I865486

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I865486 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 12 月 11 日

(21)申請案號：109103596 (22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 02 月 05 日

(51)Int. Cl.： ***A61K47/60 (2017.01)***

(30)優先權：2019/02/06 美國 62/802,191

2019/05/14 美國 62/847,844

2019/07/03 美國 62/870,581

2019/09/11 美國 62/899,035

2019/11/25 美國 62/940,173

(71)申請人：美商欣爍克斯公司 (美國) SYNTHORX, INC. (US)
美國

(72)發明人：普塔辛 傑洛 PTACIN, JEROD (US)；卡法洛 卡洛琳娜 E CAFFARO, CAROLINA E. (AR)；米菈 馬可斯 MILLA, MARCOS (US)

(74)代理人：何愛文；王仁君

(56)參考文獻：

US 2014/0328791A1 US 2018/0280551A1

審查人員：吳思嫻

申請專利範圍項數：23 項 圖式數：19 共 623 頁

(54)名稱

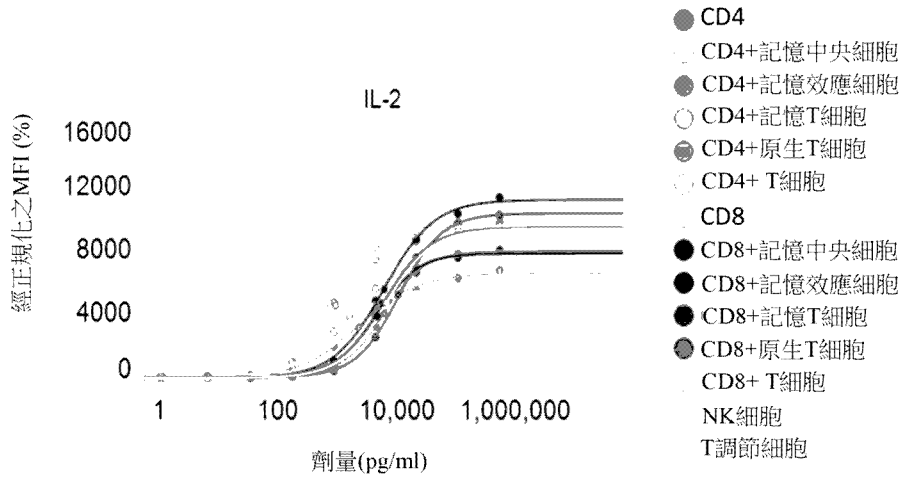
IL-2 結合物及其使用方法

(57)摘要

本文揭示包含適用於治療一或多種適應症之介白素(interleukin；IL)結合物(例如 IL-2 結合物)的組合物、套組及方法。本文亦描述包含該等介白素結合物(例如 IL-2 結合物)中之一或多者的醫藥組合物及套組。

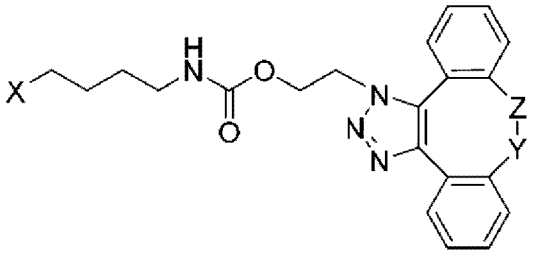
Disclosed herein are compositions, kits, and methods comprising interleukin (IL) conjugates (e.g., IL-2 conjugates) useful for the treatment of one or more indications. Also described herein are pharmaceutical compositions and kits comprising one or more of the interleukin conjugates (e.g., IL-2 conjugates).

指定代表圖：


IL-2
經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

【圖5A】

特徵化學式：


X
H
N
O
O
N
N
N
Z
Y

式(I)

公告本

I865486

【發明摘要】

【中文發明名稱】

IL-2結合物及其使用方法

【英文發明名稱】

IL-2 CONJUGATES AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本文揭示包含適用於治療一或多種適應症之介白素(interleukin；IL)結合物(例如IL-2結合物)的組合物、套組及方法。本文亦描述包含該等介白素結合物(例如IL-2結合物)中之一或多者的醫藥組合物及套組。

【英文】

Disclosed herein are compositions, kits, and methods comprising interleukin (IL) conjugates (e.g., IL-2 conjugates) useful for the treatment of one or more indications. Also described herein are pharmaceutical compositions and kits comprising one or more of the interleukin conjugates (e.g., IL-2 conjugates).

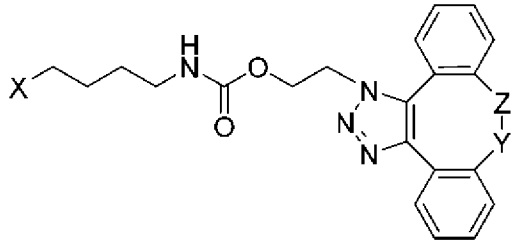
【指定代表圖】

圖5A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



式(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

IL-2結合物及其使用方法

【英文發明名稱】

IL-2 CONJUGATES AND METHODS OF USE THEREOF

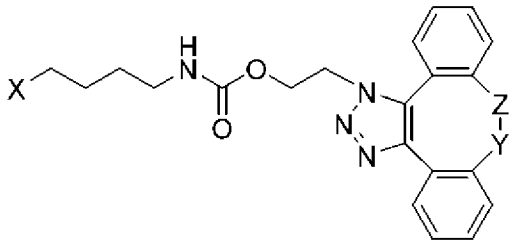
【技術領域】

【先前技術】

【0001】 不同T細胞群體調節免疫系統以維持免疫穩態及耐受性。舉例而言，調節性T (Treg)細胞藉由防止病理性自身反應性而防止免疫系統之不適當反應，而細胞毒性T細胞靶向且破壞感染細胞及/或癌細胞。在一些情況下，不同T細胞群體之調節為治療疾病或適應症提供一種選項。

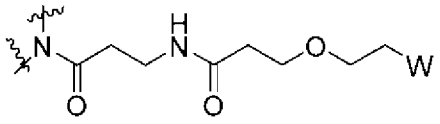
【發明內容】

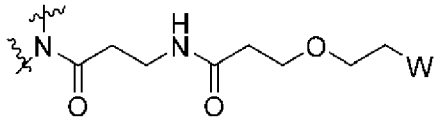
【0002】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(I)之結構置換：

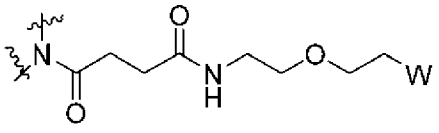


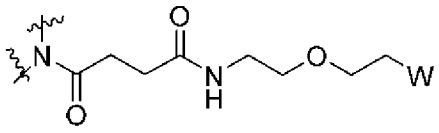
式(I)；

其中：

Z為CH_2及Y為  ；

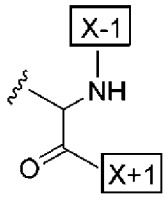
Y為CH_2及Z為  ；

Z為CH_2及Y為  ；或

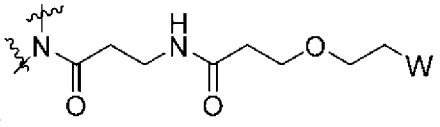
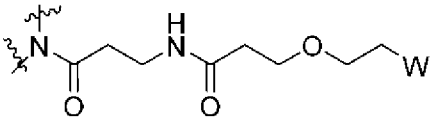
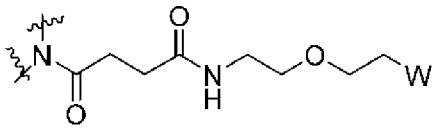
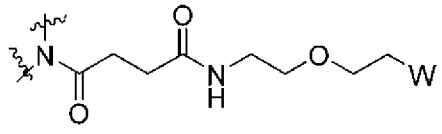
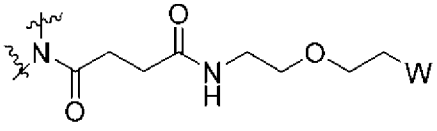
Y為CH_2及Z為  ；

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；

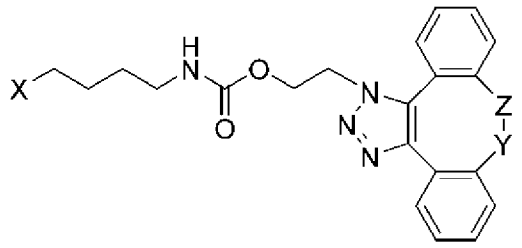
或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Z為CH_2及Y為  ，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Y為CH_2及Z為  ，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Z為CH_2及Y為  ，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Z為CH_2及Y為  ，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Y為CH_2及Z為  ，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合

