL-2-RAS的融合蛋白(包含SEQ ID NO:46),诱导Treg增殖和激活标记物CD25的表达。

实施例8:将表达PD-1的激活T细胞通过靶向PD-1的IL-2-RAS进行刺激

[0182] 使用派姆单抗(抗PD-1常规抗体)和包含派姆单抗类似物和连接重链C端的IL-2-RAS的融合蛋白测试结合和刺激表达PD-1的T细胞的能力(参见图1F)。

[0183] 基本上如实施例4中所述,将来自健康供体的富集的T细胞激活。将6孔板在4℃下用1μg/ml OKT3抗体包被过夜。第二天,将板洗涤两次以去除未结合的OKT3抗体。使用CTL培养基将富集的T细胞解冻,并在完全RPMI中重悬浮至 5.5×10^6 个细胞/mL,并以每孔3mL接种到包被板中。两天后,将激活的T细胞收集并洗涤一次,之后在不含OKT3抗体的培养基中铺板24小时以静置。将细胞用增殖染料CellTrace™Violet(CTV)标记。对T细胞进行计数,然后重悬浮至 2×10^6 个细胞/mL。在96孔圆底板中,每孔接种100μL重悬浮细胞。添加派姆单抗或派姆单抗类似物-IL-2-RAS融合蛋白,以最终浓度100nM起始并且按1:5逐步调整。在第三天,将T细胞在室温下用活力标记物PI和以下荧光标记的抗体染色20min:CD4-BV785、CD8-APC/Fire、CD25-PE/Cy7、CD71-FITC、和CD69-APC基本上如实施例7中所述,在Novocyte流式细胞仪上读取板,以测量增殖,并且基本上如实施例1中所述测量结合,并且将数据输出到Excel中以便进一步分析。

[0184] 如图9所示,派姆单抗类似物-IL-2-RAS融合蛋白刺激CD8⁺T细胞增殖(图9A)和CD4⁺T细胞增殖(图9B),而单独的派姆单抗并未如此。无意受任何特定理论的束缚,所观察到的增殖的双相性质可表明低浓度下的活性是由于PD-1靶向活性,而在较高浓度下增加的活性是由于非靶向活性。如图9C和9D所示,派姆单抗和派姆单抗类似物-IL-2-RAS二者以相似的亲和力结合激活的CD8⁺和CD4⁺T细胞,不同之处在于对于包含IL-2-RAS的融合蛋白在高于10nM的稀释范围上端观察到额外的结合,这可能是由IL-2-RAS与IL-2R的结合所介导的。

实施例9:在激活的T细胞上预先阻断PD-1可阻止靶向PD-1的IL-2-RAS的信号传导

[0185] 基本上如实施例4中所述,通过磁珠分离从健康供体中分离和富集T细胞,并在包被有OKT3抗体的板上孵育以激活它们。将细胞用CTV标记。将预激活的T细胞与派姆单抗(为抗PD-1抗体)一起孵育以阻断PD-1结合位点,或用非靶向抗体作为对照。然后将细胞与包含和派姆单抗类似物融合的IL-2-RAS的融合蛋白、或包含和非靶向抗体融合的IL-2-RAS的融合蛋白(作为对照)一起孵育3天。基本上如实施例7中所述,通过流式细胞术测量CD4⁺和CD8

+T细胞增殖来评价IL-2信号传导的程度。

[0186] 如图10A-10D所示,野生型IL-2诱导CD8⁺和CD4⁺T细胞二者的稳固增殖,而用派姆单抗或包含IL-2-RAS和非靶向抗体的融合蛋白处理的CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞展现出不受预先阻断PD-1影响的低水平增殖。相比之下,用包含IL-2-RAS和派姆单抗类似物的融合蛋白处理的CD4⁺T细胞(图10B和10D)和CD8⁺T细胞(图10A和10C)二者均展现出显著的PD-1依赖性增殖(图10A和10B),所述增殖通过与抗PD-1抗体预孵育而被阻断(图10C和10D)。因此,仅当PD-1在T细胞上表达和可及时,包含IL-2-RAS和抗PD-1抗体的融合蛋白才会激活T细胞。

实施例10:靶向PD-1的IL-2-RAS克服Treg抑制

[0187] 如实施例5中所述分离CD4⁺T应答细胞和Treg。将CD4⁺应答细胞用CTV标记,与分离的Treg以2:1的比率混合,并用抗CD3珠(每2个T细胞1个珠)激活。将得到的混合物用如下处理7天:系列稀释的如图1B所示的与非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2、如图1B所示的包含与非靶向VHH的C端融合的IL-2-RAS的融合蛋白,或者包含与抗PD-1抗体融合的IL-2-RAS的融合蛋白(派姆单抗类似物-IL-2-RAS)。基本上如实施例7中所述,通过流式细胞术来测量增殖。

[0188] 如图11所示,T应答细胞被Treg抑制,但尽管存在Treg,非靶向野生型IL-2以及包含IL-2-RAS和抗PD-1抗体的融合蛋白(派姆单抗类似物-IL-2-RAS)也诱导CD4⁺T应答细胞增殖。用包含IL-2-RAS和非靶向抗体的融合蛋白处理细胞并没有在相似程度上挽救增殖。非靶向IL-2-RAS只能在比靶向PD-1的IL-2-RAS融合蛋白高得多的浓度下对抗Treg对T应答细胞的抑制作用。因此,靶向PD-1的IL-2-RAS克服了Treg的抑制作用,并且这种活性依赖于与T细胞上表达的PD-1的结合。

实施例11:靶向PD-1的IL-2-RAS不以反式发出信号

[0189] 根据制造商推荐的包被程序,以200 μ g PD-1抗原/4 $\times 10^8$ 个珠包被珠。简而言之,将珠在缓冲液1(0.1M磷酸钠缓冲液,pH 7.4-8.0)中洗涤一次,然后在含有PD-1抗原的缓冲液1中在试管旋转器中室温孵育18小时。然后将珠用缓冲液2(PBS,0.1%BSA,2mM EDTA pH 7.4)洗涤4次。通过将珠在缓冲液3(0.2M Tris,0.1%BSA,pH 8.5)中在37 $^{\circ}$ C下孵育4小时,使游离甲苯磺酰基基团失活。然后将珠在缓冲液2中洗涤一次并重悬浮至400 $\times 10^6$ 个珠/mL的浓度。

[0190] 将包被的珠与包含和抗PD-1抗体融合的野生型IL-2或IL-2-RAS的融合蛋白一起孵育并洗涤。然后将珠与分离的静息T细胞一起孵育。通过流式细胞术测量pSTAT5水平来评价IL-2信号传导。

[0191] 与珠结合的包含野生型IL-2的融合蛋白稳固激活CD8⁺T细胞和CD4⁺T细胞,而与珠结合的包含IL-2-RAS的融合蛋白直至测试的最高浓度对CD4⁺或CD8⁺T细胞没有活性。因此,IL-2-RAS的T细胞靶向是IL-2信号传导所需要的,并且靶向IL-2-RAS的信号传导不会以反式发生。

实施例12:IL-2-RAS不以反式发出信号

[0192] 将非靶向野生型IL-2和非靶向IL-2-RAS的稀释系列(以1000nM起始并按1:4稀释)包被在测定板上,孵育过夜,并洗涤。添加T细胞并在37 $^{\circ}$ C下孵育30分钟。基本上如实施例6中所述,通过检测磷酸化STAT5水平来测量CD8⁺和CD4⁺T细胞的激活。

[0193] 如图12A和12B所示,如通过pSTAT5诱导测量的,CD8⁺和CD4⁺T细胞被野生型IL-2反式激活;然而,非靶向IL-2-RAS无法反式激活。无意受任何特定理论的束缚,IL-2-RAS对CD25和CD122的亲和力降低可阻止IL-2R的有效结合和聚集而不能诱导下游信号传导。因此,只有靶向IL-2-RAS融合蛋白驱动pSTAT5信号传导。

实施例13:靶向NKp46的IL-2-RAS特异性驱动NK细胞增殖

[0194] 测定了包含与靶向NKp46的异二聚体scFv抗体的C端融合的IL-2-RAS的融合蛋白(如图1H所示)、包含与连接异二聚体Fc的非靶向VHH的C端融合的野生型IL-2或IL-2-RAS的融合蛋白(如图1B所示)、以及单独的靶向NKp46的异二聚体scFv抗体对NK细胞、CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的作用。

[0195] 将来自健康供体的新鲜PBMC用CellTrace™Violet标记并以200,000个细胞/孔铺板在96孔圆底板中。将融合蛋白和NKp46 scFv-Fc对照的稀释物添加到铺板的细胞中,并在37℃下孵育7天。在第7天,基本上如实施例7中所述测量细胞增殖,不同之处在于使用以下抗体:抗CD3-BV785(1:200)、抗CD56-APC(1:100)、抗CD4-PE(1:200)、抗CD8-APC-Fire(1:300)和PI(1:2000)。

[0196] 此外,将来自健康供体的新鲜PBMC用相同的融合蛋白或NKp46 scFv-Fc对照处理,并在37℃下孵育15分钟。将CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞和NK细胞(CD3⁻、CD56⁺)中的pSTAT5水平通过检测磷酸化STAT5水平来测量,基本上如实施例6中所述。

[0197] 基本如实施例1中所述,测量融合蛋白和NKp46 scFv-Fc对照与来自健康供体的新鲜PBMC的结合,不同之处在于使用以下抗体:抗CD3-FITC(1:100)、抗CD56-BV421(1:100)、抗CD4-BV785(1:200)、抗CD8-APC-Fire(1:300)、抗人IgG-Alexa Fluor 647(1:500)、和PI(1:2000)。

[0198] 如图13A-13I所示,靶向NKp46的IL-2-RAS有效激活NK细胞增殖和激活,同时不影响CD4⁺或CD8⁺T细胞。相比之下,非靶向野生型IL-2驱动所有测试的淋巴细胞(NK、CD4⁺和CD8⁺T细胞)的增殖和激活。NKp46scFv-Fc(不含IL-2-RAS)的结合不会驱动NK增殖或pSTAT5诱导。因此,靶向NKp46的IL-2-RAS驱动NK细胞上IL-2的顺式信号传导,但不会反式激活CD4⁺或CD8⁺T细胞。

实施例14:靶向LAG3的IL-2-RAS刺激预激活的LAG3⁺T细胞

[0199] 测定以下对CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的作用:包含与抗LAG3异二聚体常规抗体(MAb)的C端融合的IL-2-RAS的融合蛋白(如图1G所示),与具有异二聚体Fc的抗LAG3 VHH融合的IL-2-RAS的融合蛋白(如图1B所示),与非靶向VHH融合的IL-2-RAS的融合蛋白(如图1B所示),或包含与非靶向异二聚体Fc的C端融合的野生型IL-2的融合蛋白(如图1B所示),或靶向LAG3的Mab(对照),或靶向LAG3的VHH-Fc(对照)。

[0200] 用1μg/mL所包被的抗CD3(OKT3)和10μg/mL可溶性抗CD28刺激来自健康供体的富集T细胞48小时,然后静置24小时。将预激活的细胞用CellTrace™Violet标记并以200,000个细胞/孔接种。添加融合蛋白和对照蛋白的稀释物并孵育3天。基本上如实施例7中那样测量激活标记物CD25和CD71的增殖和表达,但使用这些另外的抗体:抗CD25-FITC(1:100)和抗CD71-PE/Cy7。

[0201] 经刺激的CD8⁺T细胞将LAG3上调至CD8⁺T细胞的45%,而CD4⁺T细胞将LAG3上调至CD4⁺T细胞的22%。相比之下,非刺激T细胞在CD8⁺或CD4⁺T细胞上的LAG3表达阳性率接近

0%。

[0202] 如图14A-14D所示,抗-LAG3 Mab-IL-2-RAS和抗-LAG3VHH-IL-2-RAS二者均增加了CD8⁺和CD4⁺增殖(图14A和14B)以及如通过CD25(图14C和14D)和CD71(图14E和14F)表达水平所指示的激活。非靶向野生型IL-2是CD8⁺和CD4⁺T细胞增殖和激活的强诱导物,并以更高的亲和力和饱和度结合经刺激的T细胞。

实施例15:IL-2的组合突变体进一步降低非靶向活性

[0203] 使用HEK-Blue IL-2报告细胞(InvivoGen)测量非靶向IL-2突变体的相对活性。将报告细胞用与非靶向VHH的C端融合的IL-2突变体的稀释物处理并孵育20小时,之后进行Quanti-Blue分析。

[0204] 如图15所示,IL-2突变体示出一系列活性。上述实验显示,IL-2-RAS(P65R、H16A和D84S)与野生型IL-2相比具有显著降低的与IL-2R的结合(参见图4-6),并且与野生型IL-2相比具有降低的活性(参见图7A-7E)。与IL-2-RAS相比,具有另外的M23A突变的IL-2-RAS和具有另外的E95Q突变的IL-2-RAS二者均显示出降低的活性,并且IL-2-RAS与M23A和E95Q二者的组合均甚至具有进一步减弱的活性。在使用表达PD-1的报告细胞的实验中,这些亲和力降低的IL-2突变体都显示出可比的PD-1靶向活性(数据未显示),表明与PD-1顺式高亲和力结合可以补偿IL-2突变体对IL-2R的降低的亲和力。虽然HEK-Blue IL-2报告系统可用于相对活性测量,但与原代淋巴细胞相比,报告系统中观察到的IL-2突变体的EC₅₀显著左移,这可能是由于与原代细胞上较低的IL-2R水平相比在报告细胞中IL-2R组分的过度表达造成的。

[0205] 在不脱离本公开文本的精神或本质特征的情况下,本发明可以以其他特定形式实施。因此,前述实施方案在所有方面都被认为是说明性的,而不是对本公开文本的限制。本公开文本的范围因此由所附权利要求而不是由前述描述指示,并且因此在权利要求的等效含义和范围内的所有变化都旨在包含在本文中。

某些序列的列表

SEQ ID NO	描述	序列
1	野生型人 IL-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
2	IL-2v	APASSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAK FAMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
3	IL-2-P65R	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
4	IL-2-H16A	APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
5	IL-2-D84S	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRSLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
6	IL-2-E15S	APTSSSTKKTQLQLSHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
7	IL-2-M23A	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQAILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
8	IL-2-E95Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS INVIVLQLKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
9	IL-2-P65E	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
10	IL-2-F42K	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTKK FYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
11	IL-2-H16A-F42K	APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTKK FYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
12	IL-2-D84S-F42K	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTKK FYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRSLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS

		TLT
13	IL-2-E15S-F42K	APTSSSTKKTQLQLS ¹ HLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLT ¹ KK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
14	IL-2-M23A-F42K	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQA ¹ ILNGINNYKNPKLTRMLT ¹ KK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
15	IL-2-E95Q-F42K	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLT ¹ KK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVL ¹ Q ¹ LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
16	IL-2-P65R-H16A	APTSSSTKKTQLQLEA ¹ ALLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK ¹ R ¹ LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
17	IL-2-P65R-D84S	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELK ¹ R ¹ LEEVLNLAQSKNFHLRPR ¹ SLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
18	IL-2-P65R-E15S	APTSSSTKKTQLQLS ¹ HLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK ¹ R ¹ LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
19	IL-2-P65R-M23A	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQA ¹ ILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK ¹ R ¹ LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
20	IL-2-P65R-E95Q	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELK ¹ R ¹ LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVL ¹ Q ¹ LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
21	IL-2-P65R-H16A-D84S (IL-2-RAS)	APTSSSTKKTQLQLEA ¹ ALLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK ¹ R ¹ LEEVLNLAQSKNFHLRPR ¹ SLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
22	IL-2-T3A-C125S	AP ¹ A ¹ SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF ¹ S ¹ QSIIS TLT
23	IL-2-T3A-P65R-C125S	AP ¹ A ¹ SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK ¹ R ¹ LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF ¹ S ¹ QSIISTLT
24	IL-2-T3A-H16A-C125S	AP ¹ A ¹ SSSTKKTQLQLEA ¹ ALLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF ¹ S ¹ QSIIS TLT
25	IL-2-T3A-D84S-C125S	AP ¹ A ¹ SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI ¹ LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR ¹ SLI

		SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSIISTLT
26	IL-2-T3A-H16 A-P65R-C125S	AP[<u>A</u>]SSSTKKTQLQLE[<u>A</u>]LLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK[<u>R</u>]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSIISTLT
27	IL-2-T3A-P65R -D84S-C125S	AP[<u>A</u>]SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK[<u>R</u>]LEEVLNLAQSKNFHLRPR[<u>S</u>]LI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSIISTLT
28	IL-2-T3A-H16 A-P65R-D84S- C125S	AP[<u>A</u>]SSSTKKTQLQLE[<u>A</u>]LLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK[<u>R</u>]LEEVLNLAQSKNFHLRPR[<u>S</u>]LI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSIISTLT
29	IL-2-no9-H16A -P65R-C125S	TQLQLE[<u>A</u>]LLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATE LKHLQCLEEELK[<u>R</u>]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSIISTLT
30	IL-2-no9-P65R- D84S-C125S	TQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEEELK[<u>R</u>]LEEVLNLAQSKNFHLRPR[<u>S</u>]LISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSIISTLT
31	IL-2-no9-H16A -P65R-D84S-C 125S	TQLQLE[<u>A</u>]LLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATE LKHLQCLEEELK[<u>R</u>]LEEVLNLAQSKNFHLRPR[<u>S</u>]LISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSIISTLT
32	野生型 IL-2-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
33	IL-2-F42K-xEL L “杵状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTKKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
34	IL-2-P65E-xEL L “杵状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKELEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
35	IL-2-P65R-xEL L “杵状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKRLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN

		INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
36	IL-2-F42K-D84 S-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTKKF YMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRSLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
37	IL-2-F42K-E95 Q-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTKKF YMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLQKLGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
38	IL-2-F42K-M2 3A-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQAILNGINNYKNPKLTRMLTKKF YMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
85	IL-2-F42K-E15 S-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLSHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTKKF YMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
39	IL-2-H16A-F42 K-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTKK FYMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LTPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
40	IL-2-H16A-xE	APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFK

	LL “杵状” Fc	FYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LTPGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
41	IL-2-P65R-H16 A-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEALLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F YMPKKATELKHLQCLEEEELKRL E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S N INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
42	IL-2-P65R-D84 S-xELL “杵 状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F YMPKKATELKHLQCLEEEELKRL E E V L N L A Q S K N F H L R P R S L I S N INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
43	IL-2-RAS-xEL L “杵状” Fc	APTSSSTKKTQLQLEALLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F YMPKKATELKHLQCLEEEELKRL E E V L N L A Q S K N F H L R P R S L I S N INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TPGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
44	接头-EVN xELL “白状” Fc	KPGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMRSRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
45	xELL “杵状” Fc-IL-2-T3G-C 125S	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGSGGSAPGSSSTKKTQLQLEHLLDLQMI L N G I N N Y K N P K L TRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLT
46	xELL “杵状”	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

	Fc-IL-2-RAS-T 3G-C125S	HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGSGGGSAPGSSSTKKTQLQLEALLDLQMI LINGINNYKNPKL TRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKRLEEVNLNAQSKNFHL RPRSLISNINIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF SQSIISTLT
47	Fc 区 1 (人野生 型 IgG1)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
48	Fc 区 2 (人 IgG1 xELL “杵 状结构”)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
49	Fc 区 3 (人 IgG1 EVN xELL “白状” I253R)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMRSRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
50	Fc 区	DKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFCFSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
51	Fc 区 xELL	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFCFSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
52	Fc 区 xELL H435R	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFCFSVMH EALHNRYTQK SLSLSPGK
53	Fc 区 xELL M252Y 和 M428V (YV)	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFCFSVH EALHNHYTQK SLSLSPGK
54	Fc 区 xELL	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV

	M252Y 和 M428L (YL)	TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHNHYTQK SLSLSPGK
55	Fc 区 xELL M252Y, M428L, H435R (YLR)	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHNRYTQK SLSLSPGK
56	Fc 区 xELL M252Y, M428V, H435R (YVR)	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVH EALHNRYTQK SLSLSPGK
57	Fc 区 xELL S354C T366W 杵状结构	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCRDEL TKNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
58	Fc 区 xELL H435R S354C T366W 杵状结 构	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCRDEL TKNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNRYTQK SLSLSPGK
59	Fc 区 xELL M252Y 和 M428V (YV) S354C T366W 杵状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALHNHYTQKSLSL SPGK
60	Fc 区 xELL M252Y 和 M428L (YL) S354C T366W 杵状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSL SPGK
61	Fc 区 xELL M252Y, M428L, H435R (YLR) S354C T366W 杵状结 构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNRYTQKSLSL SPGK
62	Fc 区 xELL M252Y,	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR

	M428V, H435R (YVR) S354C T366W 杵状结构	DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVHEALHNRYTQKSLSL SPGK
63	Fc 区 xELL T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVHEALHNHYTQKSLSL SPGK
64	Fc 区 xELL H435R, T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVHEALHNRYTQKSLSL SPGK
65	Fc 区 xELL M252Y 和 M428V (YV) T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVHEALHNHYTQKSLSL SPGK
66	Fc 区 xELL M252Y 和 M428L (YL) T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVLHEALHNHYTQKSLSL SPGK
67	Fc 区 xELL M252Y, M428L, H435R (YLR) T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVLHEALHNRYTQKSLSL SPGK
68	Fc 区 xELL M252Y, M428V, H435R (YVR) T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVHEALHNRYTQKSLSL SPGK
69	Fc 区 H435R	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNRYTQK SLSLSPGK
70	Fc 区 M252Y 和 M428V (YV)	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA

		KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVVH EALHNHYTQK SLSLSPGK
71	Fc 区 M252Y 和 M428L (YL)	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHNHYTQK SLSLSPGK
72	Fc 区 M252Y, M428L, H435R (YLR)	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHNRYTQK SLSLSPGK
73	Fc 区 M252Y, M428V, H435R (YVR)	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVVH EALHNRYTQK SLSLSPGK
74	Fc 区 S354C T366W 杵状结构	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCRDELT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
75	Fc 区 H435R S354C T366W 杵状结构	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCRDELT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNRYTQK SLSLSPGK
76	Fc 区 M252Y 和 M428L (YL) S354C T366W 杵状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKS LSLSPGK
77	Fc 区 M252Y, M428L, H435R (YLR) S354C T366W 杵状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNRYTQKS LSLSPGK
78	Fc 区 M252Y, M428V, H435R (YVR) S354C T366W 杵状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALHNRYTQKS

	构	LSLSPGK
79	Fc 区 T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
80	Fc 区 H435R, T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKS LSLSPGK
81	Fc 区 M252Y 和 M428V (YV) T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALHNHYTQKS LSLSPGK
82	Fc 区 M252Y 和 M428L (YL) T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKS LSLSPGK
83	Fc 区 M252Y, M428L, H435R (YLR) T366S, L368A, Y407V 白状结构	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNRYTQKS LSLSPGK
84	截短的野生型人 IL-2	QLQLEHLLLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F C Q S I I
86	xELL-杵状 Fc-IL2-T3A, C125S	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP[C] RDELTKNQVSL[W]CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS L SLSPGGSGGSAP[A]SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F [S] Q S I I S T L T
87	xELL-杵状 Fc-IL2-RAS-T3A, C125S	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP[C] RDELTKNQVSL[W]CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS L SLSPGGSGGSAP[A]SSSTKKTQLQLE[A]LLLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K [R] L E E V L N L A Q S K

		NFHLRPR[<u>S</u>]LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITF[<u>S</u>]QSIISTLT
88	派姆单抗类似物 杆状 Fc-IL2-RAS-T3A, C125S	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQG LEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQF DDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL P[<u>C</u>]RDELTKNQVSL[<u>W</u>]CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY[<u>D</u>]TTP PVLDSGGSFFLYS[<u>D</u>]LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN[<u>R</u>]YTQ KSLSLSP[<u>GGSGGS</u>]AP[<u>A</u>]SSSTKKTQLQLE[<u>A</u>]LLLDLQMI LNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[<u>R</u>]LEEVLNLA QSKNFHLRPR[<u>S</u>]LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITF[<u>S</u>]QSIISTLT
89	派姆单抗类似物 白状 Fc	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQG LEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQF DDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV[<u>C</u>]TL PPSRD[<u>K</u>]LTKNQVSL[<u>S</u>]CAVKGFPYPSDIAVEW[<u>K</u>]SNGQ PENNYKTT PPVLD[<u>S</u>]KGSFFL[<u>V</u>]SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYT QKSLSLSPGK
90	派姆单抗轻链类似物	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKP GQAPRLLIYLAstyleSGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFA VYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS T YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
91	派姆单抗类似物 IL2-RAS-T3G, C125S	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQG LEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQF DDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL P[<u>PSQ</u>]EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSL[<u>GGSGGS</u>]AP[<u>G</u>]SSSTKKTQLQLE[<u>A</u>]LLLDLQMI LNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[<u>R</u>]LEEVLNLAQS KNFHLRPR[<u>S</u>]LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITF[<u>S</u>]QSIISTLT
92	NKp46-scFv xELL-杆状 Fc-IL2-RAS-T3A, C125S	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVINWGKQRSGQG LEWIGEIYPGSGTNYYNEKFKAKATLTADKSSNIAYMQLSSLTS EDSAVYFCARRGRYGLYAMDYWGQTSVTVSS[<u>VEGGSGSGSGS</u>] [<u>GGSGGVD</u>]DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWY QQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTINNLEQ EDIATYFCQQGNTRPWTFGGGTKLEIKP[<u>GGGG</u>]DKHTHTCPPCPA

		PGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP[C]RDELTKNQVSL [W]CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY[D]TTPPVLDSDGSFFLYS [D]LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN[R]YTQKSLSLSP[GGSGGS] AP[A]SSSTKKTQLQLE[A]LLLDLQMI LINGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLCLEELK[R]LEEVNLNLAQSKNFHLRPR[S]LI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF[S]QSI I STLT
93	NKp46-scFv xELL-白状 Fc	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVINWGKQRSGQG LEWIGEIYPGSGTNYYNEKFKAKATLTADKSSNIAYMQLSSLTS EDSAVYFCARRGRYGLYAMDYWGQGTSTVTVSS[VEGGSGGSGGS] [GGSGGVDD]DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWY QQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTINNLEQ EDIATYFCQQGNTRPWTFGGGTKLEIKP[GGGG]DKHTCPCPA PGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV[C]TLPPSRD[K]LTKNQVSL [S][CA]VKGFYPSDIAVEW[K]SNGQPENNYKTTTPPVLDSD[K]GSFFLY[S] KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
94	NKp46-scFv xELL-Fc	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVINWGKQRSGQG LEWIGEIYPGSGTNYYNEKFKAKATLTADKSSNIAYMQLSSLTS EDSAVYFCARRGRYGLYAMDYWGQGTSTVTVSSVEGGSGGSGGSG GSGGVDDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQ KPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTINNLEQED IATYFCQQGNTRPWTFGGGTKLEIKPGGGGDKHTCPCPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
95	LAG3-MAb xELL-杵状 Fc-IL2-RAS-T GCS	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPGQG LEWMGWINANSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLRS DDTAVYYCARDIYDSSDQLNVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPP[C]RDELTKNQVSL[W]CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSP[GGSGGS]AP[G]SSSTKKTQLQLE[A]LLLDLQMI LINGI NNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[R]LEEVNLN LAQSKNFHLRPR[S]LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITF[S]QSIISTLT
96	LAG3-MAb xELL-白状 Fc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPGQG LEWMGWINANSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLRS DDTAVYYCARDIYDSSDQLNVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMI[R]SRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

		VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCT LPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
97	LAG3-MAb 轻 链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYC QQASIWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
98	LAG3-MAb IgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTGYYMHWRQAPGQG LEWMGWINANSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR DDTAVYYCARDIYDSSDQLNVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
99	LAG3-VHH xELL-杵状 Fc-IL2-RAS-T GCS	EVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKER EFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPE DTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDWGQGT LVTVKP[GGG] DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPC RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSP[GGSGG]AP[GSSTKKTQLQLEA]LLLDLQMI LNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[RL]EEVLNLAQSK NFHLRPR[SL]ISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITF[SQSIISTLT
100	LAG3-VHH xELL-白状 _H435 R Fc	EVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKER EFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPE DTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDWGQGT LVTVKP[GGG] DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPS RDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKS LSLSPGK
101	LAG3-VHH xELL-杵状 Fc	EVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKER EFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPE DTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDWGQGT LVTVKP[GGG] DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPC RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
102	xELL-杵状 Fc-IL2-RAS-M	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ

	23A-T3A, C125S	DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVVHEALHNHYTQKSLSL SPGGSGGSAPASSSTKKTQLQLEALLLDLQAILNGINNYKNPK LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKRLLEEVLNLAQSKNF HLRPRSLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT
103	xELL-杵状 Fc-IL2-RAS-E9 5Q-T3A, C125S	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVVHEALHNHYTQKSLSL SPGGSGGSAPASSSTKKTQLQLEALLLDLQAILNGINNYKNPK LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKRLLEEVLNLAQSKNF HLRPRSLISNINVIVLQILKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT
104	xELL-杵状 Fc-IL2-RAS-M 23A-E95Q-T3 A, C125S	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVVHEALHNHYTQKSLSL SPGGSGGSAPASSSTKKTQLQLEALLLDLQAILNGINNYKNPK LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKRLLEEVLNLAQSKNF HLRPRSLISNINVIVLQILKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT

[0206] 在包含框或下划线的序列中,单独字母周围的框表示相对于相应野生型或亲本序列的氨基酸取代;字母组周围的框表示接头序列。带下划线的字母是接头序列。

序列表

- <110> 印希比股份有限公司
<120> 包含修饰的IL-2多肽的多肽及其用途
<130> 01202-0011-00PCT
<150> US 62/789,075
<151> 2019-01-07
<160> 104
<170> PatentIn 3.5版
<210> 1
<211> 133
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 野生型人IL-2
<400> 1

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr
 130

- <210> 2
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2v

<400> 2

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 3

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R

<400> 3

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

	85		90		95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala					
	100		105		110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile					
	115		120		125
Ile Ser Thr Leu Thr					
130					
<210> 4					
<211> 133					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的: IL-2-H16A					
<400> 4					
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala					
1	5		10		15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys					
	20		25		30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys					
	35		40		45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys					
	50		55		60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu					
65	70		75		80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu					
	85		90		95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala					
	100		105		110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile					
	115		120		125
Ile Ser Thr Leu Thr					
130					
<210> 5					
<211> 133					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的: IL-2-D84S					
<400> 5					

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His
1				5					10					15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
			20					25					30		
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55					60				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70				75					80	
Arg	Pro	Arg	Ser	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
				85				90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
		130													

<210> 6

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-E15S

<400> 6

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His
1				5					10					15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
			20					25					30		
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55					60				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70				75					80	
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
				85				90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		

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

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 7

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-M23A

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 8

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-E95Q

<400> 8

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

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met	Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys	
35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His	Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys	
50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn	Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu	
65	70	75
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser	Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Gln Leu	
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe	Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala	
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn	Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile	
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 9		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: IL-2-P65E		
<400> 9		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr	Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His	
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met	Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys	
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met	Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys	
35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His	Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys	
50	55	60
Glu Leu Glu Glu Val Leu Asn	Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu	
65	70	75
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser	Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu	
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe	Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala	
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn	Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile	
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		

130
 <210> 10
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-2-F42K
 <400> 10
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Lys Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr

130
 <210> 11
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-2-H16A-F42K
 <400> 11
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Lys Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 12

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-D84S-F42K

<400> 12

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Lys Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 13

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-E15S-F42K

<400> 13

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His
1				5					10					15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
			20					25					30		
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Lys	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55				60					
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65				70				75						80	
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
			130												

<210> 14

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-M23A-F42K

<400> 14

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

65	70	75	80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu			
	85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
	100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile			
	115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr			
130			

<210> 15

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-E95Q-F42K

<400> 15

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys			
	20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Lys Lys Phe Tyr Met Pro Lys			
	35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys			
	50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu			
65	70	75	80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Gln Leu			
	85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
	100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile			
	115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr			
130			

<210> 16

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R-H16A

<400> 16

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	Ala
1				5					10					15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
			20					25					30		
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
		50				55					60				
Arg	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70				75						80
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
			130												

<210> 17

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R-D84S

<400> 17

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 18

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R-E15S

<400> 18

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Ser His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 19

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R-M23A

<400> 19

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

1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp	Leu Gln Ala Ile	Leu Asn Gly Ile	Asn Asn Tyr Lys
20	25	30	
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met	Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met	Pro Lys	
35	40	45	
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His	Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		
50	55	60	
Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu			
65	70	75	80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu			
85	90	95	
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
100	105	110	
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile			
115	120	125	
Ile Ser Thr Leu Thr			
130			
<210> 20			
<211> 133			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的: IL-2-P65R-E95Q			
<400> 20			
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp	Leu Gln Met Ile	Leu Asn Gly Ile	Asn Asn Tyr Lys
20	25	30	
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met	Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met	Pro Lys	
35	40	45	
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His	Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		
50	55	60	
Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu			
65	70	75	80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Gln Leu			
85	90	95	
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
100	105	110	
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile			

115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 21		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: IL-2-P65R-H16A-D84S (IL-2-RAS)		
<400> 21		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala		
1 5 10 15		
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20 25 30		
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		
35 40 45		
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		
50 55 60		
Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		
65 70 75 80		
Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		
85 90 95		
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100 105 110		
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile		
115 120 125		
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 22		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: IL-2-T3A-C125S		
<400> 22		
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1 5 10 15		
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20 25 30		

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 23

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-T3A-P65R-C125S

<400> 23

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 24

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-T3A-H16A-C125S

<400> 24

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 25

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-T3A-D84S-C125S

<400> 25

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val	Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu	
65	70	75
Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		80
	85	90
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		95
	100	105
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		110
	115	120
Ile Ser Thr Leu Thr		125

130

<210> 26

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-T3A-H16A-P65R-C125S

<400> 26

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		15
	20	25
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		30
	35	40
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		45
	50	55
Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		60
65	70	75
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		80
	85	90
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		95
	100	105
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		110
	115	120
Ile Ser Thr Leu Thr		125

130

<210> 27

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-T3A-P65R-D84S-C125S

<400> 27

Ala	Pro	Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His
1				5					10					15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
			20					25					30		
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35				40						45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55					60				
Arg	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70					75					80
Arg	Pro	Arg	Ser	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
				85					90					95	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120						125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
			130												

<210> 28

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-T3A-H16A-P65R-D84S-C125S

<400> 28

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

Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 29

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-no9-H16A-P65R-C125S

<400> 29

Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu
 1 5 10 15
 Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr
 20 25 30
 Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln
 35 40 45
 Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala
 50 55 60
 Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile
 65 70 75 80
 Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys
 85 90 95
 Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp
 100 105 110
 Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 115 120

<210> 30

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-no9-P65R-D84S-C125S

<400> 30

Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu

1	5	10	15
Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr			
20	25	30	
Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln			
35	40	45	
Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala			
50	55	60	
Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile			
65	70	75	80
Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys			
85	90	95	
Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp			
100	105	110	
Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr			
115	120		

<210> 31

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-no9-H16A-P65R-D84S-C125S

<400> 31

Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu			
1	5	10	15
Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr			
20	25	30	
Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln			
35	40	45	
Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala			
50	55	60	
Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile			
65	70	75	80
Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys			
85	90	95	
Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp			
100	105	110	
Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr			
115	120		

<210> 32

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的：野生型IL-2-xELL 杆状Fc

<400> 32

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

260	265	270
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser	Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr	
275	280	285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
305	310	315
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
325	330	335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
340	345	350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	
<210> 33		
<211> 362		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: IL-2-F42K-xELL 杵状Fc		
<400> 33		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Lys Lys Phe Tyr Met Pro Lys		
35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		
50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		
65	70	75
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Pro Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys		
130	135	140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		

145	150	155	160
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
	165	170	175
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
	180	185	190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
	195	200	205
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
	210	215	220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
225	230	235	240
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
	245	250	255
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu			
	260	265	270
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
	275	280	285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
	290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
305	310	315	320
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
	325	330	335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
	340	345	350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	355	360	

<210> 34

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65E-xELL 杵状Fc

<400> 34

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys			
	20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys			

35					40					45						
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	
50					55					60						
Glu	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	
65					70					75					80	
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	
85					90					95						
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	
100					105					110						
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	
115					120					125						
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	
130					135					140						
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	
145					150					155					160	
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	
165					170					175						
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
180					185					190						
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
195					200					205						
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
210					215					220						
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
225					230					235					240	
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
245					250					255						
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	
260					265					270						
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
275					280					285						
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
290					295					300						
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
305					310					315					320	
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
325					330					335						
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	
340					345					350						

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 35

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R-xELL 杵状Fc

<400> 35

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 245 250 255
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu
 260 265 270
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 275 280 285
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 290 295 300
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 305 310 315 320
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 325 330 335
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 340 345 350
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360
 <210> 36
 <211> 362
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-2-F42K-D84S-xELL 杵状Fc
 <400> 36
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Lys Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Pro Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys			
130	135	140	
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
145	150	155	160
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
	165	170	175
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
	180	185	190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
	195	200	205
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
	210	215	220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
225	230	235	240
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
	245	250	255
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu			
	260	265	270
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
	275	280	285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
	290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
305	310	315	320
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
	325	330	335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
	340	345	350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	355	360	

<210> 37
 <211> 362
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: IL-2-F42K-E95Q-xELL 杆状Fc
 <400> 37

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

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

	325		330		335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr					
	340		345		350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	355		360		
<210> 38					
<211> 362					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的: IL-2-F42K-M23A-xELL 杆状Fc					
<400> 38					
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His					
1	5		10		15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Ala Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys					
	20		25		30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Lys Lys Phe Tyr Met Pro Lys					
	35		40		45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys					
	50		55		60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu					
65	70		75		80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu					
	85		90		95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala					
	100		105		110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile					
	115		120		125
Ile Ser Thr Leu Thr Pro Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys					
	130		135		140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro					
145	150		155		160
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys					
	165		170		175
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp					
	180		185		190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu					
	195		200		205
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu					

210	215	220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
225	230	235
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		240
	245	250
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu		255
	260	265
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		270
	275	280
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		285
290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
305	310	315
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		320
	325	330
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		335
	340	345
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		350
355	360	

<210> 39

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-H16A-F42K- xELL 杵状Fc

<400> 39

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

100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Pro Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys		
130	135	140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
145	150	155
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
165	170	175
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
180	185	190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
195	200	205
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
210	215	220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
225	230	235
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
245	250	255
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu		
260	265	270
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
275	280	285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
305	310	315
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
325	330	335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
340	345	350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	

<210> 40

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-H16A-xELL 杵状Fc

<400> 40

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

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 305 310 315 320
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 325 330 335
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 340 345 350
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360

<210> 41

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R-H16A-xELL 杵状Fc

<400> 41

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Pro Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys
 130 135 140
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 145 150 155 160
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 165 170 175
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 180 185 190

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 195 200 205
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 210 215 220
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 225 230 235 240
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 245 250 255
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu
 260 265 270
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 275 280 285
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 290 295 300
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 305 310 315 320
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 325 330 335
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 340 345 350
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360

<210> 42

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-P65R-D84S-xELL 杵状Fc

<400> 42

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

Arg	Pro	Arg	Ser	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	
				85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	
				100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	
				115					120					125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	
				130					135					140		
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	
				145					150					155		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	
				165					170					175		
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
				180					185					190		
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
				195					200					205		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
				210					215					220		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
				225					230					235		
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
				245					250					255		
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	
				260					265					270		
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
				275					280					285		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
				290					295					300		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
				305					310					315		
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
				325					330					335		
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	
				340					345					350		
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
				355					360							

<210> 43

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-RAS-xELL 杆状Fc

<400> 43

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

275	280	285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
305	310	315
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
325	330	335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
340	345	350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	
<210> 44		
<211> 230		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的：接头-EVN xELL 白状Fc		
<400> 44		
Lys Pro Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro		
1	5	10
Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
20	25	30
Thr Leu Met Arg Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
35	40	45
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
50	55	60
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
65	70	75
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
85	90	95
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
100	105	110
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
115	120	125
Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn		
130	135	140
Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
145	150	155
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		