物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量選自5kDa、10kDa、20 kDa及30kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為5kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為10kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為15kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為20kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為25kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為30kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為35kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為40kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為45kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為50kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為60kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K35、F42、F44、K43、E62、

P65、R38、T41、E68、Y45、V69及L72，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自F42、E62及P65，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為K35，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為F42，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為F44，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為K43，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為E62，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為P65，其中式(I)結構

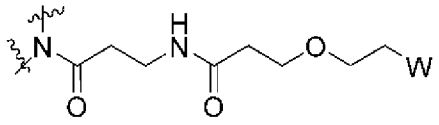
在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為R38，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為T41，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為E68，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為Y45，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為V69，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為L72，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

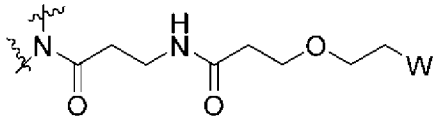
【0003】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之IL-2結合物，其中該IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(I)之結構置換：

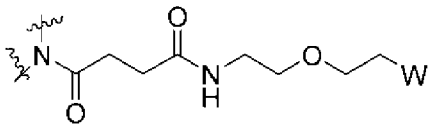


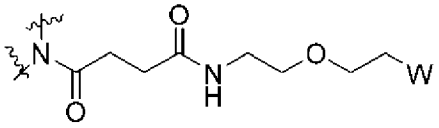
式(I)；

其中：

Z為CH_2及Y為  ；

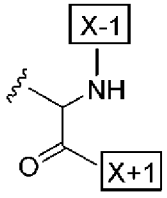
Y為CH_2及Z為  ；

Z為CH_2及Y為  ；或

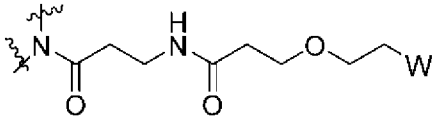
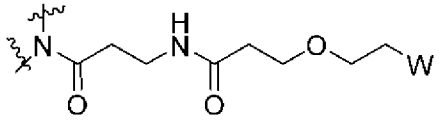
Y為CH_2及Z為  ；

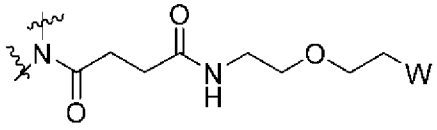
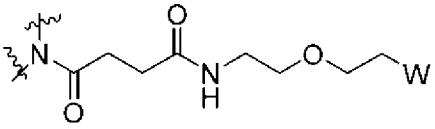
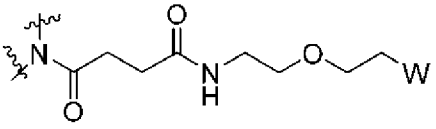
W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Z為CH_2及Y為  ，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Y為CH_2及Z為  ，或其醫藥學上可接

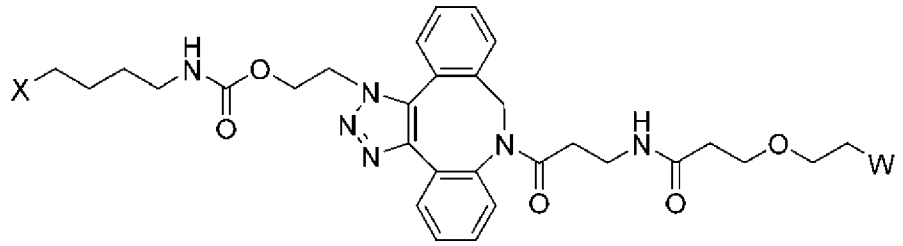
受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Z為CH_2及Y為，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Z為CH_2及Y為，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，Y為CH_2及Z為，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量選自5kDa、10kDa、20 kDa及30kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為5kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為10kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為15kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為20kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為25kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為30kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為35kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之

平均分子量為40kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為45kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為50kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為60kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K35、F42、F44、K43、E62、P65、R38、T41、E68、Y45、V69及L72，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自F42、E62及P65，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為K35，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為F42，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為F44，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合

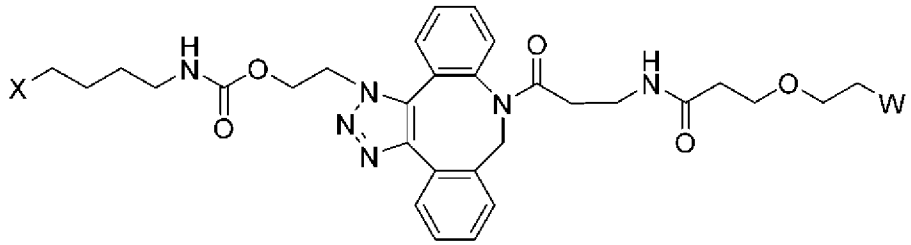
物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為K43，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為E62，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為P65，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為R38，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為T41，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為E68，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為Y45，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2

結合物之胺基酸序列中的位置為V69，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置為L72，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 1中之位置，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0004】 本文描述包含SEQ ID NO: 15至19中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)之結構，或式(II)及式(III)之混合物：



式(II)；

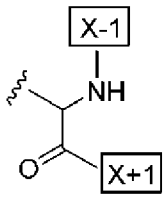


式(III)；

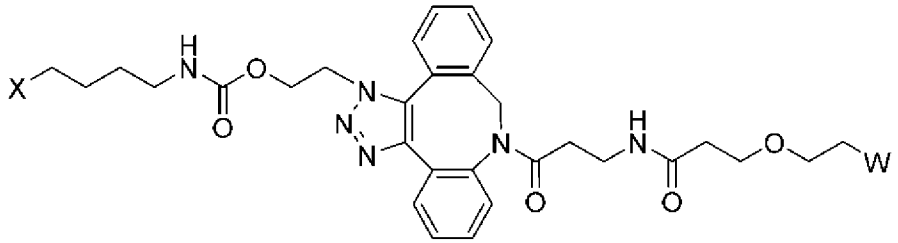
其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



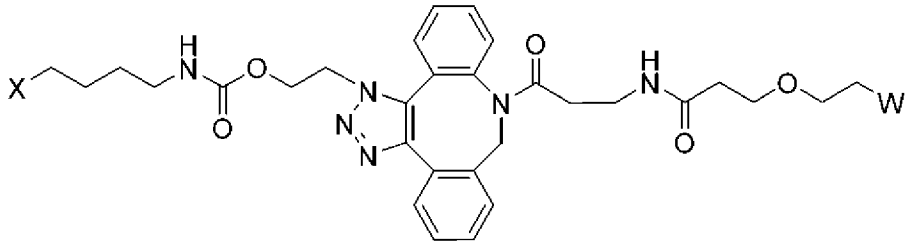
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]為式(II)及式(III)之混合物，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]具有式(II)之結構：



式(II)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 15，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自以下之PEG基團：5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 16，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20

kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文

所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]具有式(III)之結構



式(III)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 15，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、

溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 16，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa

之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W

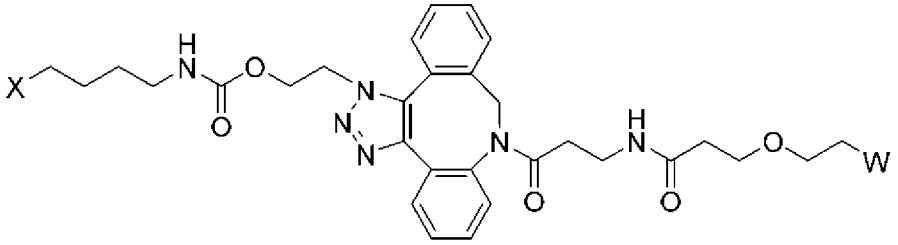
為直鏈或分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為直鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為甲氧基PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。甲氧基PEG基團之例示性結構說明於實例2之流程1中之mPEG-DBCO結構中。

【0005】 在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為5 kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為10 kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為15kDa之PEG基團。在具有選自SEQ

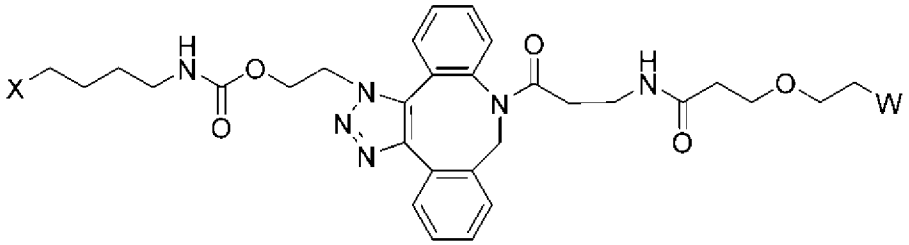
ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為20kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為25kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為30kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為35kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為40kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為45kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為50kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量為60kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 15、16、17、18及19中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG]含有平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團，其中PEG基團為甲氧基PEG基團、直鏈甲氧基PEG基團或分支鏈甲氧

基PEG基團。

【0006】 本文描述包含SEQ ID NO: 20至24中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG5kD]具有式(II)或式(III)之結構，或式(II)及式(III)之混合物：



式(II)；

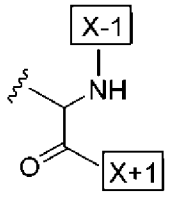


式(III)；

其中：

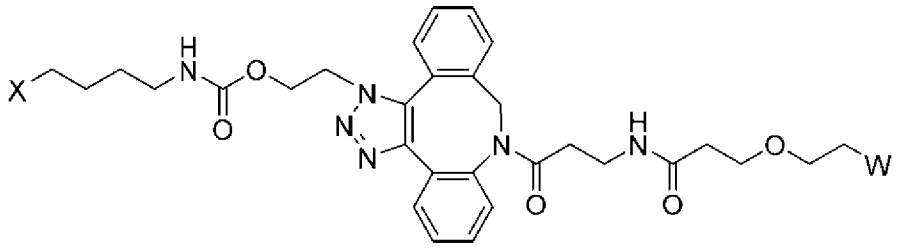
W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



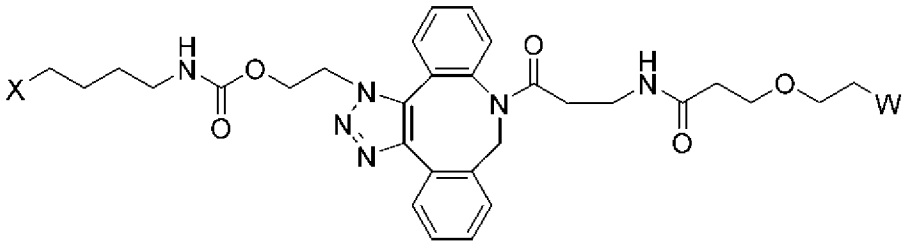
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22，或其

醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 23，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 24，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG5kD]具有式(II)之結構



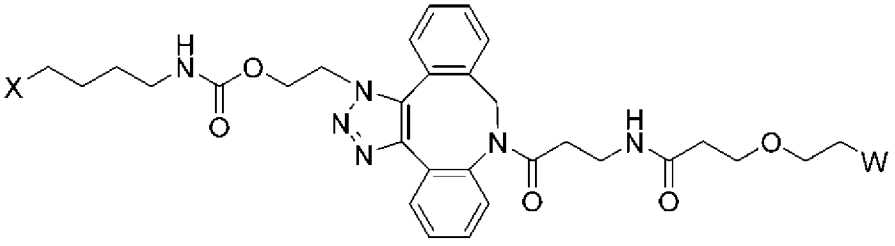
式(II)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 23，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 24，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG5kD]具有式(III)之結構

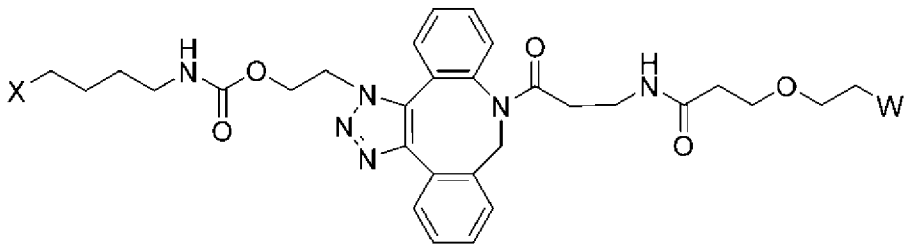


式(III)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 23，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 24，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0007】 本文描述包含SEQ ID NO: 25至29中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG30kD]具有式(II)或式(III)之結構，或為式(II)及式(III)之結構的混合物：



式(II)；

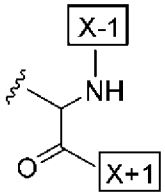


式(III)；

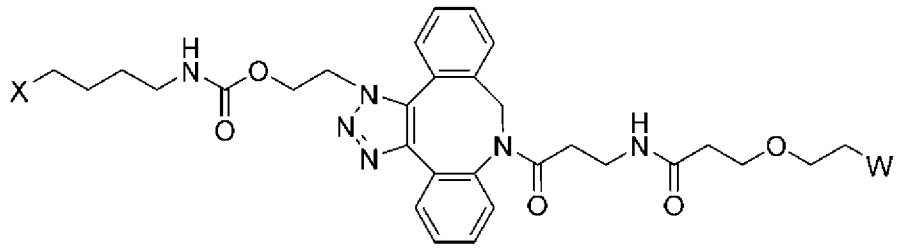
其中：

W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

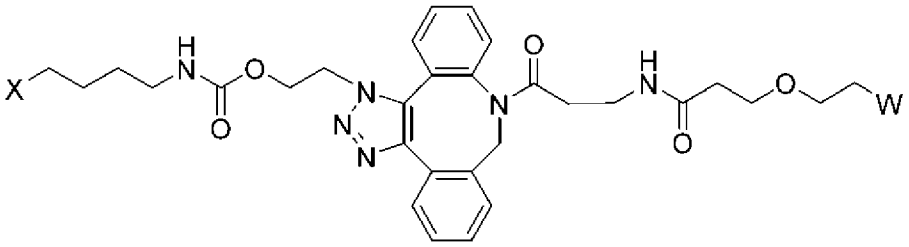
X具有以下結構：



；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 25，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 26，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 27，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 28，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 29，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG30kD]具有式(II)之結構：



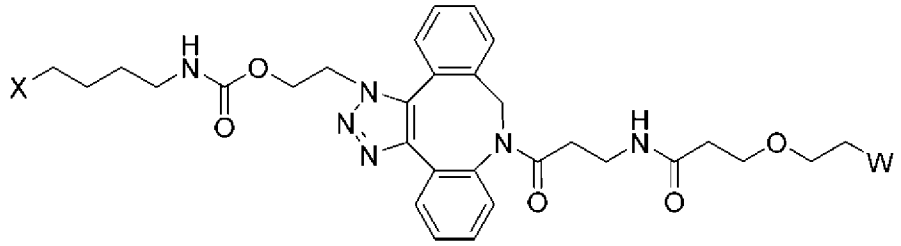
式(II)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 25，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 26，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 27，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 28，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 29，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_PEG30kD]具有式(III)之結構



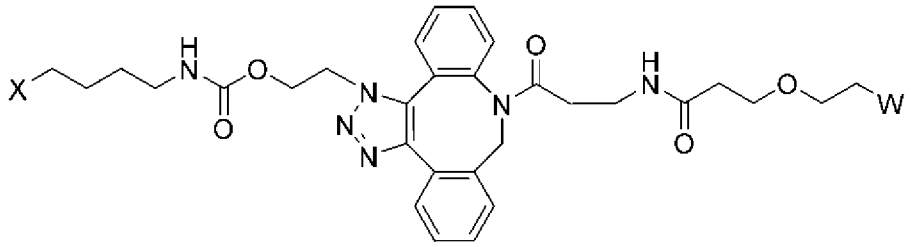
式(III)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 25，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 26，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結

合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 27，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 28，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 29，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0008】 本文描述包含SEQ ID NO: 15至19中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG]為式(II)及式(III)之結構的混合物：