				165					170					175		
Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	
			180					185					190			
Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	
		195					200					205				
Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	
	210					215					220					
Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys											
225					230											
<210>	45															
<211>	361															
<212>	PRT															
<213>	人工序列															
<220>																
<223>	合成的: xELL 杵状Fc-IL-2-T3G-C125S															
<400>	45															
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Ser	
1				5					10					15		
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
			20					25					30			
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
			35					40					45			
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
	50					55					60					
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
65					70					75					80	
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
				85					90					95		
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
			100						105					110		
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
			115						120				125			
Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	
							135				140					
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
145					150					155					160	
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
				165						170				175		
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	

180	185	190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
195	200	205
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly		
210	215	220
Ser Gly Gly Ser Ala Pro Gly Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu		
225	230	235
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile		
245	250	255
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe		
260	265	270
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
275	280	285
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
290	295	300
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile		
305	310	315
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala		
325	330	335
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe		
340	345	350
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		
355	360	

<210> 46

<211> 361

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: xELL 杵状Fc-IL-2-RAS-T3G-C125S

<400> 46

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

65	70	75	80
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
	85	90	95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	100	105	110
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	115	120	125
Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys			
	130	135	140
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
145	150	155	160
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
	165	170	175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
	180	185	190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
	195	200	205
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly			
	210	215	220
Ser Gly Gly Ser Ala Pro Gly Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu			
225	230	235	240
Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile			
	245	250	255
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe			
	260	265	270
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu			
	275	280	285
Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys			
	290	295	300
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile			
305	310	315	320
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala			
	325	330	335
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe			
	340	345	350
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr			
	355	360	

<210> 47

<211> 227

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> Fc区 1 (人野生型IgG1)

<400> 47

```

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

```

225

<210> 48

<211> 224

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> Fc区 2 (人IgG1 xELL "杵状结构")

<400> 48

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

<210> 49

<211> 224

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> Fc区 3 (人IgG1 EVN xELL “臼状” I253R)

<400> 49

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

<210> 50

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区

<400> 50

Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
1				5					10					15	

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 51
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 xELL
 <400> 51
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 50 55 60
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 65 70 75 80
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 115 120 125
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220

<210> 52

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL H435R

<400> 52

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

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
65	70	75	80
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
	85	90	95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	100	105	110
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	115	120	125
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
	130	135	140
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
145	150	155	160
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
	165	170	175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
	180	185	190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
	195	200	205
Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	210	215	220

<210> 53

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y和M428V (YV)

<400> 53

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 115 120 125
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220
 <210> 54
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 xELL M252Y和M428L (YL)
 <400> 54
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
 20 25 30
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 50 55 60
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 65 70 75 80
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 115 120 125

Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
130						135					140				
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
145						150				155					160
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
				165					170					175	
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
			180						185				190		
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala
		195						200				205			
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
210						215					220				

<210> 55
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 xELL M252Y, M428L, H435R (YLR)
 <400> 55

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

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
165	170	175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
180	185	190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala		
195	200	205
Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
210	215	220
<210> 56		
<211> 224		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y, M428V, H435R (YVR)		
<400> 56		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser		
1	5	10
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg		
20	25	30
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
35	40	45
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
50	55	60
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
65	70	75
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
85	90	95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
100	105	110
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
115	120	125
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
130	135	140
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
145	150	155
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
165	170	175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
180	185	190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220
 <210> 57
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 xELL S354C T366W杆状结构
 <400> 57
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 20 25 30
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 50 55 60
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 65 70 75 80
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 115 120 125
 Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220

<210> 58

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL H435R S354C T366W杵状结构

<400> 58

```

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

```

<210> 59

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y和M428V (YV) S354C T366W杵状结构

<400> 59

```

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

```

<210> 60

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y和M428L (YL) S354C T366W杵状结构

<400> 60

```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser

```

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

<210> 61

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y, M428L, H435R (YLR) S354C T366W

杆状结构

<400> 61

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser			
1	5	10	15
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg			
20	25	30	

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 50 55 60
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 65 70 75 80
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 115 120 125
 Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220

<210> 62

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y, M428V, H435R (YVR) S354C T366W

杵状结构

<400> 62

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
 20 25 30
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

50					55					60					
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
65					70					75					80
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
85					90					95					
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
100					105					110					
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
115					120					125					
Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys
130					135					140					
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
145					150					155					160
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
165					170					175					
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
180					185					190					
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Val	His	Glu	Ala
195					200					205					
Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
210					215					220					

$\langle 210 \rangle$ 63

<211> 224

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的: Fc区 xELL T366S, L368A, Y407V白状结构

<400> 63

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

	85		90		95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr					
100		105		110	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu					
115		120		125	
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys					
130		135		140	
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser					
145		150		155	160
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp					
165		170		175	
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser					
180		185		190	
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala					
195		200		205	
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
210		215		220	
<210> 64					
<211> 224					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的: Fc区 xELL H435R, T366S, L368A, Y407V臼状结构					
<400> 64					
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser					
1	5	10		15	
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg					
20		25		30	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro					
35		40		45	
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala					
50		55		60	
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val					
65	70		75		80
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr					
85		90		95	
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr					
100		105		110	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu					

115	120	125
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys		
130	135	140
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
145	150	155
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
165	170	175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
180	185	190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
195	200	205
Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
210	215	220
<210> 65		
<211> 224		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y和M428V (YV) T366S, L368A, Y407V白状结构		
<400> 65		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser		
1	5	10
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg		
20	25	30
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
35	40	45
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
50	55	60
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
65	70	75
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
85	90	95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
100	105	110
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu		
115	120	125
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys		
130	135	140

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220

<210> 66

<211> 224

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y和M428L (YL) T366S, L368A,
 Y407V白状结构

<400> 66

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

	165		170		175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser					
	180		185		190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala					
	195		200		205
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	210		215		220
<210> 67					
<211> 224					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的: Fc区 xELL M252Y, M428L, H435R (YLR) T366S, L368A, Y407V白状结构					
<400> 67					
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser					
1	5		10		15
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg					
	20		25		30
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro					
	35		40		45
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala					
	50		55		60
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val					
65	70		75		80
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr					
	85		90		95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr					
	100		105		110
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu					
	115		120		125
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys					
	130		135		140
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser					
145	150		155		160
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp					
	165		170		175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser					
	180		185		190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220
 <210> 68
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 xELL M252Y, M428V, H435R (YVR) T366S, L368A,
 Y407V白状结构
 <400> 68
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
 20 25 30
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 50 55 60
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 65 70 75 80
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
 115 120 125
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
 130 135 140
 Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

210	215	220
<210> 69		
<211> 227		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: Fc区 H435R		
<400> 69		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
1 5 10 15		
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
20 25 30		
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
35 40 45		
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
50 55 60		
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
65 70 75 80		
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85 90 95		
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
100 105 110		
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115 120 125		
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130 135 140		
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145 150 155 160		
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165 170 175		
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180 185 190		
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
195 200 205		
His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210 215 220		
Pro Gly Lys		
225		
<210> 70		

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 M252Y和M428V (YV)

<400> 70

```

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

```

225

<210> 71

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 M252Y和M428L (YL)

<400> 71

```

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

```

<210> 72

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 M252Y, M428L, H435R (YLR)

<400> 72

```

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

```

225

<210> 73

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 M252Y, M428V, H435R (YVR)

<400> 73

Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
1				5					10					15	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr
			20					25					30		
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
			35					40					45		
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			50				55					60			
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
65						70				75					80
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
				85					90					95	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			100					105					110		
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
			115					120					125		
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			130				135					140			
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
145						150				155					160
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
				165					170					175	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
			180					185					190		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Val
			195				200					205			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
			210			215					220				
Pro	Gly	Lys													
225															
<210>	74														
<211>	227														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成的: Fc区 S354C T366W杆状结构														
<400>	74														
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
1				5					10					15	

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 75
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 H435R S354C T366W杆状结构
 <400> 75
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
35	40	45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
50	55	60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
65	70	75
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85	90	95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Gly Lys		
225		
<210> 76		
<211> 227		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: Fc区 M252Y和M428L (YL) S354C T366W杵状结构		
<400> 76		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
1	5	10
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr		
20	25	30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
35	40	45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220

Pro Gly Lys

225

<210> 77

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: Fc区 M252Y, M428L, H435R (YLR) S354C T366W杵状结构

<400> 77

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
65					70					75					80
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
			85							90					95
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			100							105					110
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
			115							120					125
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			130							135					140
Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
145						150					155				160
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
					165						170				175
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
					180						185				190
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu
					195					200					205
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
					210					215					220
Pro	Gly	Lys													
225															
<210>	78														
<211>	227														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成的: Fc区 M252Y, M428V, H435R (YVR) S354C T366W杵状结构														
<400>	78														
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
1				5					10					15	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr
			20						25				30		
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
			35					40					45		
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			50				55					60			
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
65					70					75					80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85	90	95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Gly Lys		
225		
<210> 79		
<211> 227		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: Fc区 T366S, L368A, Y407V白状结构		
<400> 79		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
1	5	10
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
20	25	30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
35	40	45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
50	55	60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
65	70	75
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85	90	95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 80
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 H435R, T366S, L368A, Y407V白状结构
 <400> 80
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 81
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 M252Y和M428V (YV) T366S, L368A, Y407V
 臼状结构
 <400> 81
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115	120	125
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Gly Lys		
225		
<210> 82		
<211> 227		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: Fc区 M252Y和M428L (YL) T366S, L368A, Y407V		
臼状结构		
<400> 82		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
1	5	10
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr		
20	25	30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
35	40	45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
50	55	60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
65	70	75
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85	90	95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 83
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: Fc区 M252Y, M428L, H435R (YLR) T366S, L368A,
 Y407V白状结构
 <400> 83
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130	135	140
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Gly Lys		
225		
<210> 84		
<211> 119		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<220>		
<221> 尚未归类的特征		
<223> 截短野生型人IL-2		
<400> 84		
Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn		
1	5	10
Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe		
20	25	30
Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys		
35	40	45
Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln		
50	55	60
Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn		
65	70	75
Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu		
85	90	95
Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile		
100	105	110
Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile		
115		
<210> 85		
<211> 362		

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2-F42K-E15S-xELL 杵状Fc

<400> 85

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

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 275 280 285
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 290 295 300
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 305 310 315 320
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 325 330 335
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 340 345 350
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360

<210> 86

<211> 361

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: xELL-杆状Fc-IL2-T3A, C125S

<400> 86

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

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
	165	170 175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
	180	185 190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
	195	200 205
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly		
	210	215 220
Ser Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu		
225	230	235 240
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile		
	245	250 255
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe		
	260	265 270
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
	275	280 285
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
	290	295 300
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile		
305	310	315 320
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala		
	325	330 335
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe		
	340	345 350
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		
	355	360

<210> 87

<211> 361

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: xELL-杵状Fc-IL2-RAS-T3A, C125S

<400> 87

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser		
1	5	10 15
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
	20	25 30
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
	35	40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
50	55	60
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
65	70	75 80
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
85	90	95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
100	105	110
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
115	120	125
Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys		
130	135	140
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
145	150	155 160
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
165	170	175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
180	185	190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
195	200	205
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly		
210	215	220
Ser Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu		
225	230	235 240
Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile		
245	250	255
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe		
260	265	270
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
275	280	285
Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
290	295	300
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile		
305	310	315 320
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala		
325	330	335
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe		
340	345	350
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		

355 360

<210> 88

<211> 584

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的：派姆单抗类似物杆状Fc-IL2-RAS-T3A, C125S

<400> 88

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

				245				250				255			
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
				260				265				270			
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
				275				280				285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
				290				295				300			
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305				310				315				320			
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325				330				335			
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340				345				350			
Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu
				355				360				365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
				370				375				380			
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Asp	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385				390				395				400			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asp	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
				405				410				415			
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420				425				430			
His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Ser
				435				440				445			
Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln
				450				455				460			
Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn
465				470				475				480			
Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr
				485				490				495			
Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu
				500				505				510			
Glu	Leu	Lys	Arg	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn
				515				520				525			
Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Ser	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val
				530				535				540			
Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp
545				550				555				560			

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser
 565 570 575
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580
 <210> 89
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的：派姆单抗类似物臼状Fc
 <400> 89
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
	245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
	260	265	270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
	275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
	290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
	305	310	315
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
	325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro			
	340	345	350
Pro Ser Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala			
	355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Lys Ser Asn			
	370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
	385	390	395
Lys Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
	405	410	415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
	420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	435	440	445

<210> 90

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的：派姆单抗轻链类似物

<400> 90

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser			
	20	25	30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
 85 90 95
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 91

<211> 584

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的：派姆单抗类似物IL2-RAS-T3G, C125S

<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys	Asn	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser	Thr	Thr	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Lys	Ser	Leu	Gln	Phe	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90						95
Ala	Arg	Arg	Asp	Tyr	Arg	Phe	Asp	Met	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
				100				105						110	
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
				115				120						125	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala
				130				135						140	
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
				165					170						175
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
				180				185						190	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys
				195				200						205	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro
				210				215						220	
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
225					230					235					240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
				245					250						255
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
				260				265						270	
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
				275				280						285	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
				290				295						300	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325					330						335
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340				345						350	
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
				355				360						365	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn

370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		400
405	410	415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Gly Ser		
435	440	445
Gly Gly Ser Ala Pro Gly Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln		
450	455	460
Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn		
465	470	475
Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr		
485	490	495
Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu		
500	505	510
Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn		
515	520	525
Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val		
530	535	540
Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp		
545	550	555
Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser		
565	570	575
Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		
580		
<210> 92		
<211> 611		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: NKp46-scFv xELL-杵状Fc-IL2-RAS-T3A, C125S		
<400> 92		
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
20	25	30
Val Ile Asn Trp Gly Lys Gln Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		

35	40	45
Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Thr Asn Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe		
50	55	60
Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Ile Ala Tyr		
65	70	75
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys		
85	90	95
Ala Arg Arg Gly Arg Tyr Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser		
115	120	125
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Met Thr Gln		
130	135	140
Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser		
145	150	155
Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln		
165	170	175
Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu		
180	185	190
His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp		
195	200	205
Tyr Ser Leu Thr Ile Asn Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr		
210	215	220
Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Arg Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr		
225	230	235
Lys Leu Glu Ile Lys Pro Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys		
245	250	255
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
260	265	270
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
275	280	285
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
290	295	300
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
305	310	315
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
325	330	335
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
340	345	350

Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
355							360					365			
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu
370						375						380			
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
385					390					395					400
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				405					410					415	
Asn	Tyr	Asp	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
			420					425					430		
Leu	Tyr	Ser	Asp	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
			435				440					445			
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr
450						455					460				
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro
465					470					475					480
Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu
				485				490					495		
Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro
			500					505					510		
Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala
			515				520					525			
Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Arg	Leu
530						535						540			
Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro
545					550					555					560
Arg	Ser	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly
				565				570					575		
Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile
			580					585					590		
Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser
			595				600						605		
Thr	Leu	Thr													
610															
<210>	93														
<211>	474														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															

<223> 合成的: NKp46-scFv xELL-臼状Fc

<400> 93

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

290	295	300
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
305	310	315
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		320
	325	330
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		335
	340	345
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		350
	355	360
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Lys		365
	370	380
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr		
385	390	395
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Lys Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		400
	405	410
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Lys Gly Ser Phe Phe		415
	420	425
Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		430
	435	440
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		445
	450	460
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
465	470	
<210> 94		
<211> 477		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: NKp46-scFv xELL-Fc		
<400> 94		
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		15
	20	25
Val Ile Asn Trp Gly Lys Gln Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		30
	35	40
Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Thr Asn Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe		45
	50	60
Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Ile Ala Tyr		

65					70					75					80
Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
					85					90					95
Ala	Arg	Arg	Gly	Arg	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
					100					105					110
Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Val	Glu	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser
					115					120					125
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Val	Asp	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln
					130					135					140
Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Ser
145										155					160
Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln
					165					170					175
Lys	Pro	Asp	Gly	Thr	Val	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Arg	Leu
					180					185					190
His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp
					195					200					205
Tyr	Ser	Leu	Thr	Ile	Asn	Asn	Leu	Glu	Gln	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr
					210					215					220
Phe	Cys	Gln	Gln	Gly	Asn	Thr	Arg	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr
225										235					240
Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
					245					250					255
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
					260					265					270
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
					275					280					285
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
					290					295					300
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
305										315					320
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
					325					330					335
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
					340					345					350
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
					355					360					365
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
					370					375					380

Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
385						390				395					400
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
						405				410					415
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
						420				425					430
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
						435									445
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
						450									460
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
465						470									475

<210> 95

<211> 587

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: LAG3-MAb xELL-杵状Fc-IL2-RAS-TGCS

<400> 95

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
240		
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
320		
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
400		
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Pro Gly Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr		
450	455	460
Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn		

465	470	475	480
Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe			
	485	490	495
Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys			
	500	505	510
Leu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln			
	515	520	525
Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn			
	530	535	540
Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu			
545	550	555	560
Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile			
	565	570	575
Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr			
	580	585	
<210> 96			
<211> 447			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的: LAG3-MAb xELL-白状Fc			
<400> 96			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr			
	20	25	30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Trp Ile Asn Ala Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe			
	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Ile Tyr Asp Ser Ser Asp Gln Leu Asn Val Trp Gly Gln			
	100	105	110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
	115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			

130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Arg Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro		
340	345	350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala		
355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
405	410	415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445

<210> 97

214

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的: LAG3-MAb轻链

〈400〉 97

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ser Ile Trp Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

98

$\langle 211 \rangle$ 450

<212> PRT

〈213〉 人工序列

<220>

<223> 合成的: LAG3-MAb IgG1

<400> 98

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
	325	330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
	340	345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
	355	360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
	370	375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
	405	410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
	420	425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
	435	440 445
Gly Lys		
450		
<210> 99		
<211> 492		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的: LAG3-VHH xELL-杵状Fc-IL2-RAS-TGCS		
<400> 99		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Trp Gln Pro Gly Gly Ser		
1	5	10 15
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val		
	20	25 30
Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala		
	35	40 45
Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
	50	55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
65	70	75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala		
85	90	95
Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn		
100	105	110
Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Lys Pro Gly		
115	120	125
Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly		
130	135	140
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
145	150	155
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
165	170	175
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
180	185	190
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
195	200	205
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
210	215	220
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
225	230	235
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
245	250	255
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
260	265	270
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
275	280	285
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
290	295	300
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
305	310	315
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
325	330	335
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
340	345	350
Pro Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Pro Gly Ser Ser Ser Thr Lys Lys		
355	360	365
Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu		
370	375	380
Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr		

385	390	395	400
Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln			
	405	410	415
Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala			
	420	425	430
Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile			
	435	440	445
Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys			
	450	455	460
Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp			
465	470	475	480
Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr			
	485	490	
<210> 100			
<211> 355			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的: LAG3-VHH xELL-臼状_H435 R Fc			
<400> 100			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Trp Gln Pro Gly Gly Ser			
1	5	10	15
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val			
	20	25	30
Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala			
	35	40	45
Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
	50	55	60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu			
65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala			
	85	90	95
Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn			
	100	105	110
Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Lys Pro Gly			
	115	120	125
Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly			
	130	135	140
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			

145	150	155	160
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
	165	170	175
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
	180	185	190
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
	195	200	205
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
	210	215	220
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
225	230	235	240
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
	245	250	255
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser			
	260	265	270
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
	275	280	285
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro			
	290	295	300
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val			
305	310	315	320
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
	325	330	335
His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
	340	345	350
Pro Gly Lys			
	355		
<210> 101			
<211> 355			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的: LAG3-VHH xELL-杵状Fc			
<400> 101			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Trp Gln Pro Gly Gly Ser			
1	5	10	15
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val			
	20	25	30
Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala			

35	40	45
Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr	Ala Asp Ser Val Lys	
50	55	60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys	Asn Thr Leu Tyr Leu	
65	70	75
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala	Leu Tyr Tyr Cys Ala	
85	90	95
Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala	Pro Ile Lys Ala Asn	
100	105	110
Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val	Thr Val Lys Pro Gly	
115	120	125
Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro	Cys Pro Ala Pro Gly	
130	135	140
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro	Lys Asp Thr Leu Met	
145	150	155
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val	Val Asp Val Ser His	
165	170	175
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val	Asp Gly Val Glu Val	
180	185	190
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln	Tyr Asn Ser Thr Tyr	
195	200	205
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln	Asp Trp Leu Asn Gly	
210	215	220
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala	Leu Pro Ala Pro Ile	
225	230	235
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro	Arg Glu Pro Gln Val	
245	250	255
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr	Lys Asn Gln Val Ser	
260	265	270
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser	Asp Ile Ala Val Glu	
275	280	285
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr	Lys Thr Thr Pro Pro	
290	295	300
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr	Ser Lys Leu Thr Val	
305	310	315
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe	Ser Cys Ser Val Met	
325	330	335
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys	Ser Leu Ser Leu Ser	
340	345	350