式(II)；

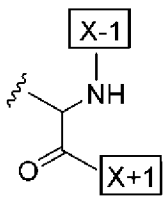


式(III)；

其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

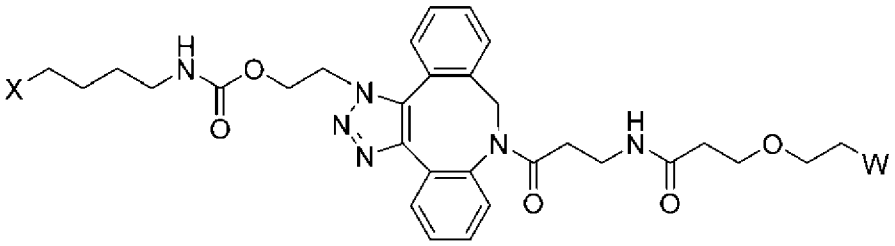
X具有以下結構：



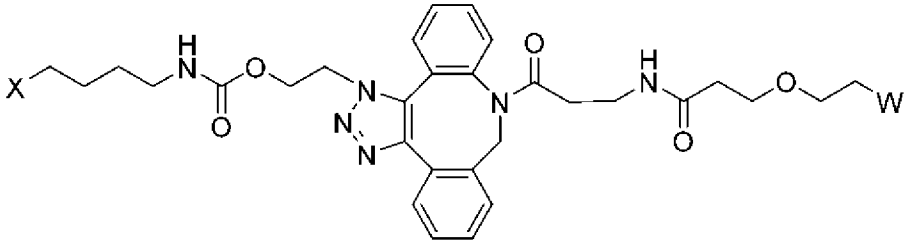
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文

所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率低於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為直鏈或分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為直鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為甲氧基PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0009】 本文描述包含SEQ ID NO: 20至24中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG5kD]為式(II)及式(III)之結構的混合物：



式(II)；

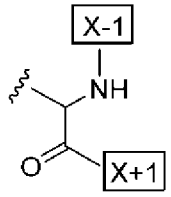


式(III)；

其中：

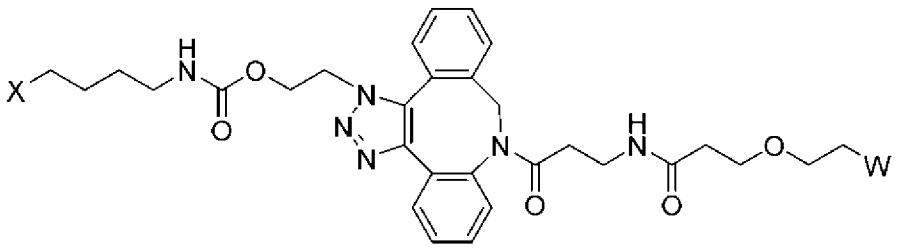
W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：

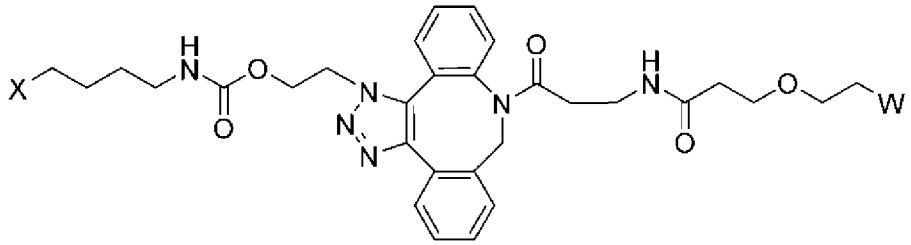


；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG5kD]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG5kD]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG5kD]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率低於1:1。

【0010】 本文描述包含SEQ ID NO: 25至29中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG30kD]為式(II)及式(III)之結構的混合物：



式(II)；

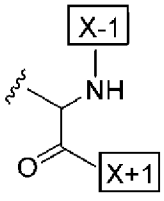


式(III)；

其中：

W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

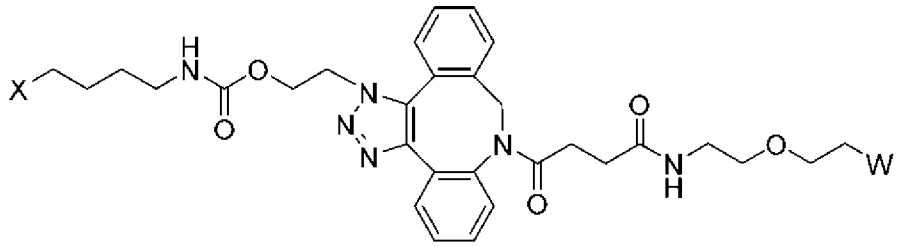
X具有以下結構：



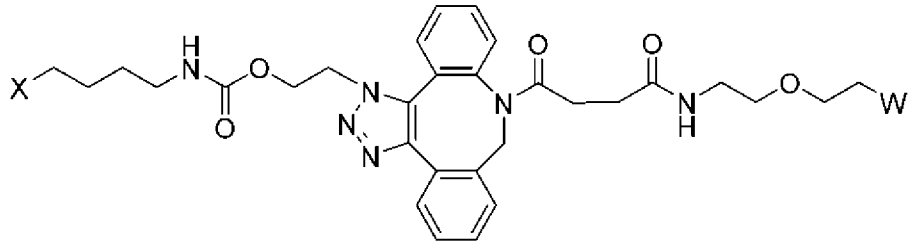
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG30kD]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG30kD]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_PEG30kD]之總量的式(II)之結構之量與式(III)之結構之量的比率低於1:1。

【0011】 本文描述包含SEQ ID NO: 40至44中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)之結構，或式

(IV)及式(V)之混合物：



式(IV)；

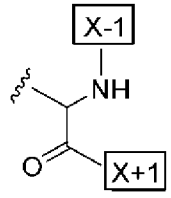


式(V)；

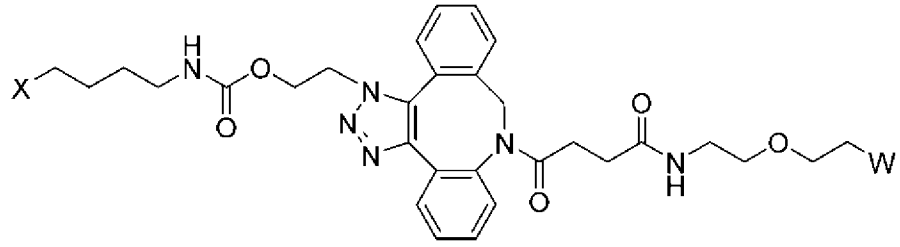
其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]為式(IV)及式(V)之混合物，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]具有式(IV)之結構：

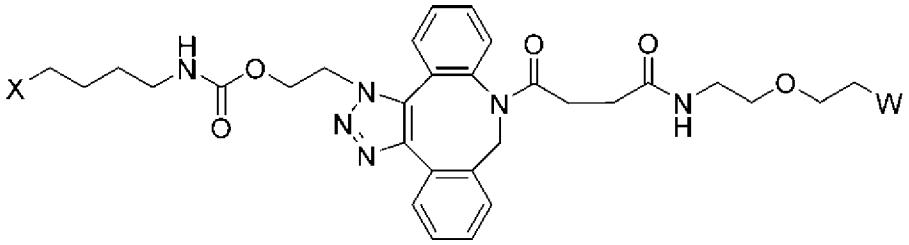


式(IV)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所

述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 40，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 41，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 42，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25

kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 43，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 44，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之

IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]具有式(V)之結構



【0012】 式(V)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 40，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 41，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、

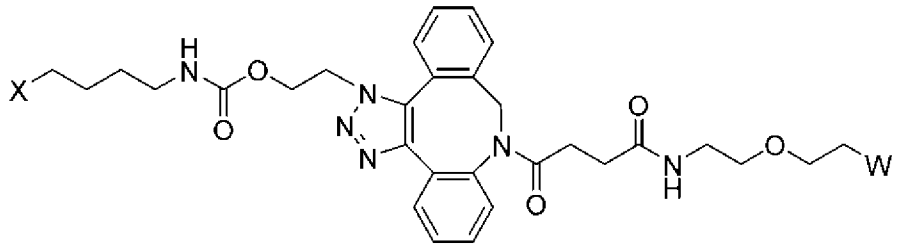
溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 42，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 43，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa

之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 44，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為5 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為平均分子量為30 kDa之PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為直鏈或分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為直鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為甲氧基PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基

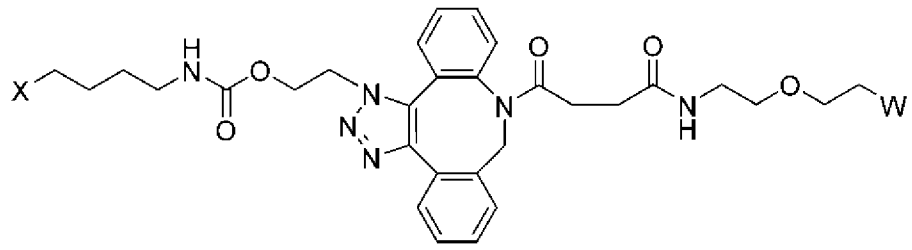
團為分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為5kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為10kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為15kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為20kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為25kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為30kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為35kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分