Pro Gly Lys

355

<210> 102

<211> 361

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: xELL-杵状Fc-IL2-RAS-M23A-T3A, C125S

<400> 102

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser

1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg

20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

115 120 125

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys

130 135 140

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala

195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly

210 215 220

Ser Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

225 230 235 240

Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Ala Ile Leu Asn Gly Ile
 245 250 255
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 260 265 270
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 275 280 285
 Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 290 295 300
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 305 310 315 320
 Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 325 330 335
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 340 345 350
 Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 355 360

<210> 103

<211> 361

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: xELL-杵状Fc-IL2-RAS-E95Q-T3A, C125S

<400> 103

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
 20 25 30
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 50 55 60
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 65 70 75 80
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 115 120 125

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
 210 215 220
 Ser Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 225 230 235 240
 Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 245 250 255
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 260 265 270
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 275 280 285
 Glu Glu Leu Lys Arg Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 290 295 300
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Ser Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 305 310 315 320
 Val Leu Gln Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 325 330 335
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 340 345 350
 Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 355 360
 <210> 104
 <211> 361
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的: xELL-杵状Fc-IL2-RAS-M23A-E95Q-T3A, C125S
 <400> 104
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
 1 5 10 15

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

325	330	335
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe		
340	345	350
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		
355	360	

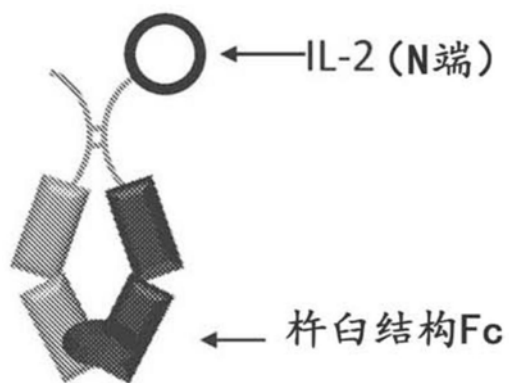


FIG. 1A

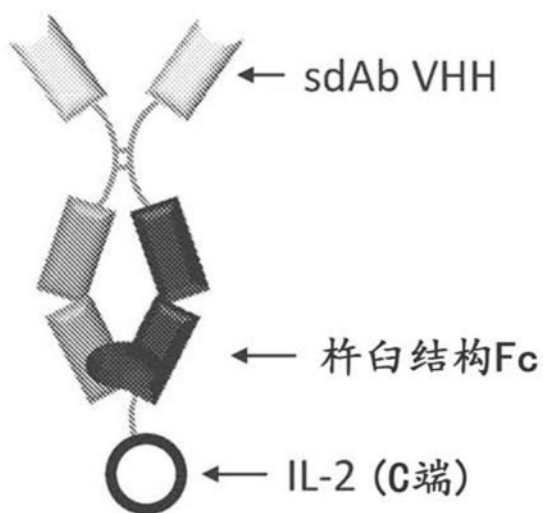


FIG. 1B



FIG. 1C



FIG. 1D

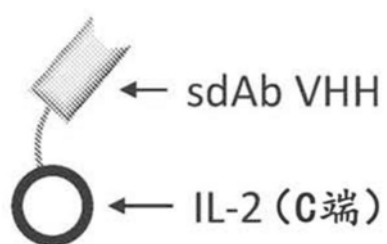


FIG. 1E

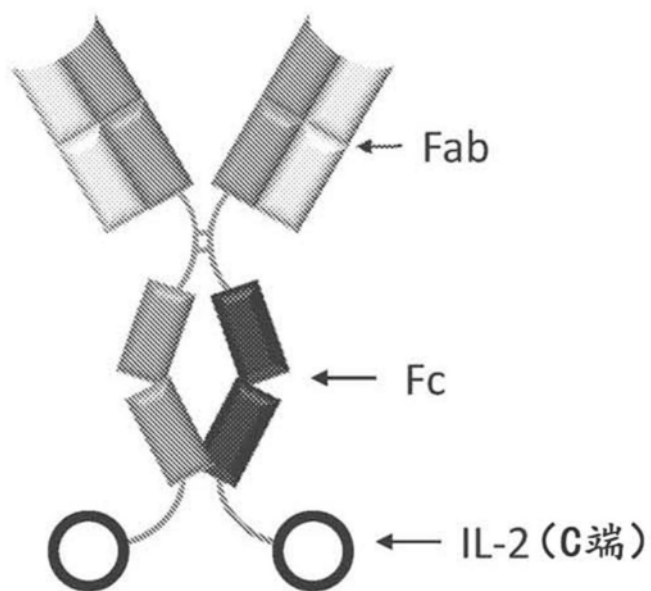


FIG. 1F

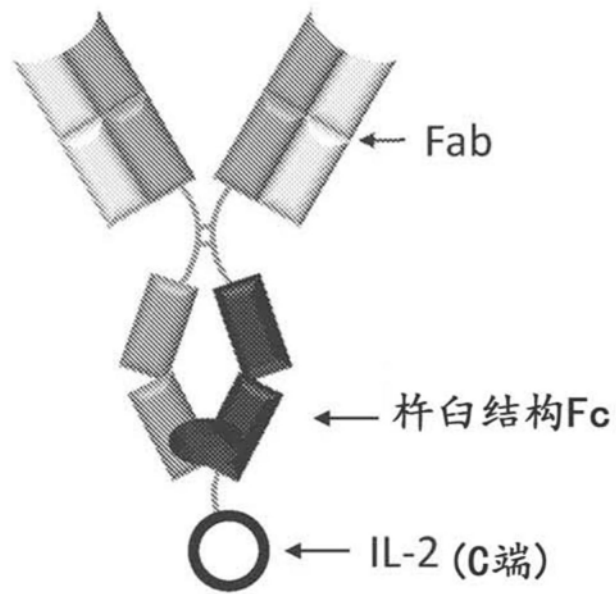


FIG. 1G

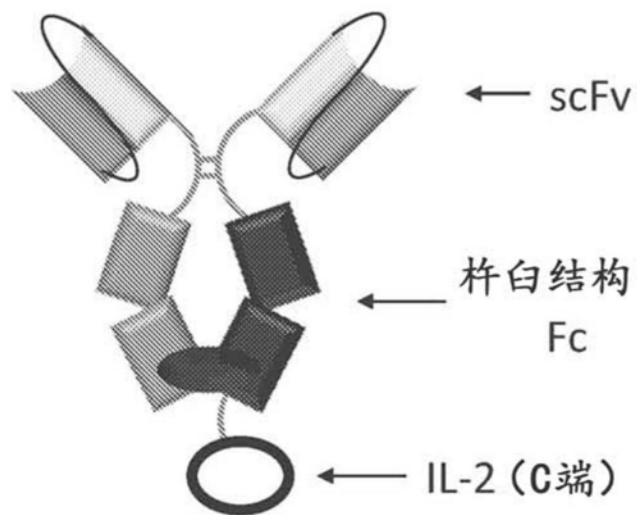


FIG. 1H

与CD25、CD122、CD132的结合

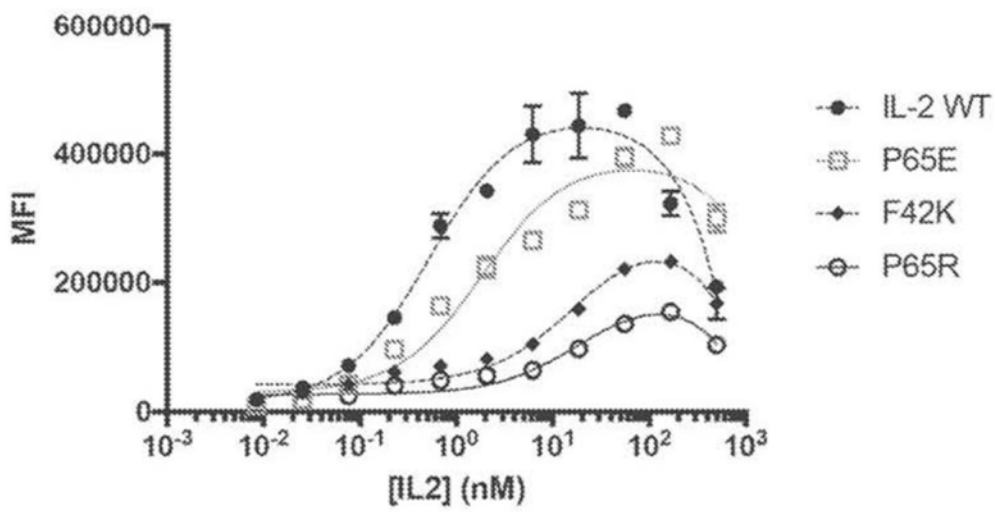


FIG.2A

IL2-F42K 结合

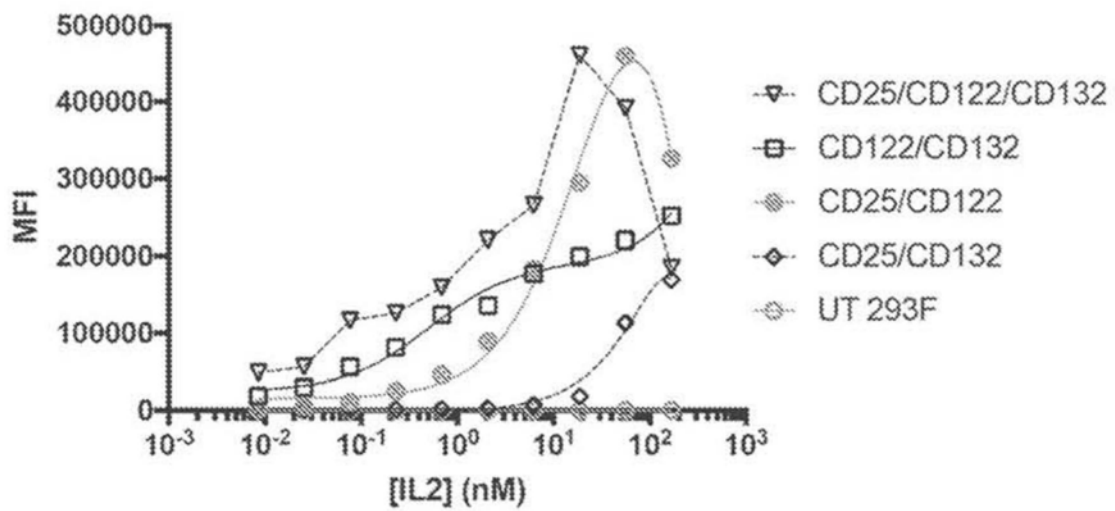


FIG.2B

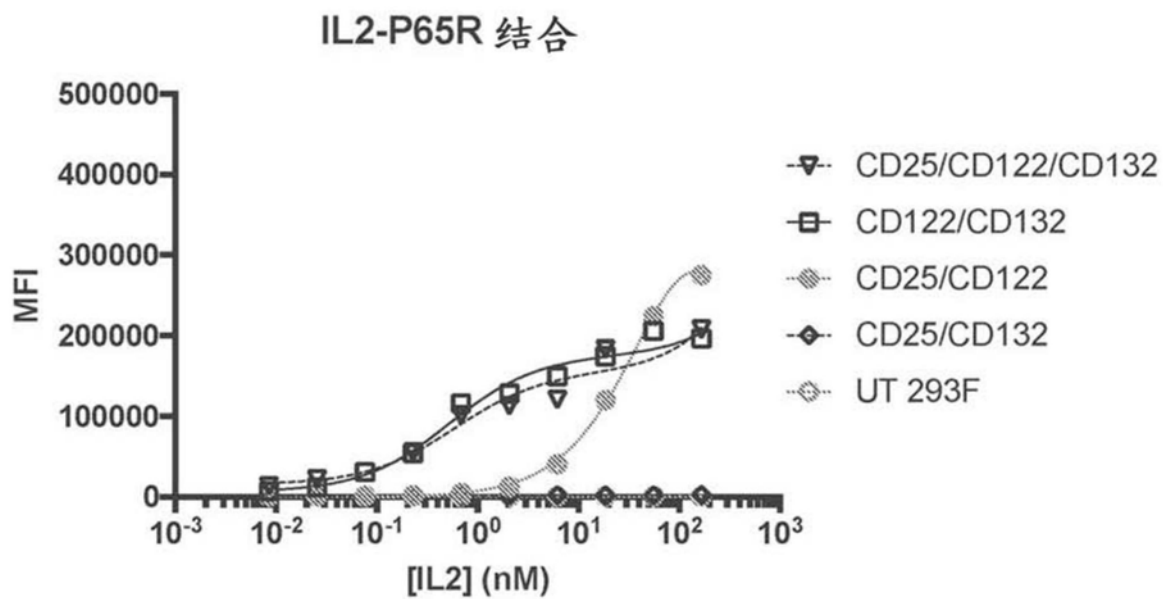


FIG.2C

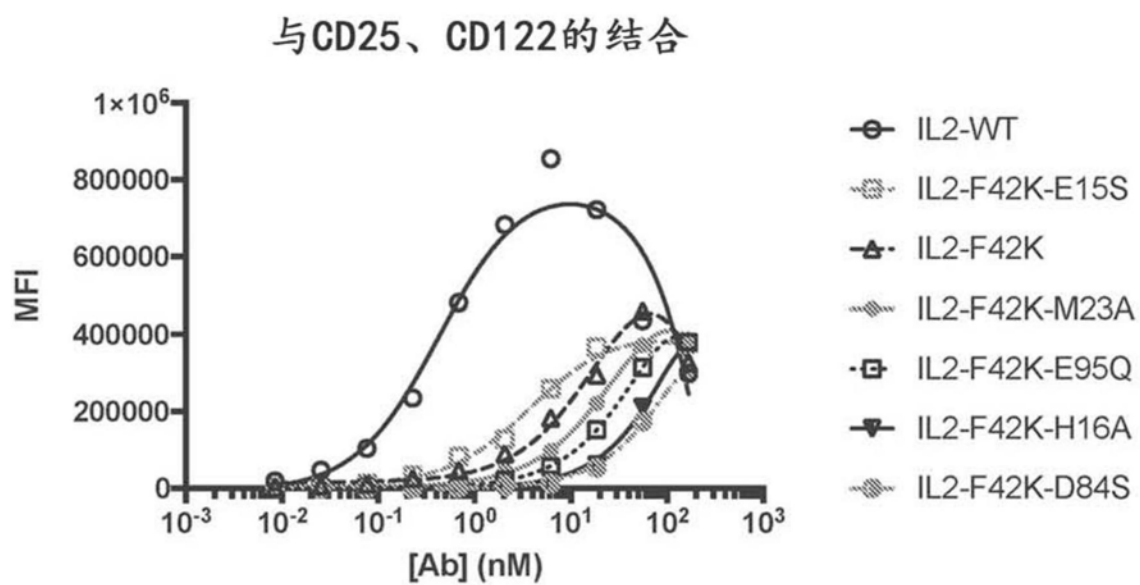


FIG.3A

18 nM的IL2变体与CD25、CD122的结合

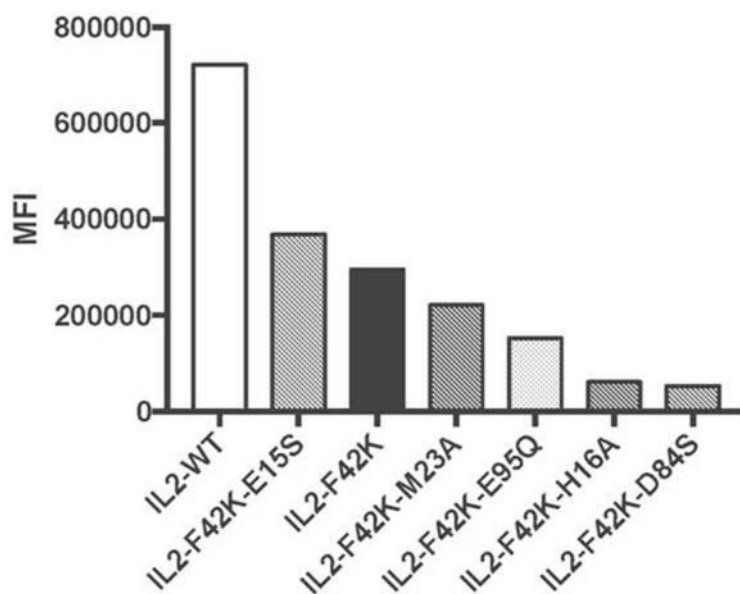


FIG.3B

与CD122、CD132的结合

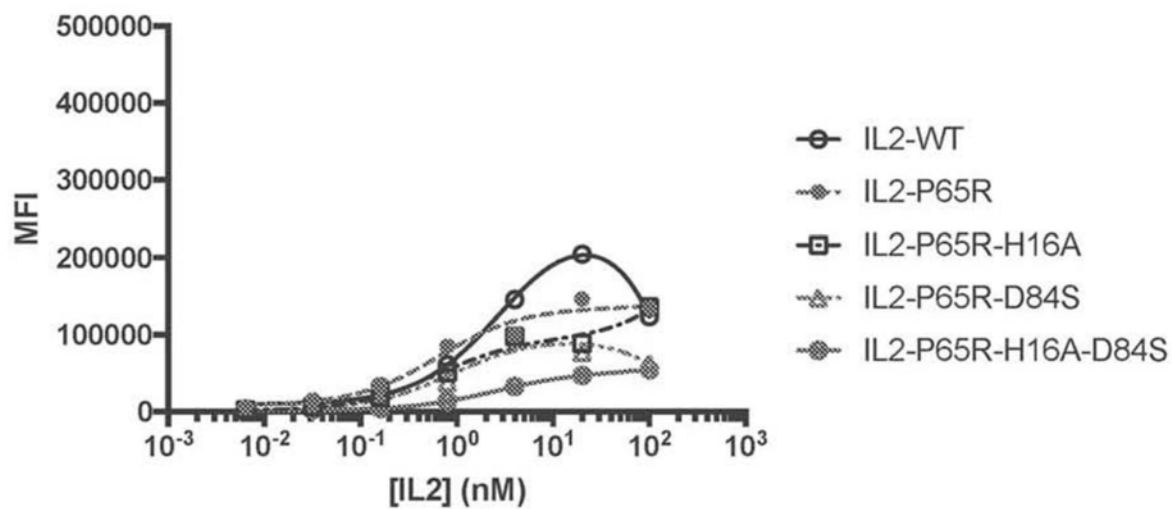


FIG.4A

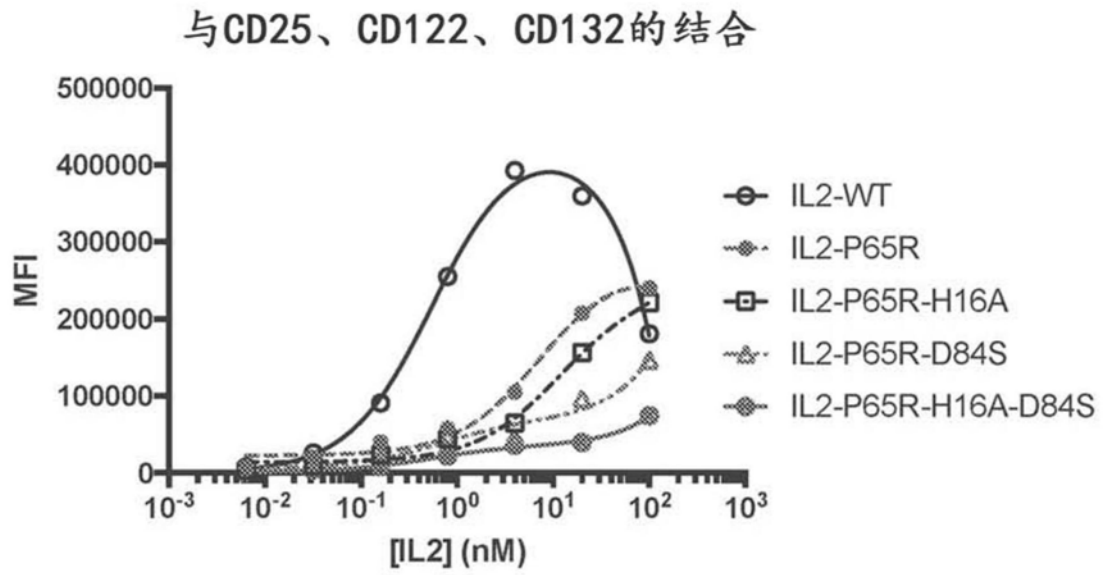


FIG.4B

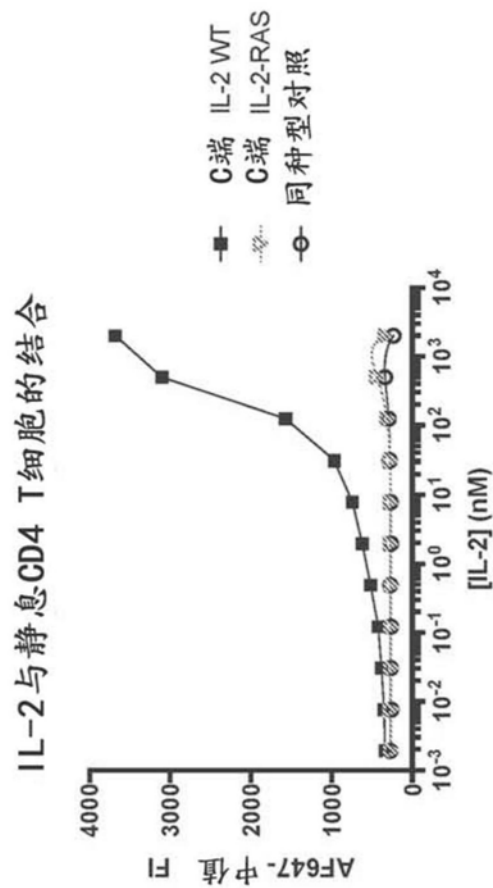


FIG.5A

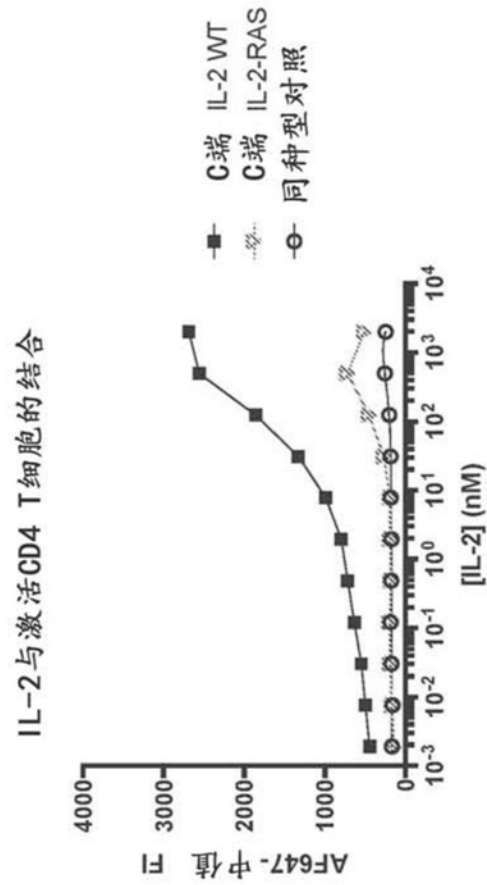


FIG.5B

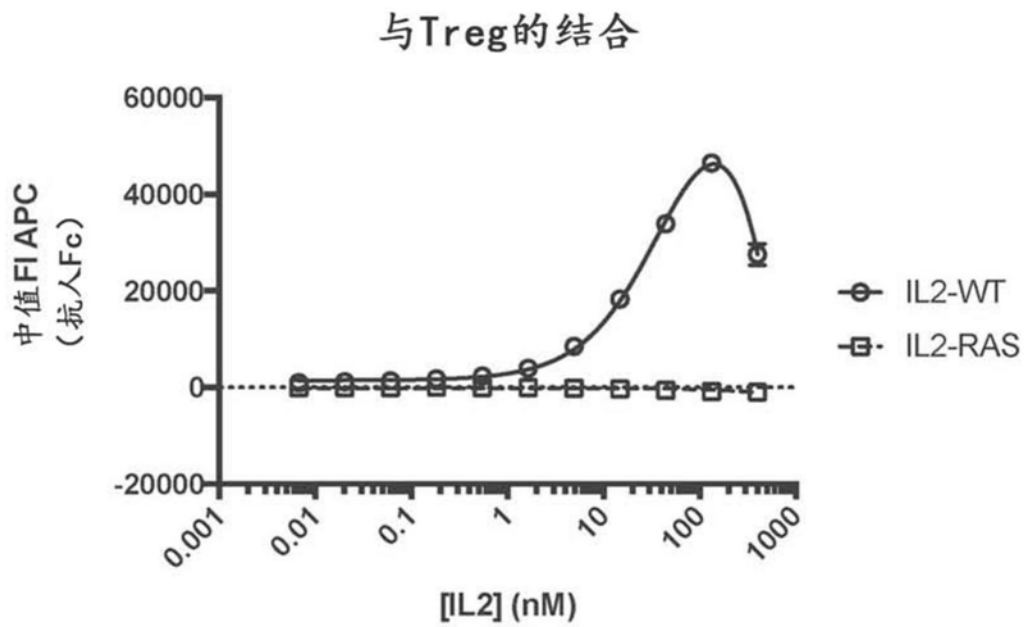


FIG.6A

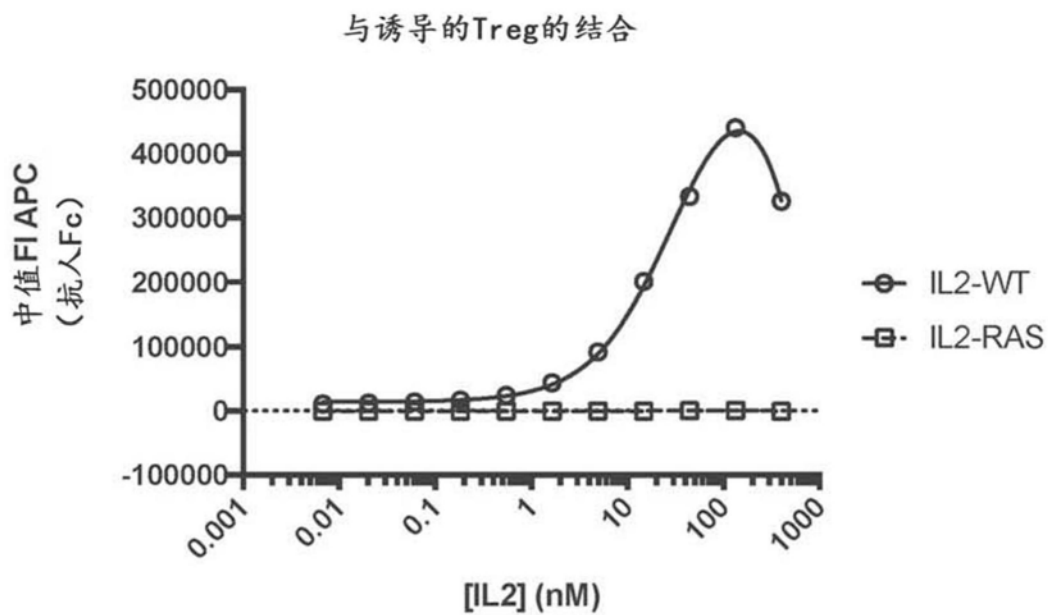


FIG.6B

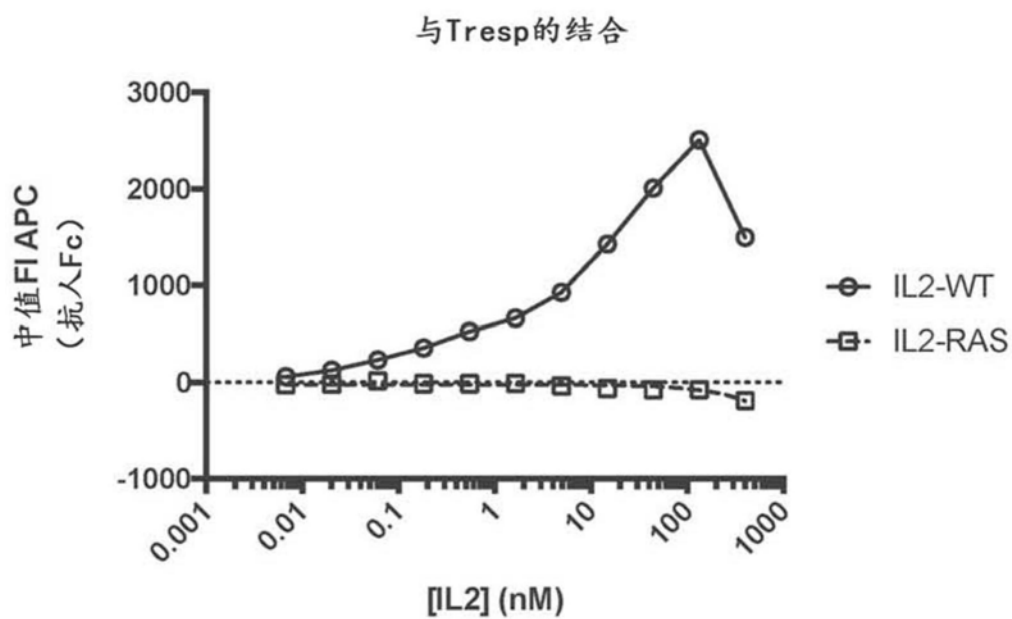


FIG.6C

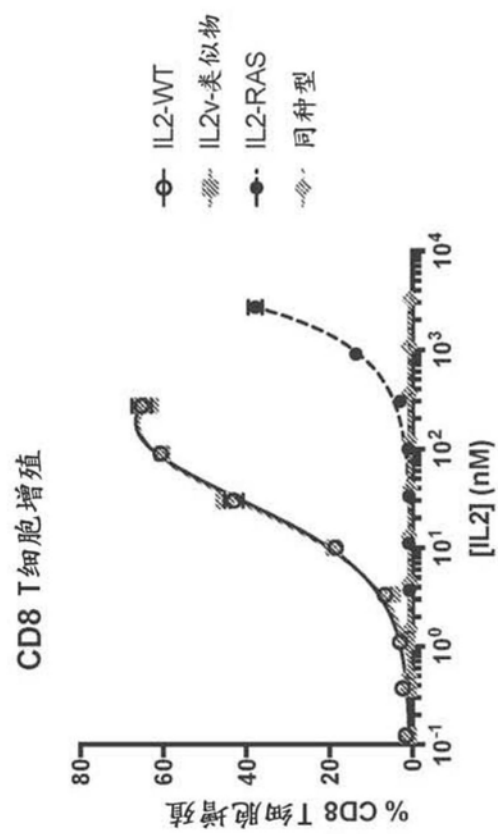


FIG.7A

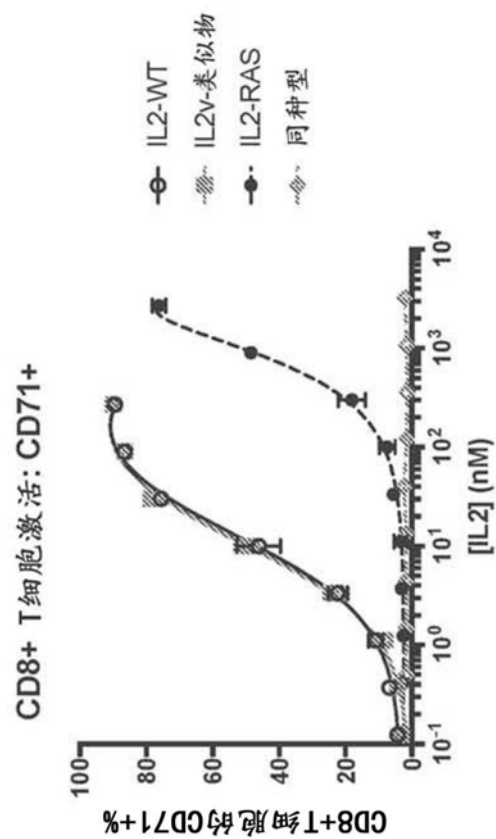


FIG. 7B

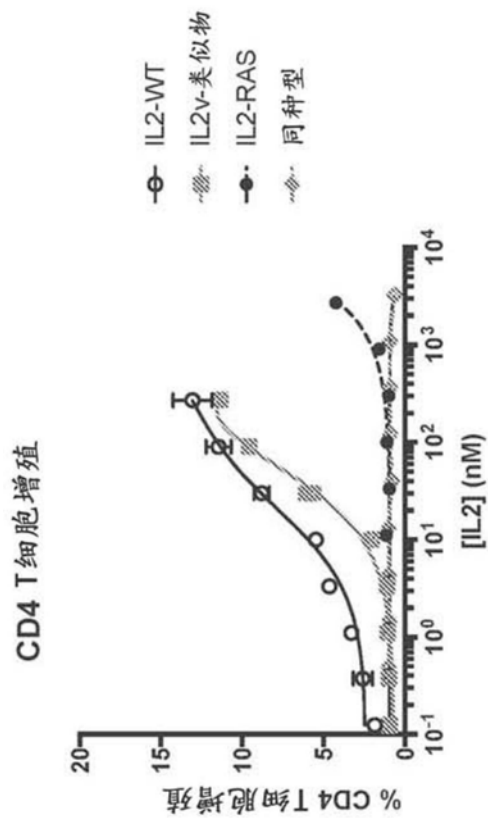


FIG. 7C

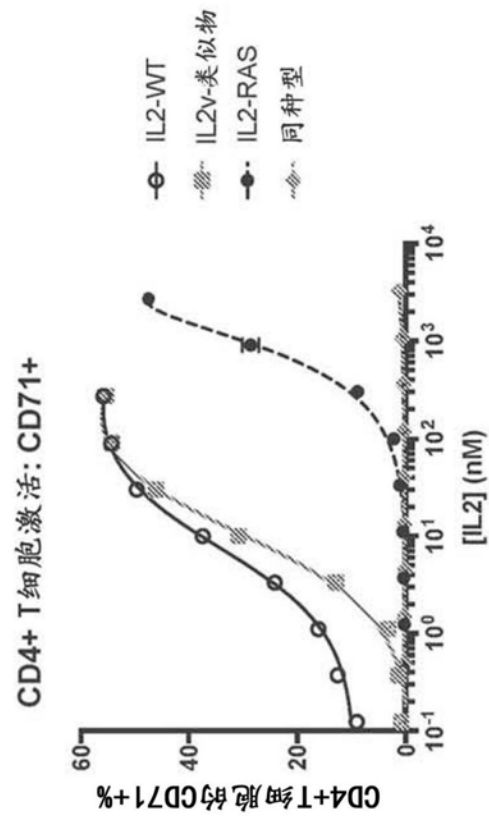


FIG. 7D

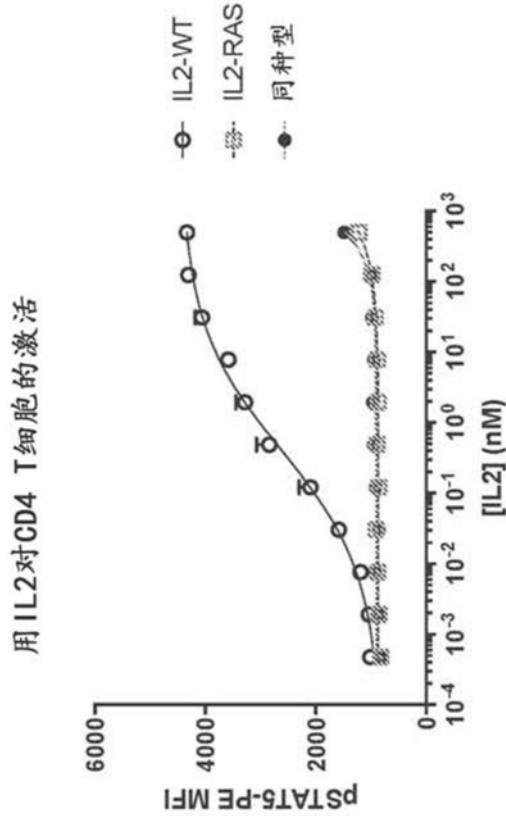


FIG.7E

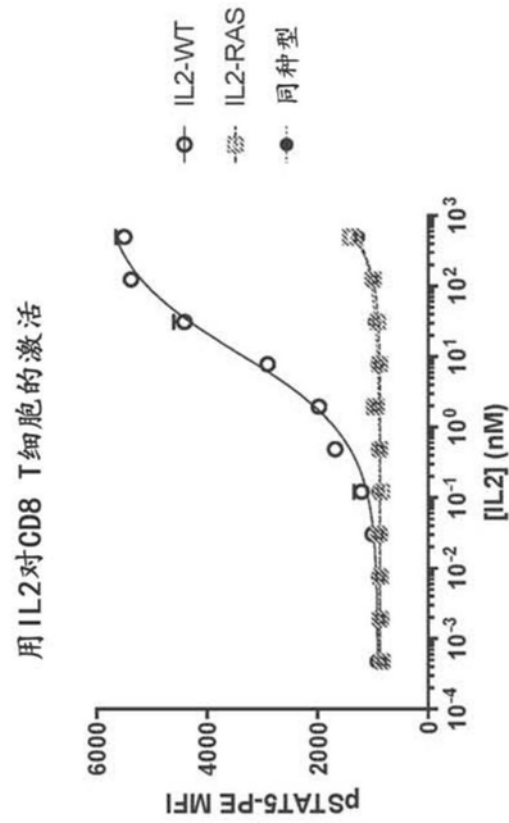


FIG. 7F

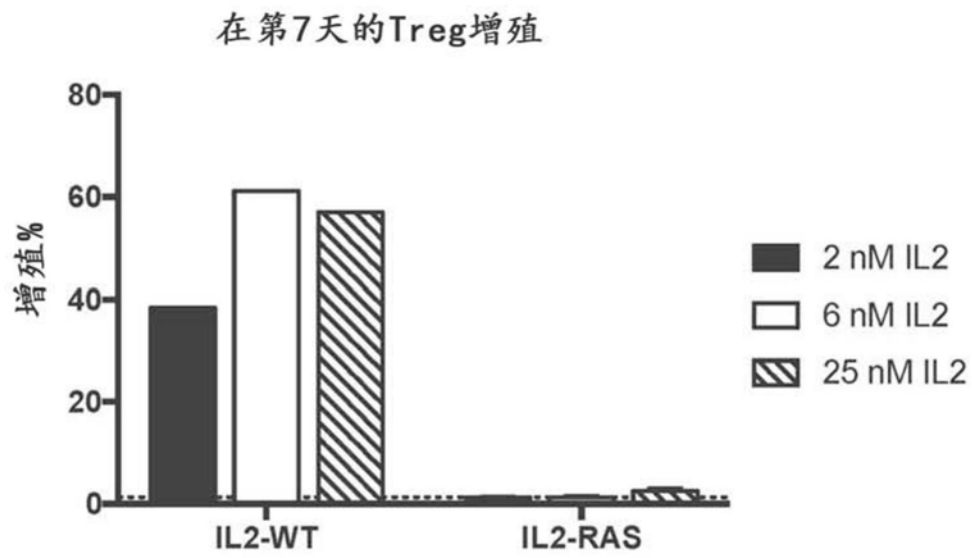


FIG. 8A

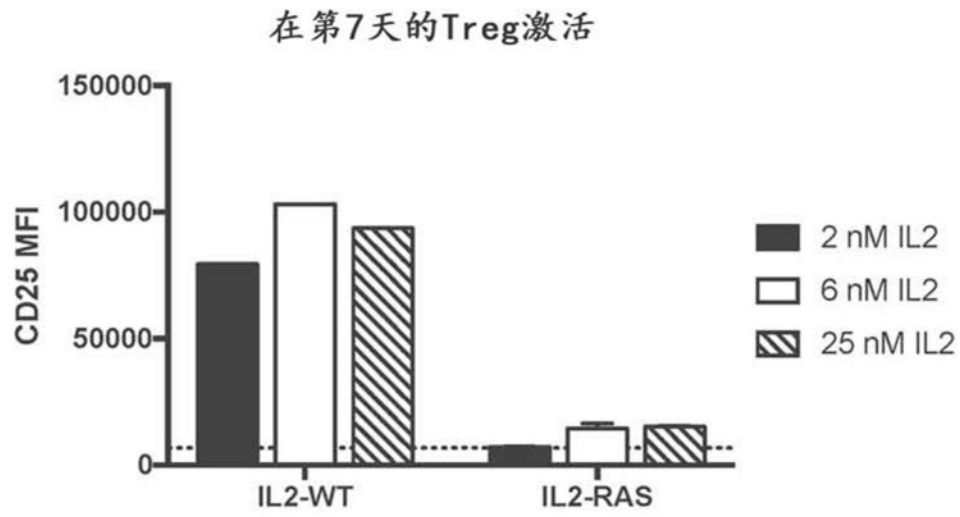


FIG.8B

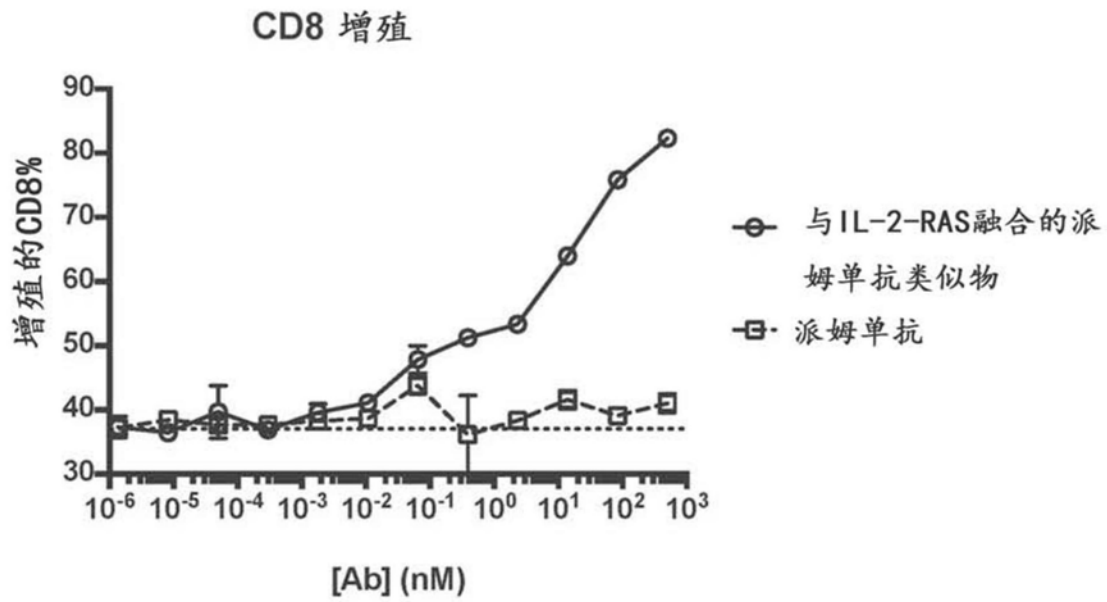


FIG.9A

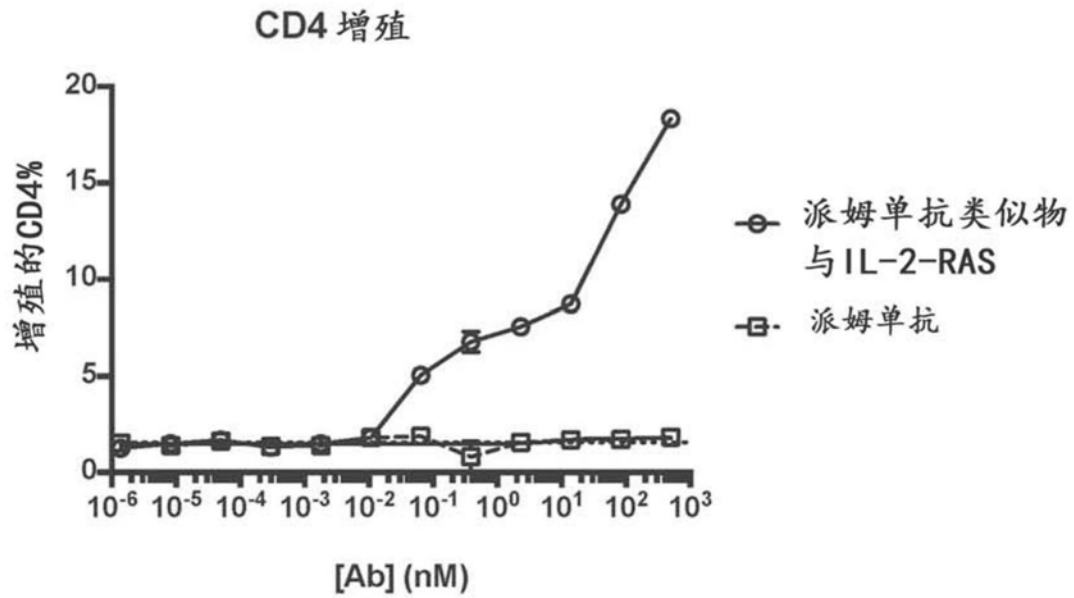


FIG. 9B

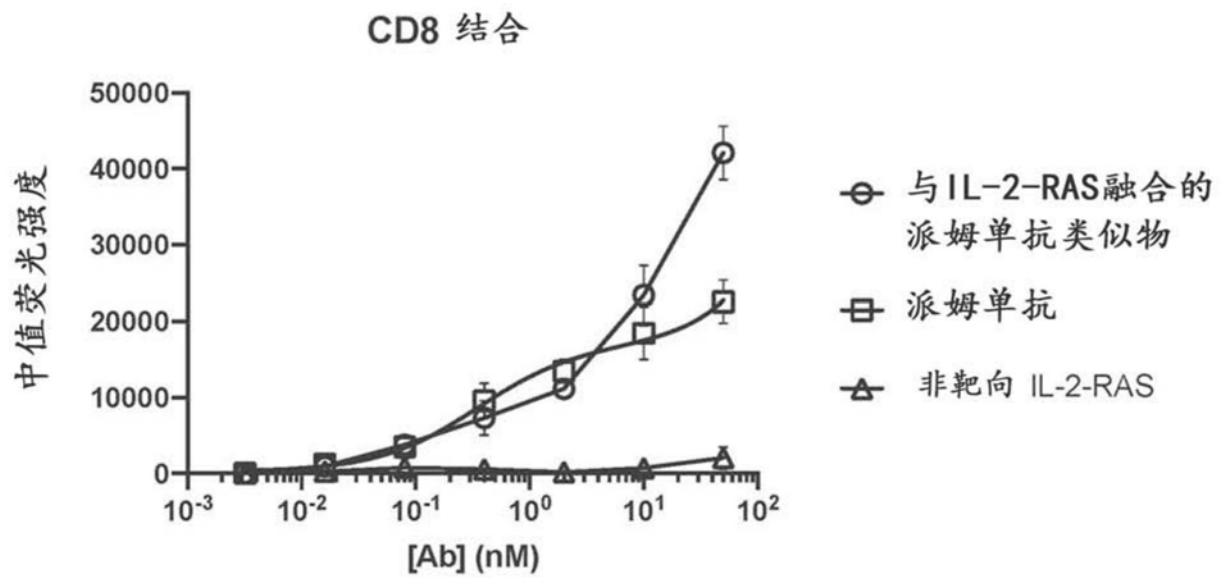


FIG. 9C

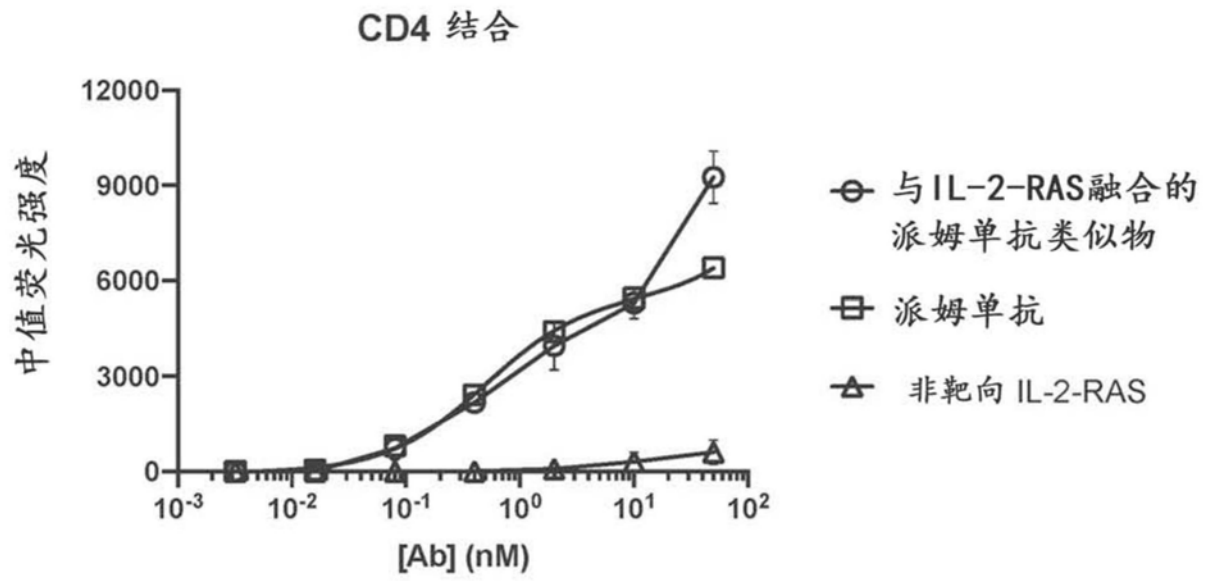


FIG. 9D

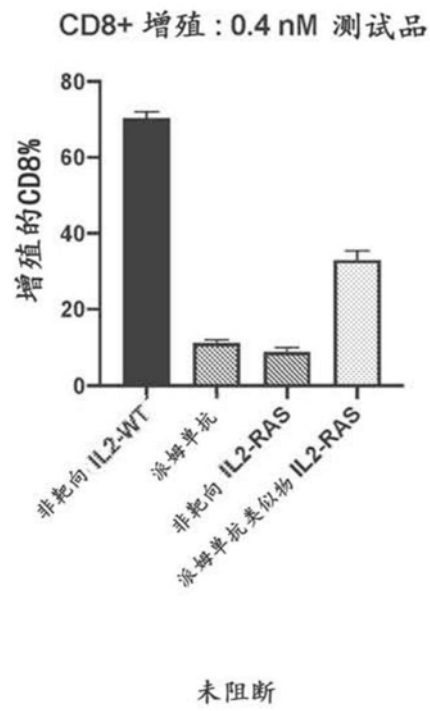


FIG. 10A

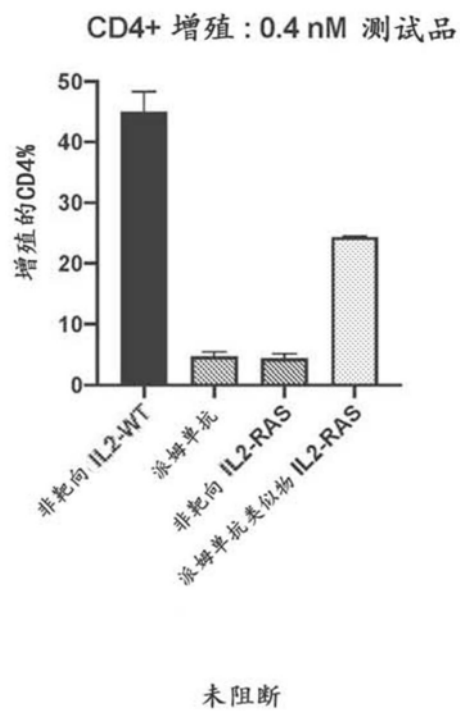


FIG.10B

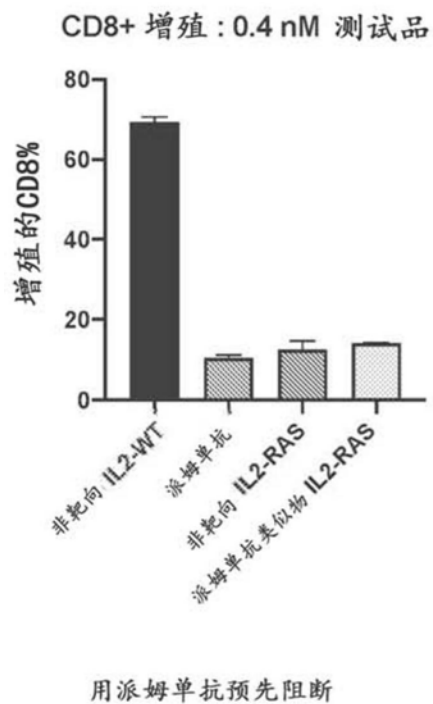
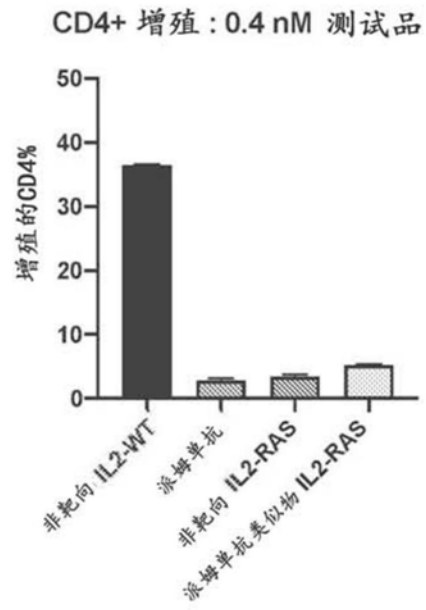