子量為40kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為45kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為50kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量為60kDa之PEG基團。在具有選自SEQ ID NO: 40、41、42、43及44中之任一者之胺基酸序列的本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG]含有平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團，其中PEG基團為甲氧基PEG基團、直鏈甲氧基PEG基團或分支鏈甲氧基PEG基團。

【0013】 本文描述包含SEQ ID NO: 45至49中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG5kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或式(IV)及式(V)之混合物：



式(IV)；

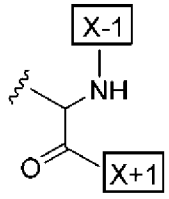


式(V)；

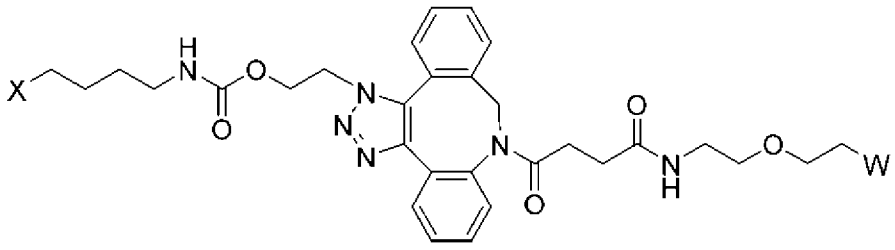
其中：

W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：

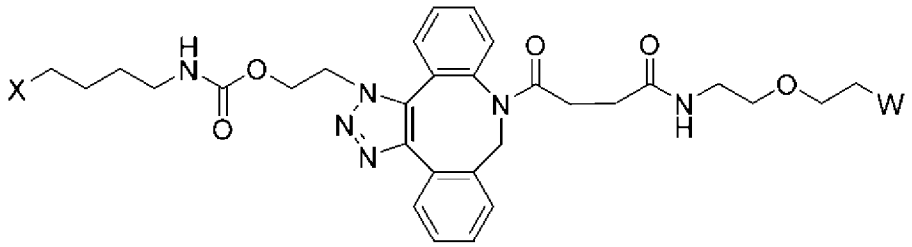


；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 45，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 46，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 47，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 48，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 49，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG5kD]具有式(IV)之結構



式(IV)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID

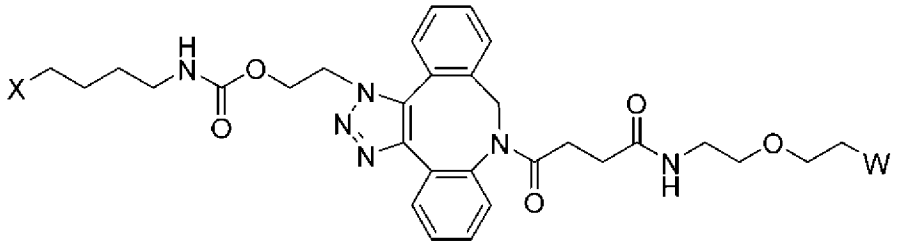
NO: 45，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 46，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 47，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 48，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 49，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG5kD]具有式(V)之結構



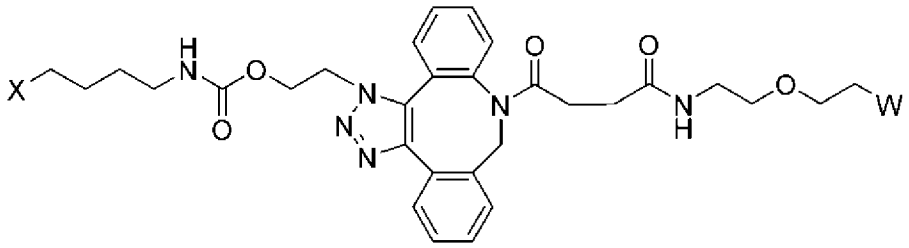
式(V)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 45，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 46，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 47，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 48，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 49，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑

合物或水合物。

【0014】 本文描述包含SEQ ID NO: 50至54中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG30kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或為式(IV)及式(V)之結構的混合物：



式(IV)；

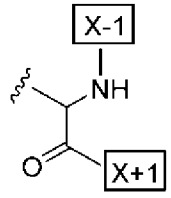


式(V)；

其中：

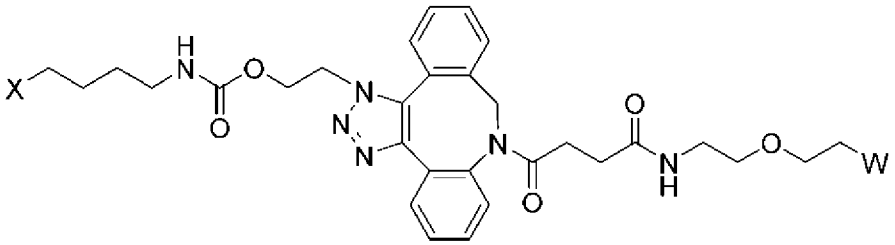
W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：

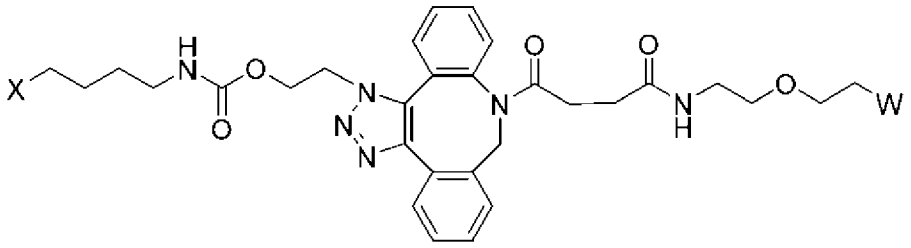


；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 50，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 51，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 52，或其

醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 53，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 54，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG30kD]具有式(IV)之結構：

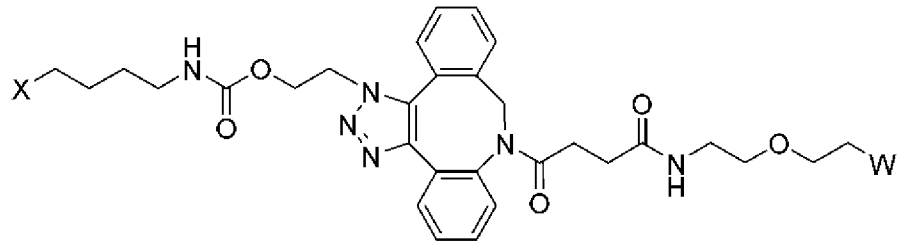


式(IV)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 50，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 51，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 52，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 53，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 54，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，[AzK_L1_PEG30kD]具有式(V)之結構

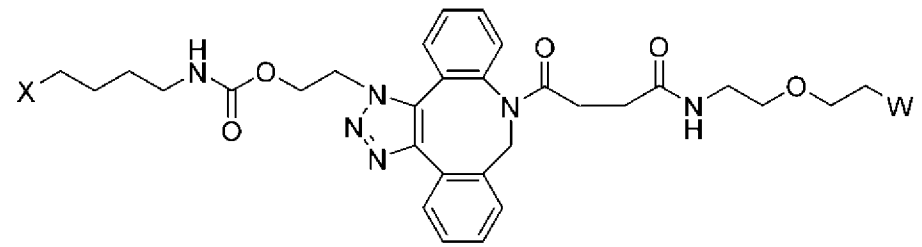


式(V)；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 50，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 51，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 52，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 53，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物具有胺基酸序列SEQ ID NO: 54，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0015】 本文描述包含SEQ ID NO: 40至44中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[Azk_L1_PEG]為式(IV)及式(V)之結構的混合物：