FIG.10C



用派姆单抗预先阻断

FIG.10D

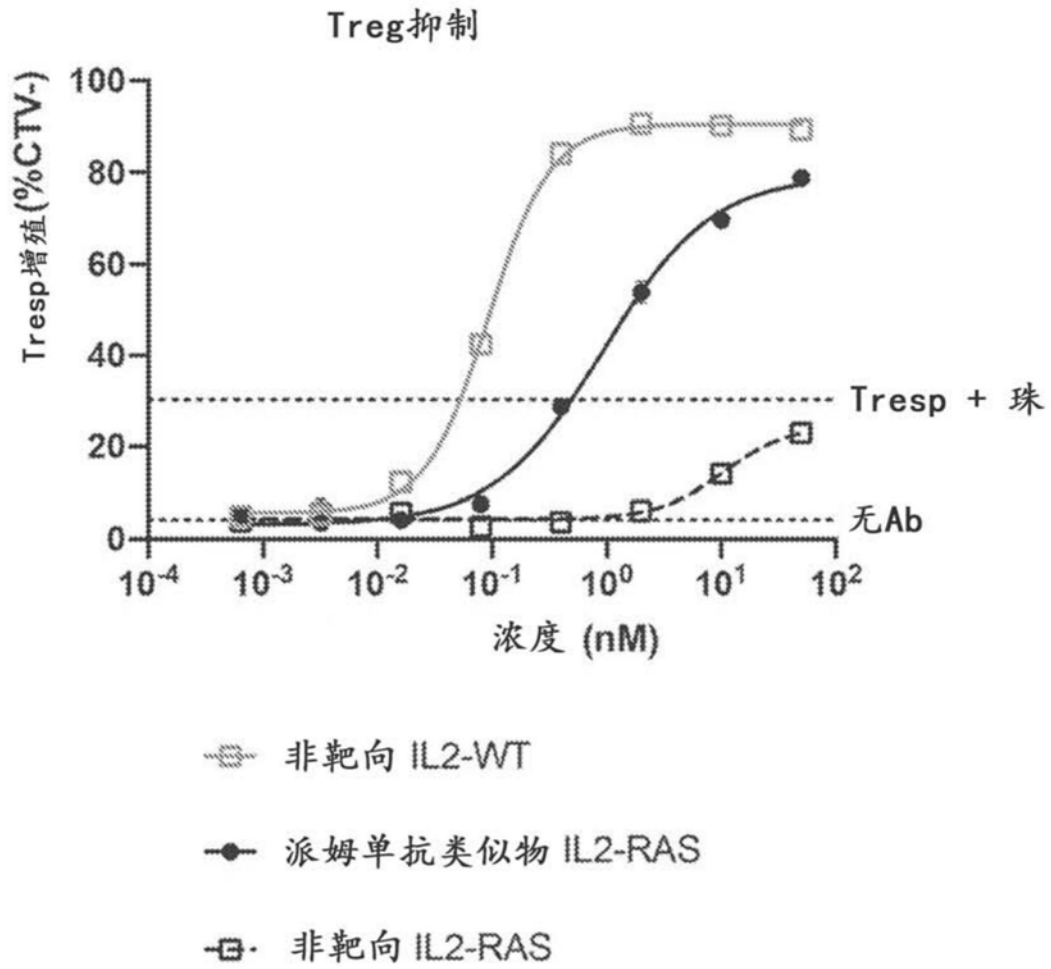


FIG.11

IL2对CD8 T细胞的反式激活

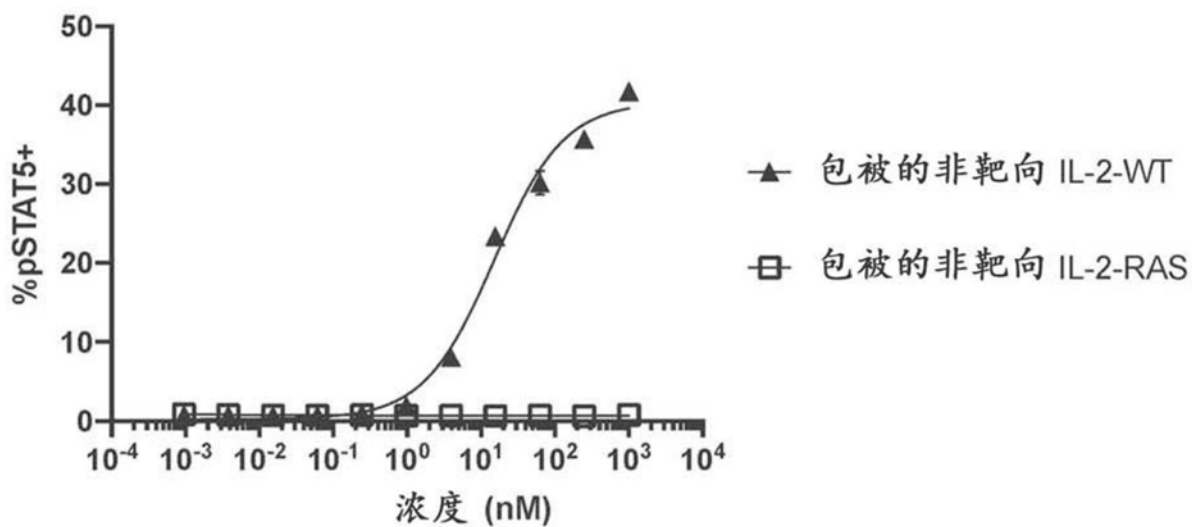


FIG.12A

IL2对CD4 T细胞的反式激活

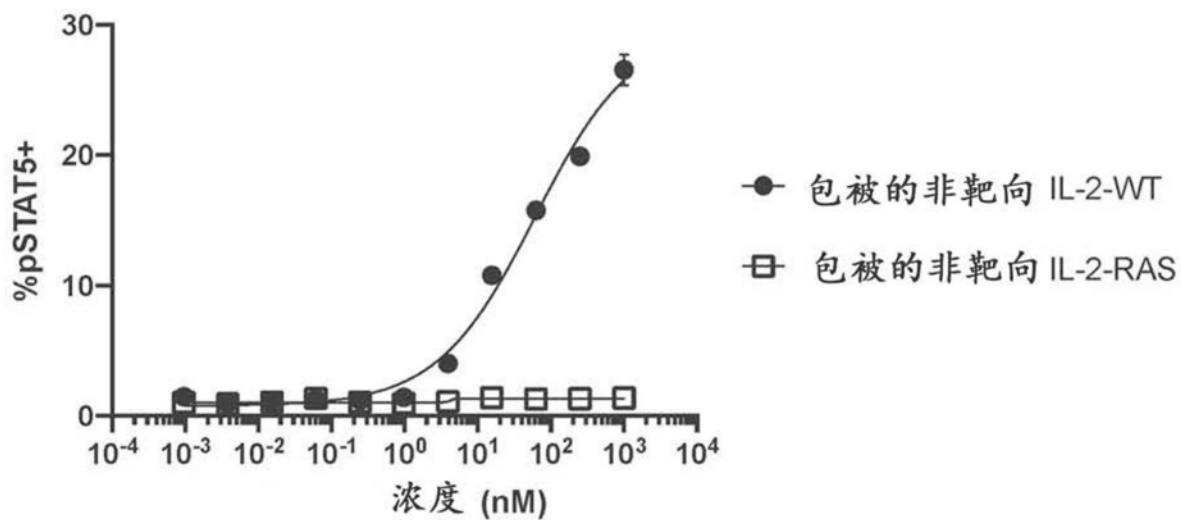


FIG.12B

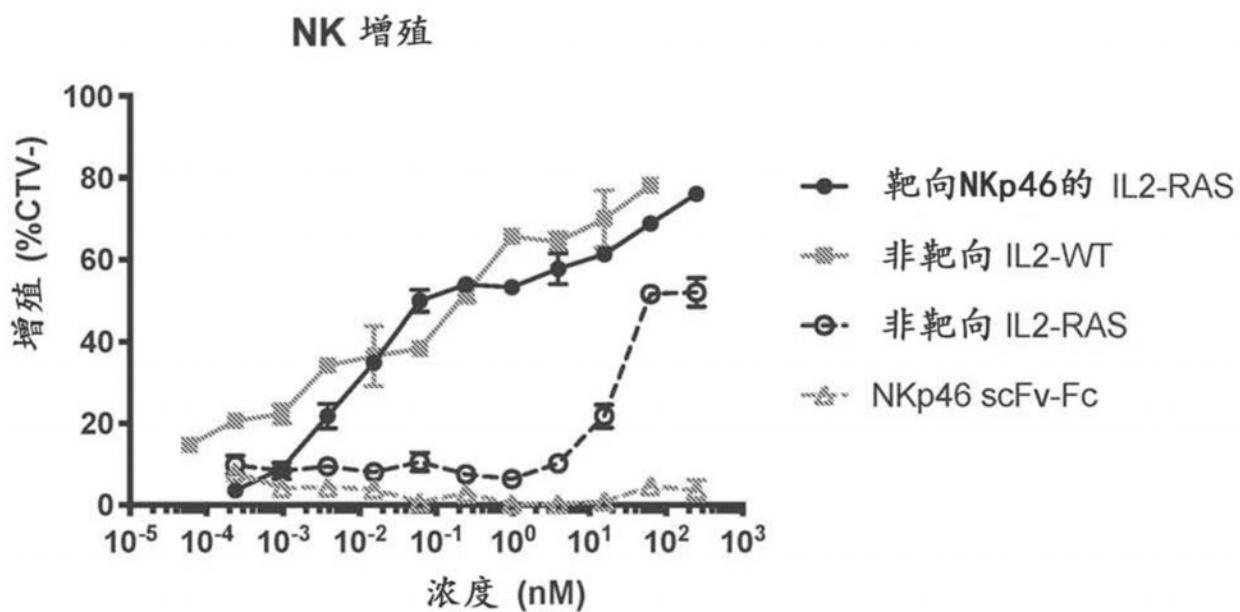


FIG.13A

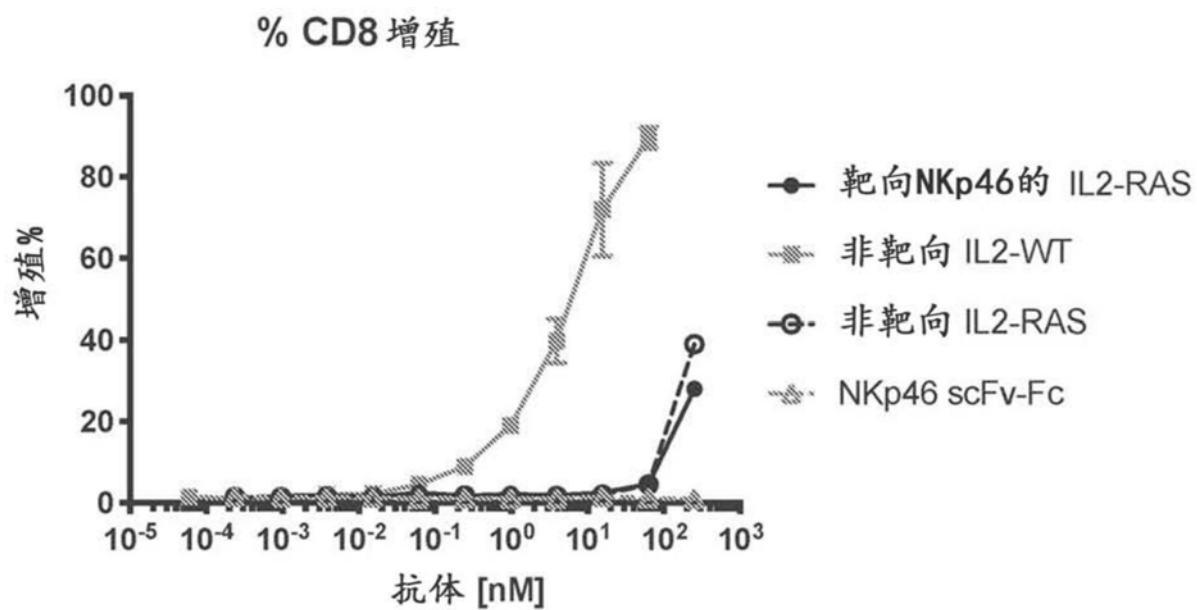


FIG.13B

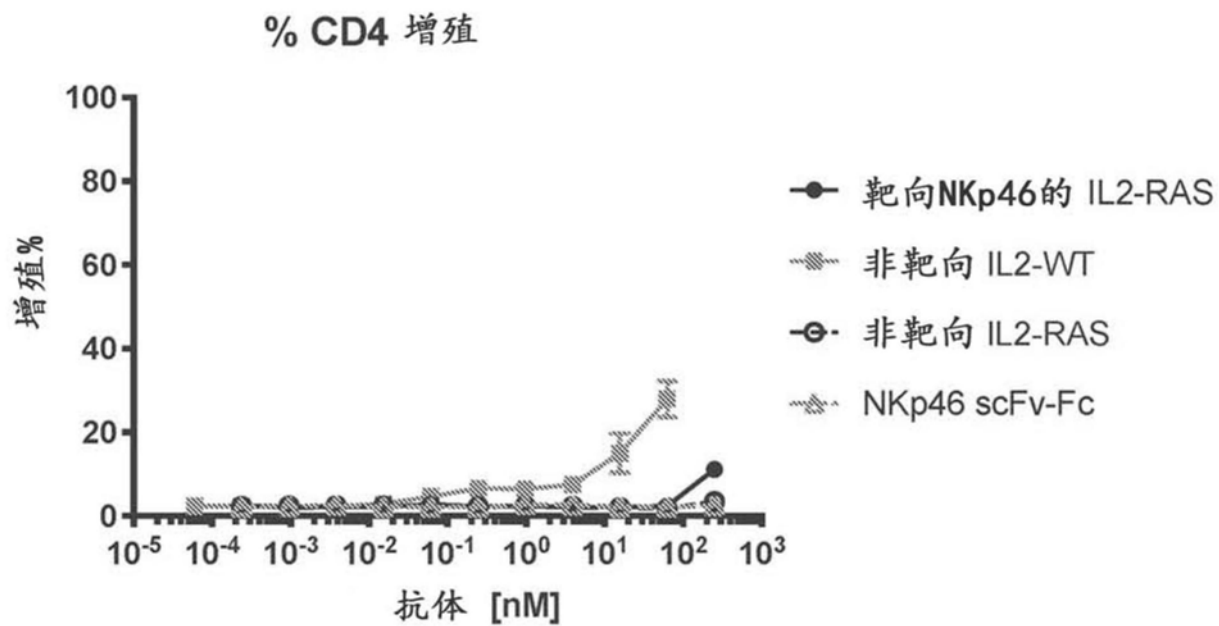


FIG.13C

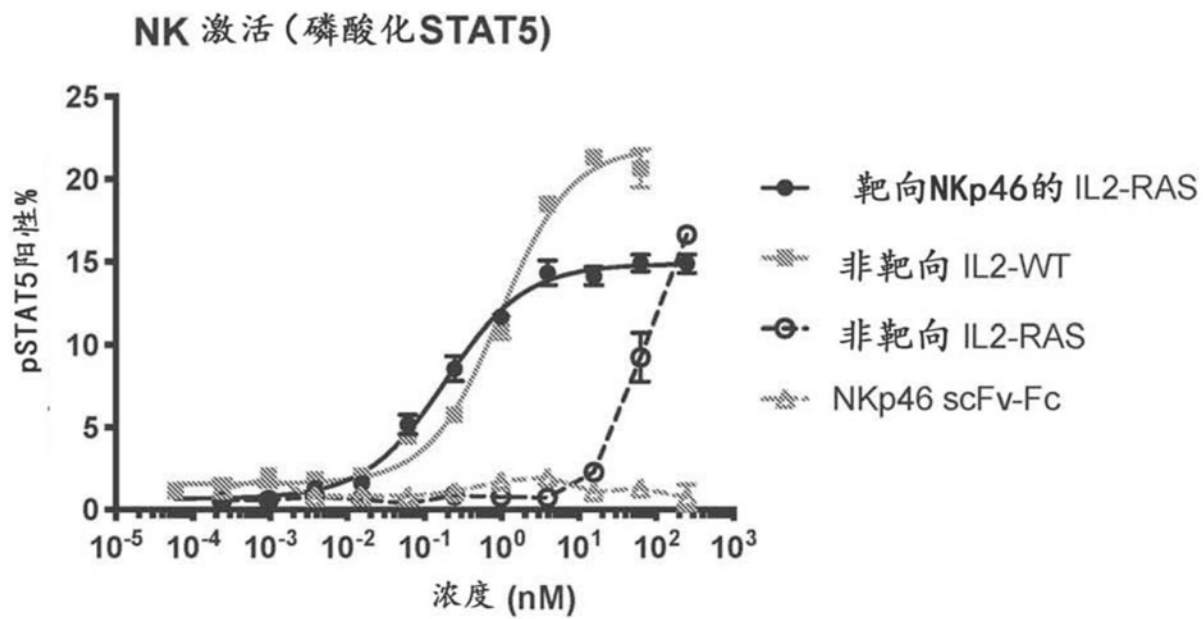


FIG.13D

CD8 T细胞激活 (磷酸化STAT5)

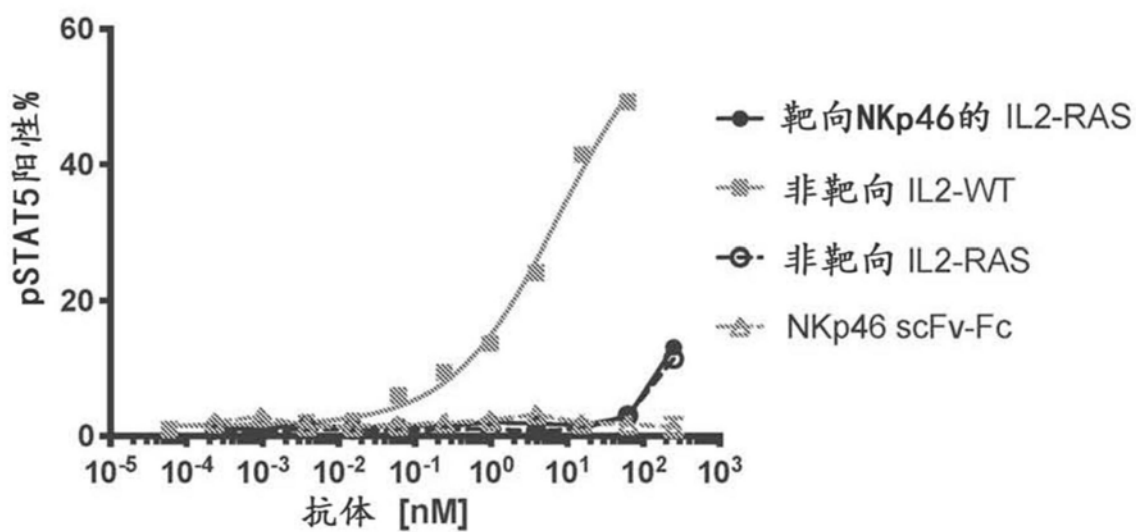


FIG.13E

CD4 T细胞激活 (磷酸化STAT5)

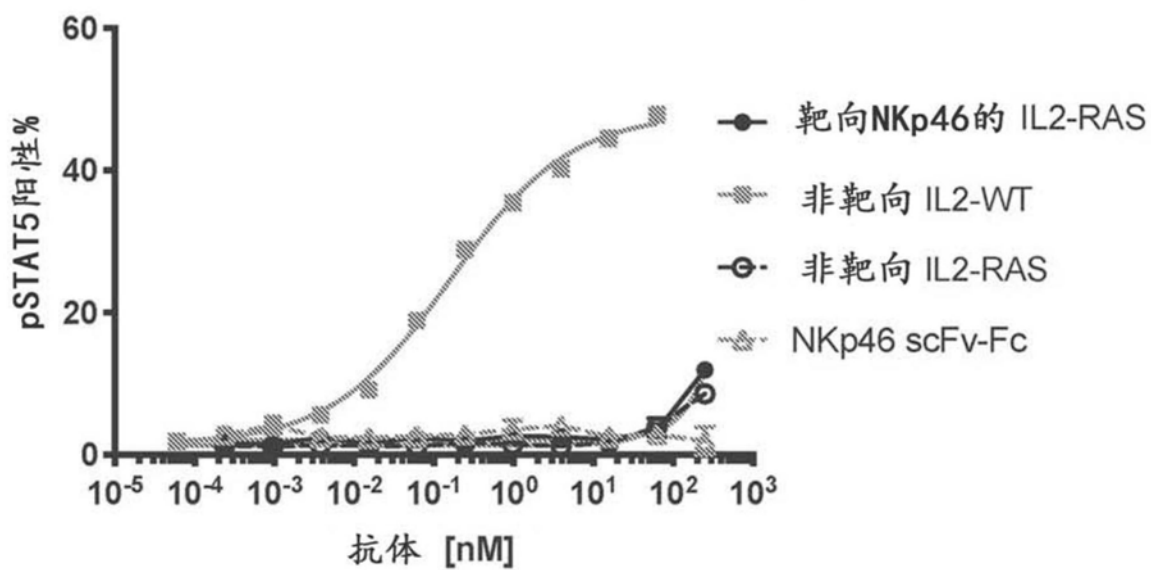


FIG.13F

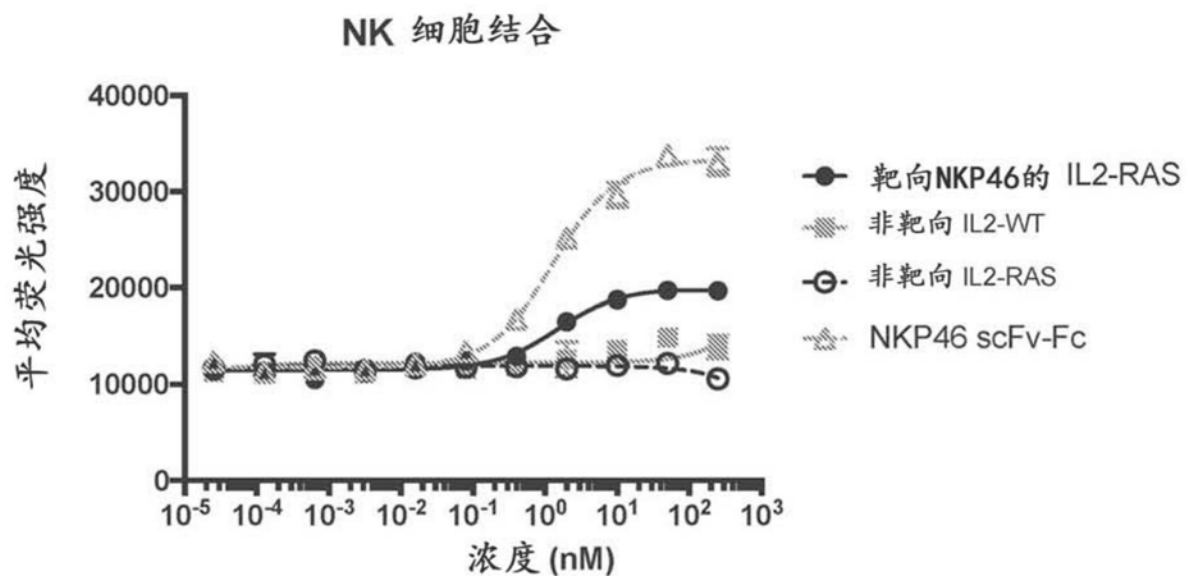


FIG.13G

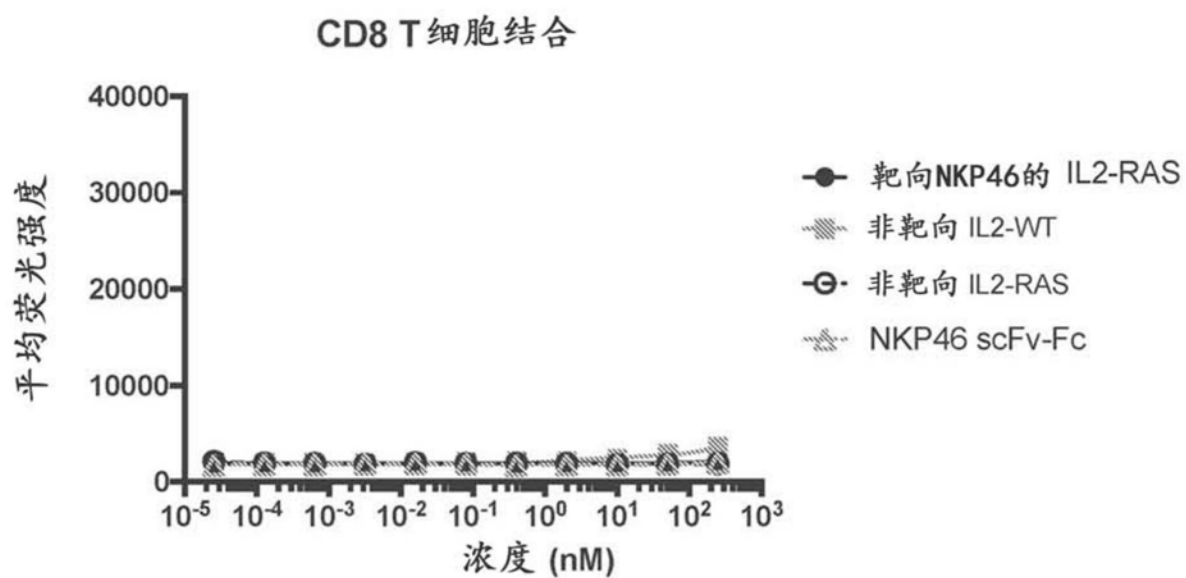


FIG.13H

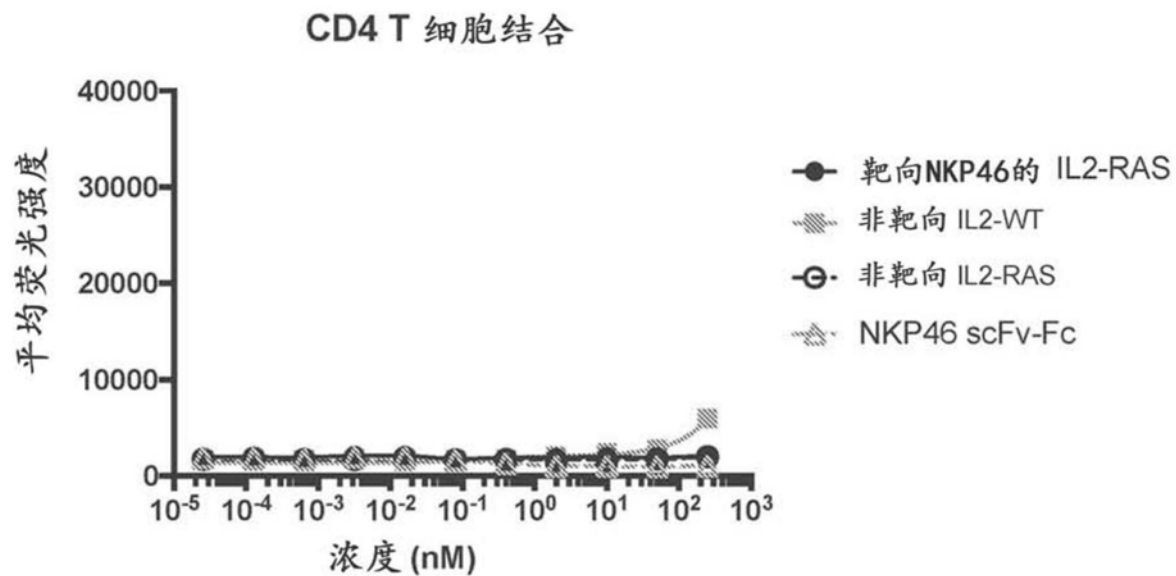


FIG. 13I

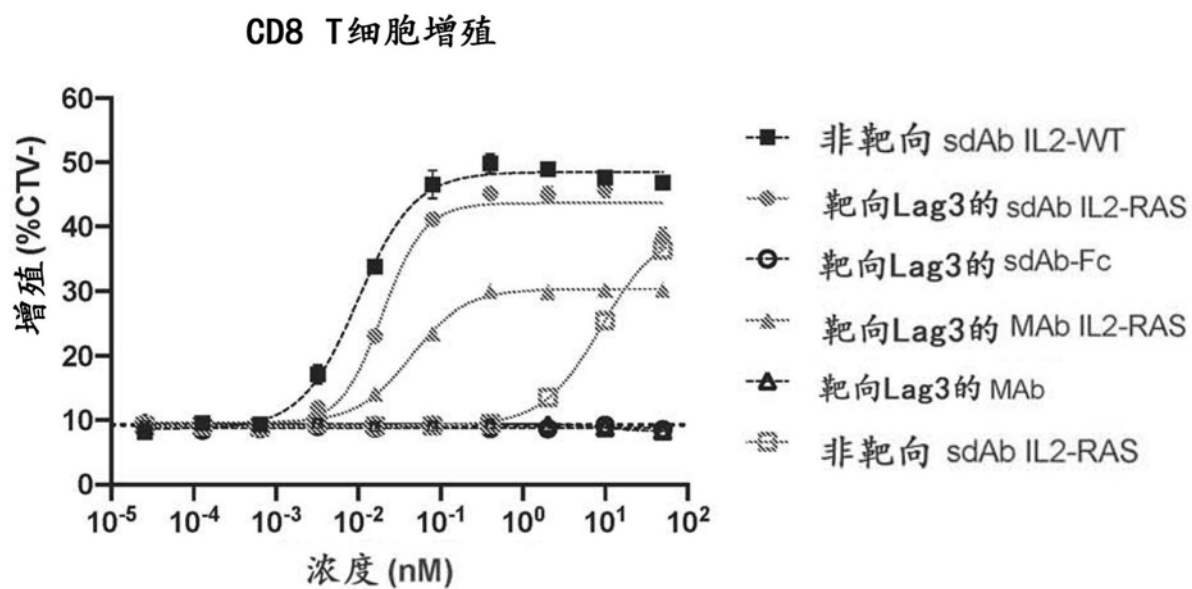


FIG. 14A

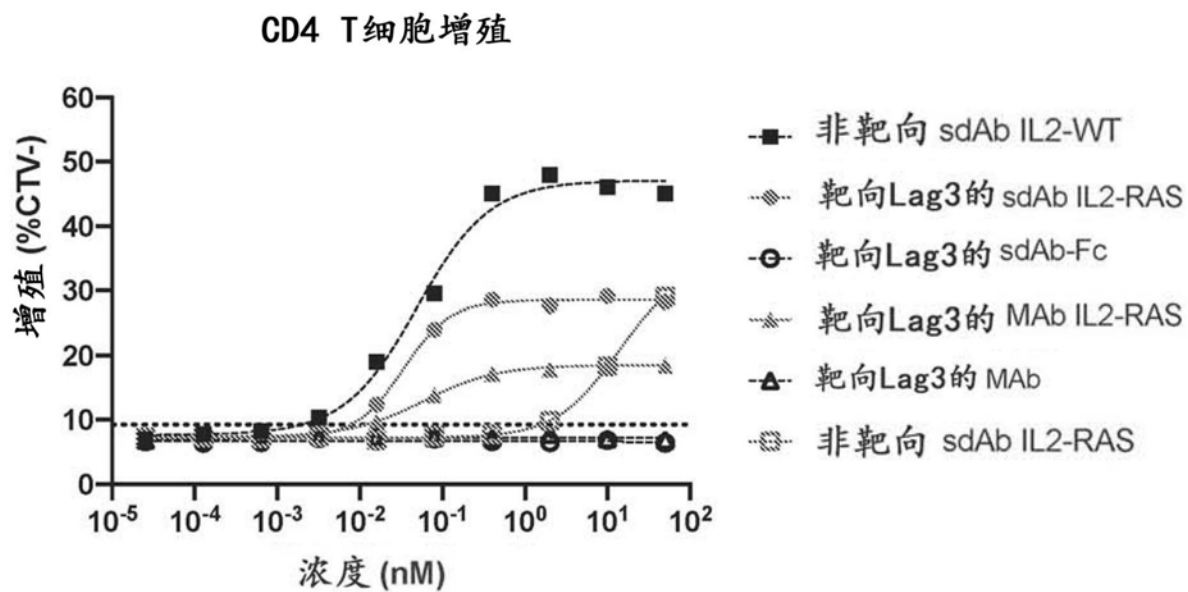


FIG.14B

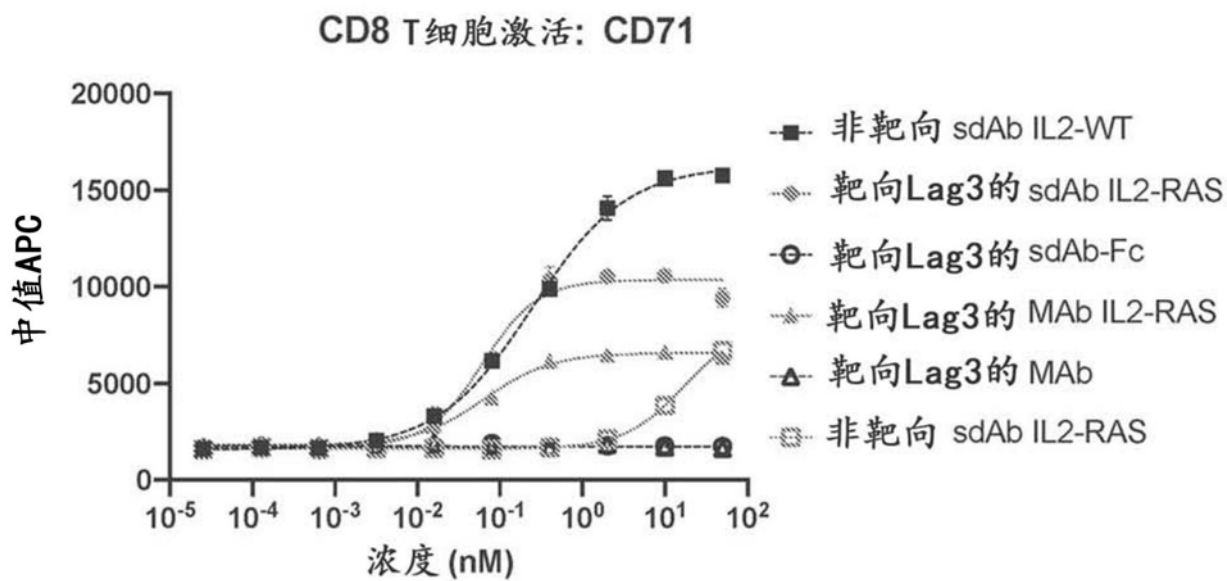


FIG.14E

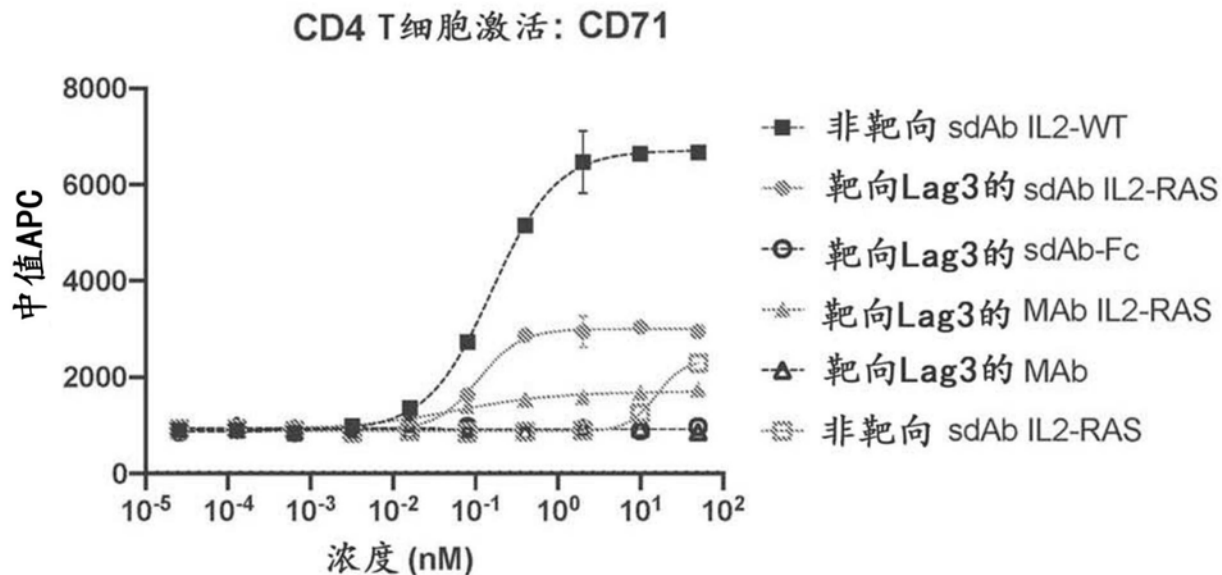


FIG. I4F

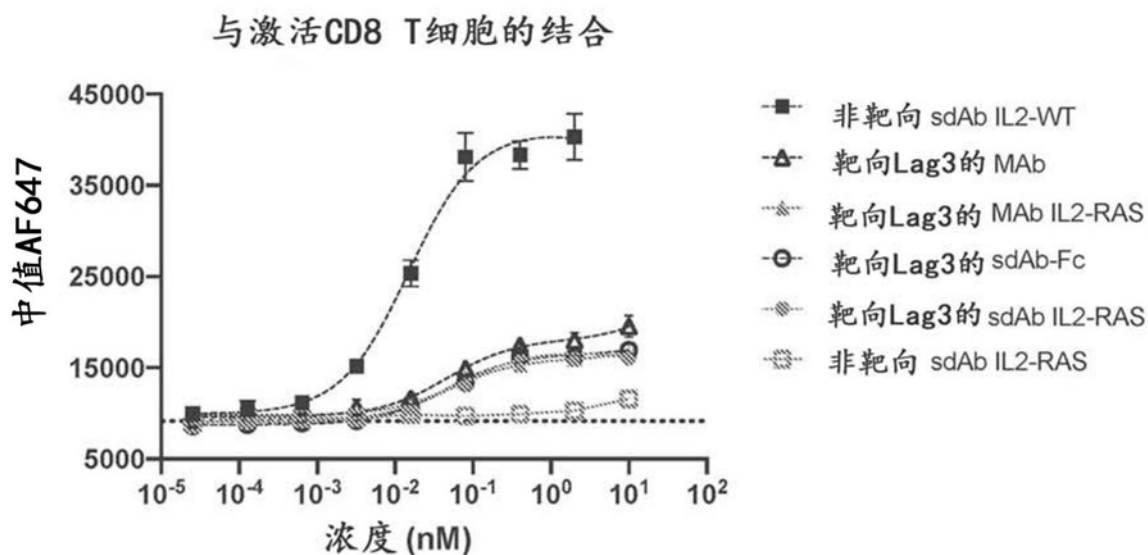


FIG. 14G

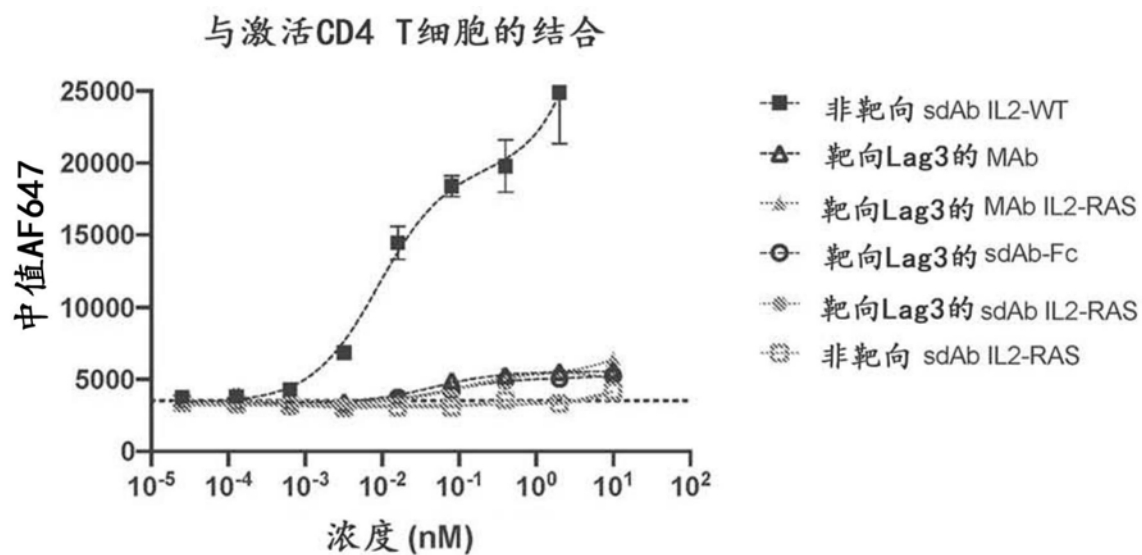


FIG.14H

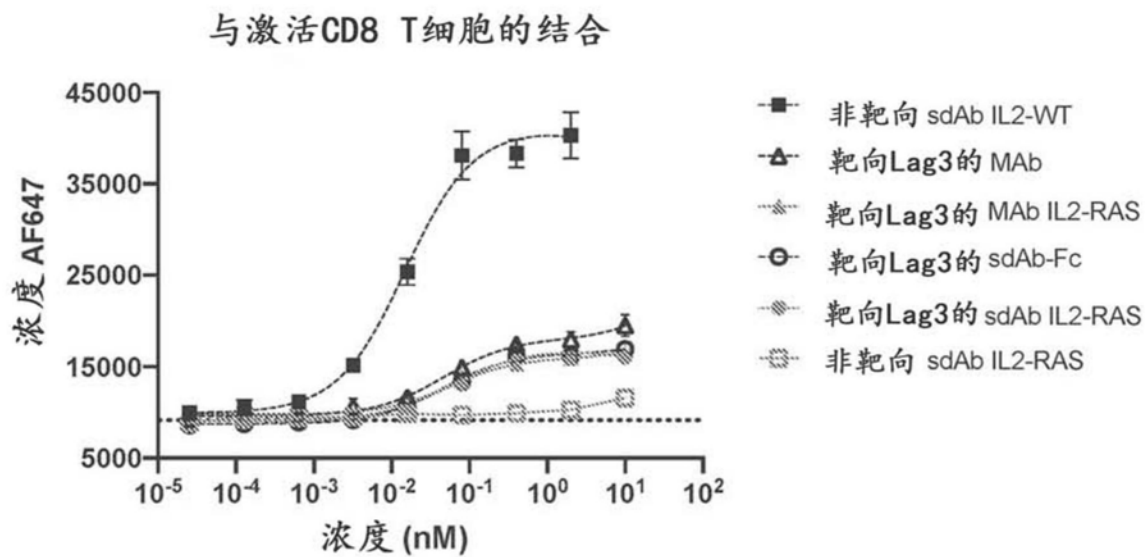


FIG.14G

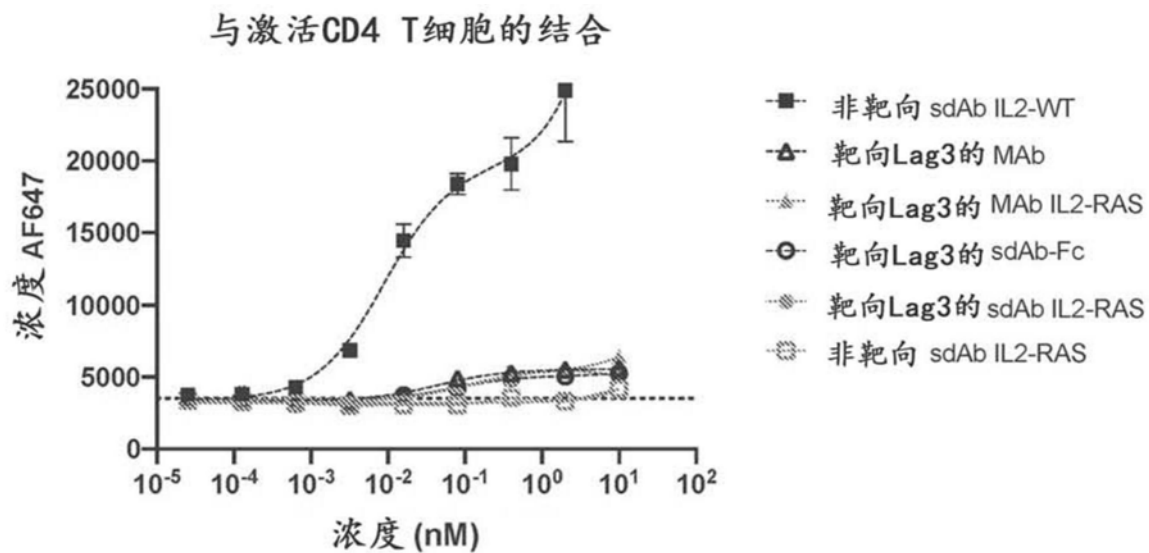


FIG.14H

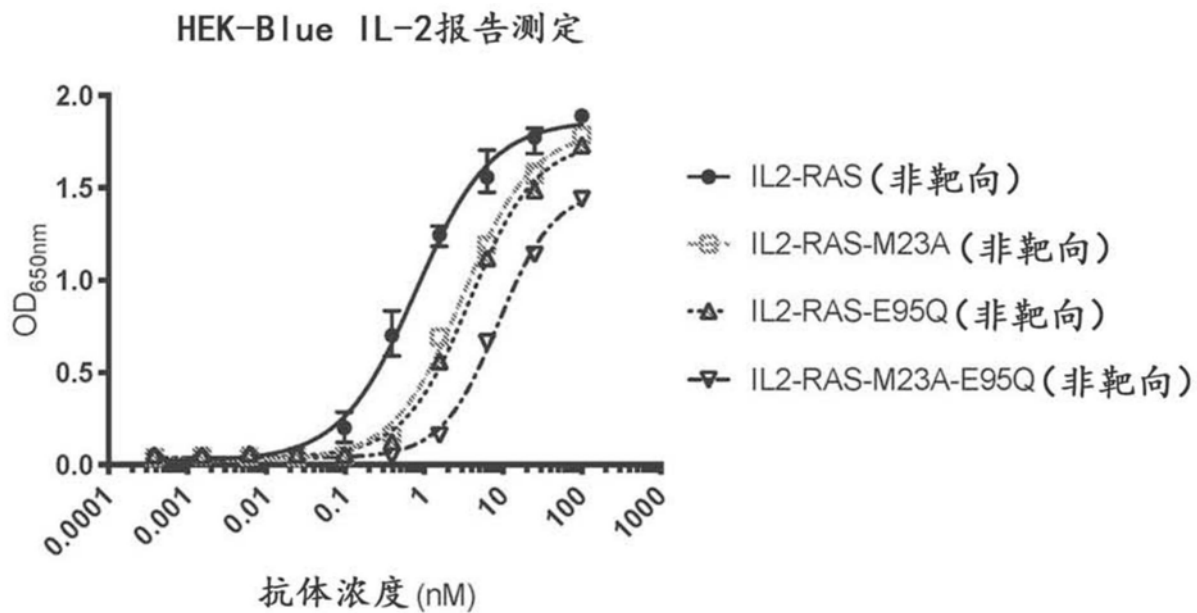


FIG.15