式(IV)；

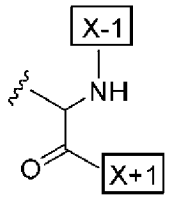


式(V)；

其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

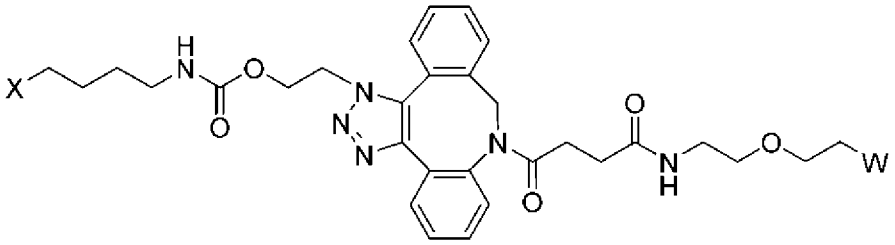
X具有以下結構：



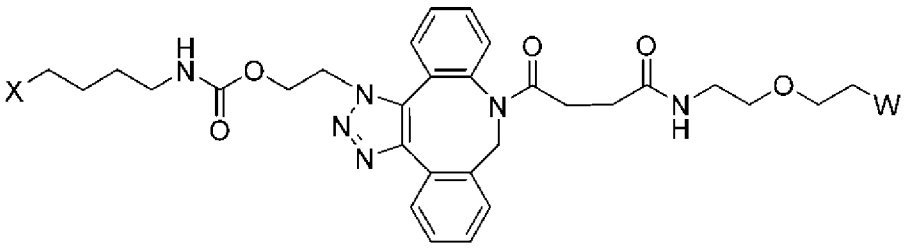
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率低於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為直鏈或分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為直鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為分支鏈PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，W為甲氧基PEG基團，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為直鏈的，或其醫藥學

上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，甲氧基PEG基團為分支鏈的，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0016】 本文描述包含SEQ ID NO: 45至49中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG5kD]為式(IV)及式(V)之結構的混合物：



式(IV)；

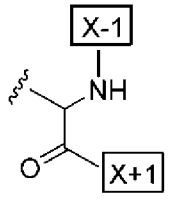


式(V)；

其中：

W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

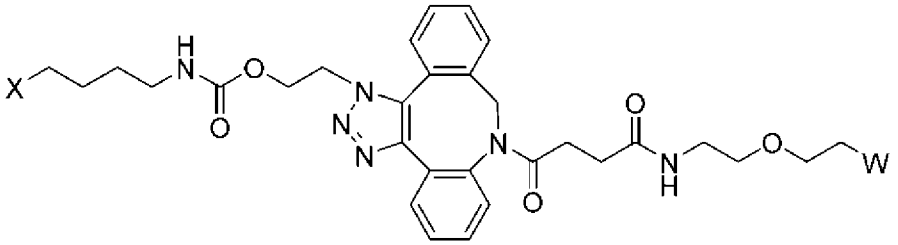
X具有以下結構：



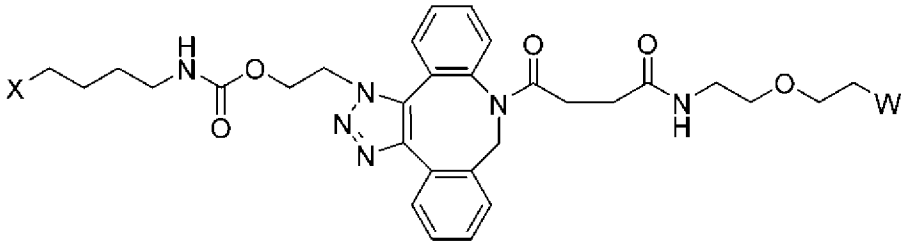
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG5kD]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含

[AzK_L1_PEG5kD]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG5kD]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率低於1:1。

【0017】 本文描述包含SEQ ID NO: 50至54中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG30kD]為式(IV)及式(V)之結構的混合物：



式(IV)；

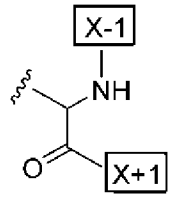


式(V)；

其中：

W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

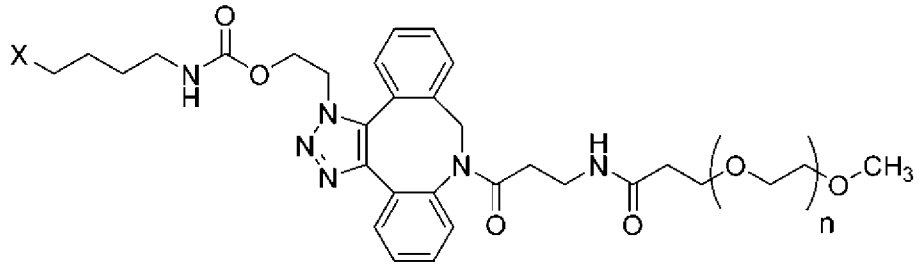
X具有以下結構：



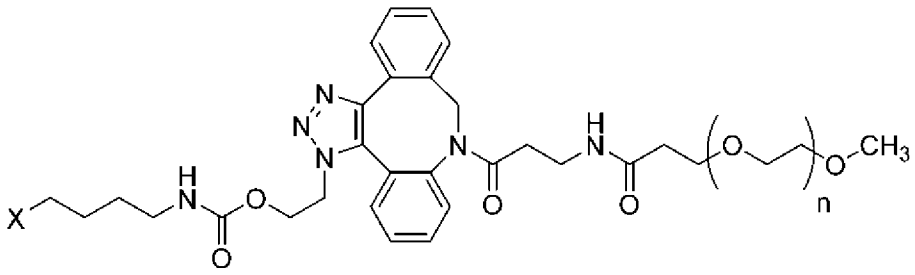
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG30kD]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比

率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG30kD]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，IL-2結合物中之包含[AzK_L1_PEG30kD]之總量的式(IV)之結構之量與式(V)之結構之量的比率低於1:1。

【0018】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換：



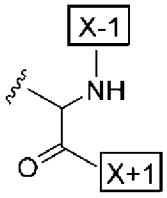
式(VI)



式(VII)

其中：

n為在約2至約5000範圍內之整數；及

X具有以下結構：，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n在以下範圍內：約5至約4600、或約10至約4000、或約20至約

3000、或約100至約3000、或約100至約2900、或約150至約2900、或約125至約2900、或約100至約2500、或約100至約2000、或約100至約1900、或約100至約1850、或約100至約1750、或約100至約1650、或約100至約1500、或約100至約1400、或約100至約1300、或約100至約1250、或約100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、

2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構，或式(VI)及(VII)之混合物在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 3中之位置。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構，或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構，或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K34處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構，或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F41處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構，或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F43處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K42處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E61處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置P64處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ

ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置R37處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置T40處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E67處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置Y44處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置V68處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)及(VII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置L71處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(VI)之結構之量與式(VII)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(VI)之結構之量與式(VII)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(VI)之結構之量與式(VII)之結構之量的比率低於1:1。

【0019】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，及其中n為以下之整數：100至約1150、或約100至約

1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。

【0020】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺

基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，及其中n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及1249。

【0021】在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0022】在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

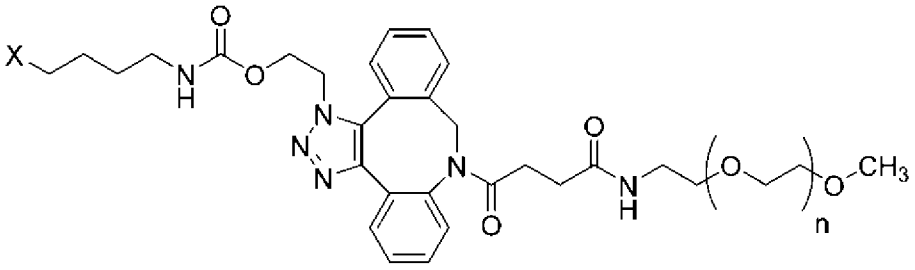
【0023】在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3

之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

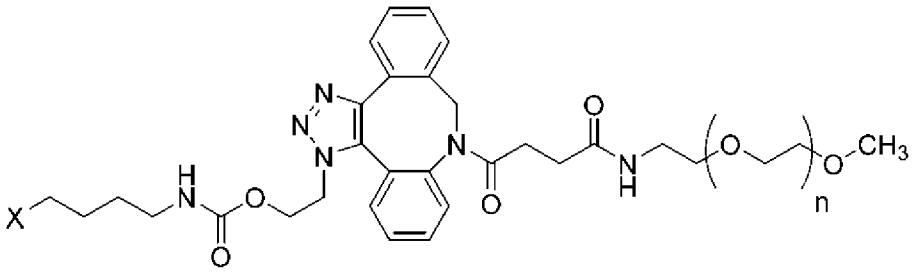
【0024】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量在以下範圍內之整數：約1,000道爾頓至約200,000道爾頓、或約2,000道爾頓至約150,000道爾頓、或約3,000道爾頓至約125,000道爾頓、或約4,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約90,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約80,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約65,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約60,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約35,000

道爾頓、或約9,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約30,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約30,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：約5,000道爾頓約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約60,000道爾頓、約70,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約100,000道爾頓、約125,000道爾頓、約150,000道爾頓、約175,000道爾頓或約200,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VI)或(VII)之結構或(VI)及(VII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓或約50,000道爾頓。

【0025】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構或(VIII)及(IX)之混合物置換：



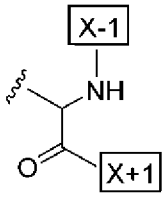
式(VIII)



式(IX)

其中：

n為在約2至約5000範圍內之整數；及

X具有以下結構：，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)及(IX)之化合物中之n在以下範圍內：約5至約4600、或約10至約4000、或約20至約3000、或約100至約3000、或約100至約2900、或約150至約2900、或約125至約2900、或約100至約2500、或約100至約2000、或約100至約1900、或約100至約1850、或約100至約1750、或約100至約1650、或約100至約1500、或約100至約1400、或約100至約1300、或約100至約1250、或約100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約

100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)及(IX)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 3中之位

置。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K34處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F41處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F43處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K42處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E61處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置P64處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置R37處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置T40處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO:

3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E67處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置Y44處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置V68處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)、式(IX)之結構，或式(VIII)及(IX)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置L71處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(VIII)之結構之量與式(IX)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(VIII)之結構之量與式(IX)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(VIII)之結構之量與式(IX)之結構之量的比率低於1:1。

【0026】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，及其中n為以下之整數：100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341

至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)及(IX)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。

【0027】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)及(IX)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及

1249。

【0028】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)及(IX)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0029】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VIII)及(IX)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

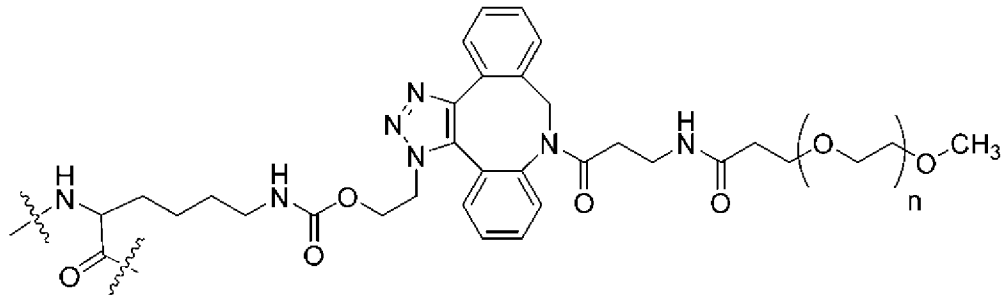
【0030】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一

些實施例中，式(VIII)及(IX)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

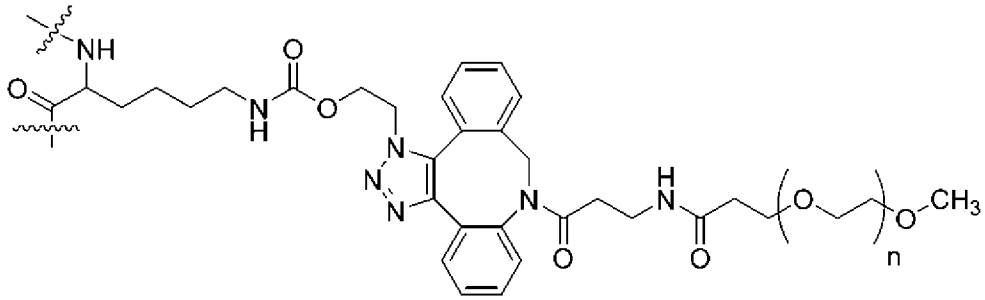
【0031】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量在以下範圍內之整數：約1,000道爾頓至約200,000道爾頓、或約2,000道爾頓至約150,000道爾頓、或約3,000道爾頓至約125,000道爾頓、或約4,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約90,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約80,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約65,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約60,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約30,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約

10,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約30,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約60,000道爾頓、約70,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約100,000道爾頓、約125,000道爾頓、約150,000道爾頓、約175,000道爾頓或約200,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(VIII)或(IX)之結構或(VIII)及(IX)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓或約50,000道爾頓。

【0032】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構或(X)及(XI)之混合物置換：



式(X)



式(XI)

其中：

n為在約2至約5000範圍內之整數；及

波浪線表示與SEQ ID NO: 3內未經置換之胺基酸殘基的共價鍵，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0033】 在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的、富集(R)、富集(S)、實質上(R)、實質上(S)、(R)或(S)。在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的。在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為富集(R)。在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為富集(S)。在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為實質上(R)。在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為實質上(S)。在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為(R)。在一些實施例中，式(X)及式(XI)內之對掌性中心之立體化學為(S)。

【0034】 在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之化合物中之n在以下範圍內：約5至約4600、或約10至約4000、或約20至約3000、或約100至約3000、或約100至約2900、或約150至約2900、或約125至約2900、或約100至約2500、或約100至約2000、或約100至約1900、或約100至約1850、或約100至約1750、或約100至約1650、或約100至約1500、或約100至約1400、或約100至約1300、或約100至約1250、或約100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、

1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 3中之位置。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K34處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F41處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F43處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K42處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E61處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置P64處。在本文所述之IL-2結合物的

一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置R37處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置T40處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E67處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置Y44處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置V68處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之結構或式(X)及(XI)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置L71處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(X)之結構之量與式(XI)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(X)之結構之量與式(XI)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(X)之結構之量與式(XI)之結構之量的比率低於1:1。

【0035】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構，或(X)及(XI)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，及其中n為以下之整數：100至約1150、或約100至約

1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(VI)及(VII)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。

【0036】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構，或(X)及(XI)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺

基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及1249。

【0037】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構，或(X)及(XI)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0038】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構，或(X)及(XI)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0039】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)

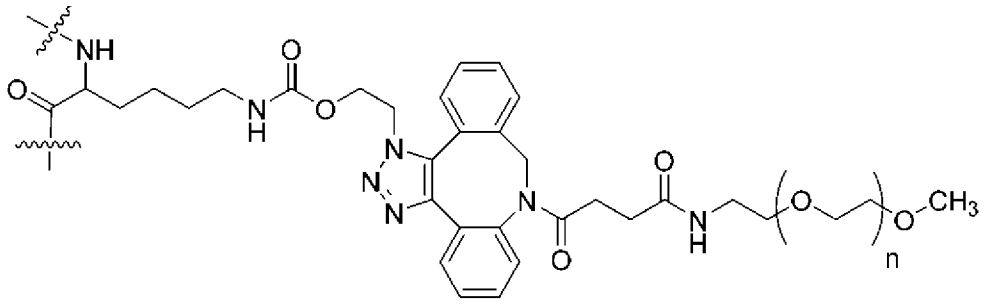
之結構，或(X)及(XI)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(X)及(XI)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0040】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構或(X)及(XI)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量在以下範圍內之整數：約1,000道爾頓至約200,000道爾頓、或約2,000道爾頓至約150,000道爾頓、或約3,000道爾頓至約125,000道爾頓、或約4,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約90,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約80,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約65,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約60,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約35,000道爾

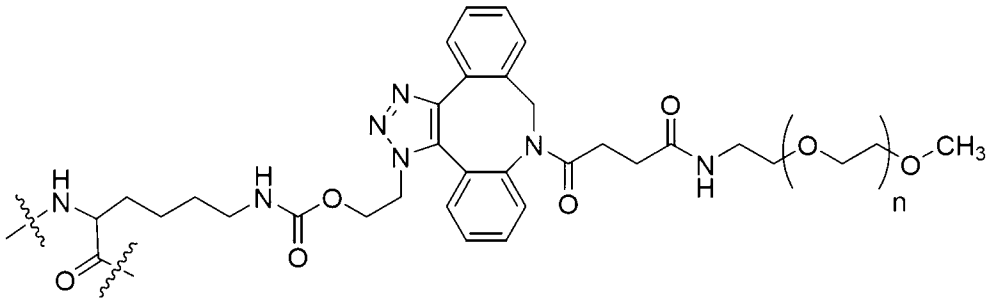
頓、或約9,500道爾頓至約30,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約30,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構或(X)及(XI)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約60,000道爾頓、約70,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約100,000道爾頓、約125,000道爾頓、約150,000道爾頓、約175,000道爾頓或約200,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(X)或(XI)之結構或(X)及(XI)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓或約50,000道爾頓。

【0041】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其

中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構或(XII)及(XIII)之混合物置換：



式(XII)



式(XIII)

其中：

n為在約2至約5000範圍內之整數；及

波浪線表示與SEQ ID NO: 3內未經置換之胺基酸殘基的共價鍵，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0042】 在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的、富集(R)、富集(S)、實質上(R)、實質上(S)、(R)或(S)。在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的。在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌性中心之立體化學為富集(R)。在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌性中心之立體化學為富集(S)。在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌性中心之立體化學為實質上(R)。在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌

性中心之立體化學為實質上(S)。在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌性中心之立體化學為(R)。在一些實施例中，式(XII)及式(XIII)內之對掌性中心之立體化學為(S)。

【0043】 在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及式(XIII)之化合物中之n在以下範圍內：約5至約4600、或約10至約4000、或約20至約3000、或約100至約3000、或約100至約2900、或約150至約2900、或約125至約2900、或約100至約2500、或約100至約2000、或約100至約1900、或約100至約1850、或約100至約1750、或約100至約1650、或約100至約1500、或約100至約1400、或約100至約1300、或約100至約1250、或約100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及式(XIII)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、

341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 3中之位置。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K34處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F41處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F43處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K42處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施

例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E61處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置P64處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置R37處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置T40處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E67處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置Y44處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置V68處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及(XIII)之結構或式(XII)及(XIII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置L71處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XII)之結構之量與式(XIII)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XII)之結構之量與式(XIII)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XII)之結構之量與式(XIII)之結構之量的比率低於1:1。

【0044】在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構，或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，及其中n為以下之整數：100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及式(XIII)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、

2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。

【0045】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構，或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及式(XIII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及1249。

【0046】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構，或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及式(XIII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0047】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構，或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中n為約450至約800、或約454至約796、

或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及式(XIII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

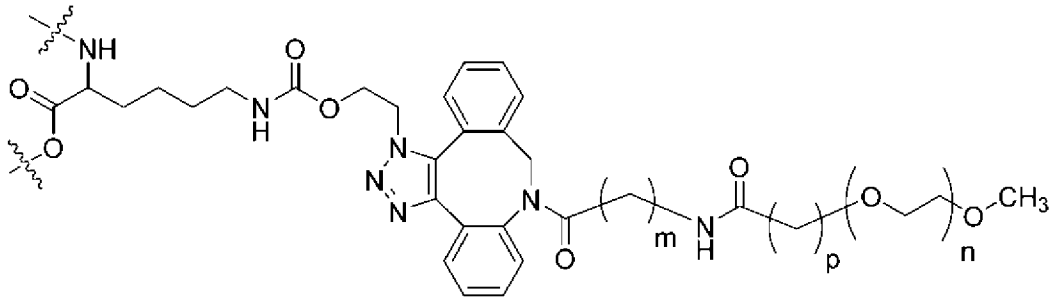
【0048】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構，或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XII)及式(XIII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0049】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量在以下範圍內之整數：約1,000道爾頓至約200,000道爾頓、或約2,000道爾頓至約150,000道爾頓、或約3,000道爾頓至約125,000道爾頓、或約4,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約90,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約80,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約65,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約60,000道爾頓、或約5,000

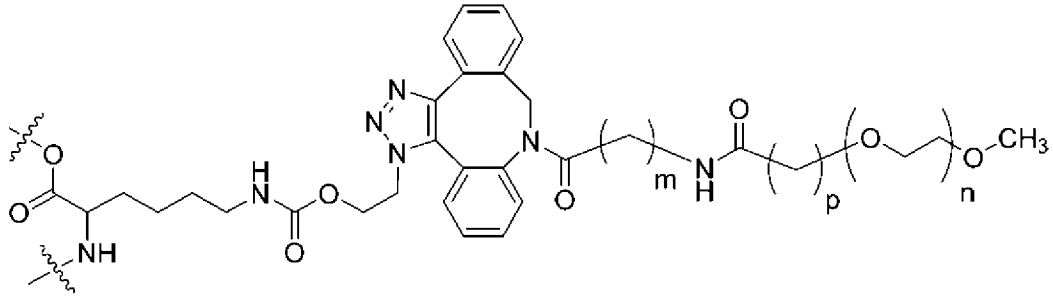
道爾頓至約50,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約30,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約30,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約60,000道爾頓、約70,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約100,000道爾頓、約125,000道爾頓、約150,000

道爾頓、約175,000道爾頓或約200,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XII)或(XIII)之結構或(XII)及(XIII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓或約50,000道爾頓。

【0050】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構或(XIV)及(XV)之混合物置換：



式(XIV)



式(XV)

其中：

m為0至20之整數；

p為0至20之整數；

n為在約2至約5000範圍內之整數；及

波浪線表示與SEQ ID NO: 3內未經置換之胺基酸殘基的共價鍵，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0051】 在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的、富集(R)、富集(S)、實質上(R)、實質上(S)、(R)或(S)。在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的。在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為富集(R)。在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為富集(S)。在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為實質上(R)。在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為實質上(S)。在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為(R)。在一些實施例中，式(XIV)及式(XV)內之對掌性中心之立體化學為(S)。

【0052】 在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為0至20、或0至18、或0至16、或0至14、或0至12、或0至10、或0至9、或0至8、或0至7、或0至6、或0至5、或0至4、或0至3、或0至2。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為0。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為2。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為3。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為4。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為5。在本文所述之

IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為6。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為7。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為8。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為9。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為10。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為11。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為12。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為13。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為14。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為15。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為16。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為17。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為18。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為19。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為20。

【0053】在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為0至20、或0至18、或0至16、或0至14、或0至12、或0至10、或0至9、或0至8、或0至7、或0至6、或0至5、或0至4、或0至3、或0至2。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為0。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，

式(XIV)及(XV)之化合物中之p為2。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為3。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為4。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為5。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為6。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為7。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為8。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為9。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為10。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為11。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為12。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為13。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為14。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為15。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之m為16。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為17。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為18。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為19。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之p為20。

【0054】在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之n在以下範圍內：約5至約4600、或約10至約4000、或

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

【0055】 在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為0至6之整數，p為0至6之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為1至6之整數，p為1至6之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、

681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2至6之整數，p為2至6之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2至4之整數，p為2至4之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為1，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為3，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為4，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、

681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為5，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為6，p為2，及n為選自以下之整數113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為7，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為8，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為9，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為10，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、

909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為11，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為11，p為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，p為2，及n為選自以下之整數：680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。

【0056】在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、

R37、T40、E67、Y44、V68及L71，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 3中之位置。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K34處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F41處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F43處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K42處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E61處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置P64處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置R37處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置T40處。在本文所述之

IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E67處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置Y44處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置V68處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之結構或式(XIV)及(XV)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置L71處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XIV)之結構之量與式(XV)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XIV)之結構之量與式(XV)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XIV)之結構之量與式(XV)之結構之量的比率低於1:1。

【0057】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，及其中n為以下之整數：100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約

230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。

【0058】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之

n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及1249。

【0059】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0060】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0061】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO:

3中的胺基酸殘基為P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XIV)及(XV)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0062】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量在以下範圍內之整數：約1,000道爾頓至約200,000道爾頓、或約2,000道爾頓至約150,000道爾頓、或約3,000道爾頓至約125,000道爾頓、或約4,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約90,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約80,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約65,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約60,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約30,000道爾頓、或約10,000道爾頓

至約50,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約30,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約60,000道爾頓、約70,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約100,000道爾頓、約125,000道爾頓、約150,000道爾頓、約175,000道爾頓或約200,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓或約50,000道爾頓。

【0063】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3

之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，m為0至6之整數，p為0至6之整數，及n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，p為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及1249。

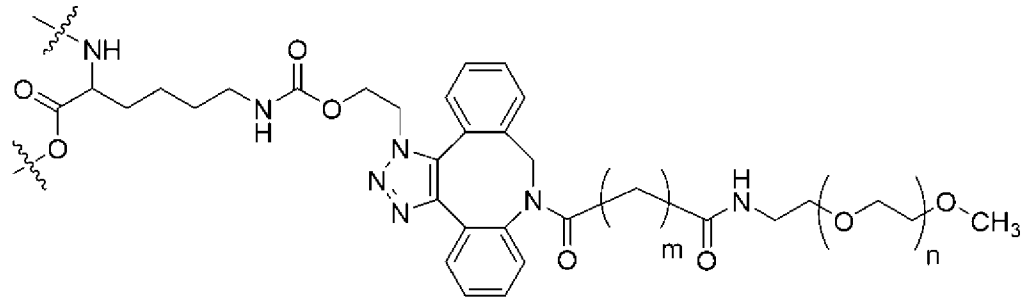
【0064】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中m為0至6之整數，p為0至6之整數，及n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，p為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0065】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中m為0至6之整數，p為0至6之整數，及n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，p為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、

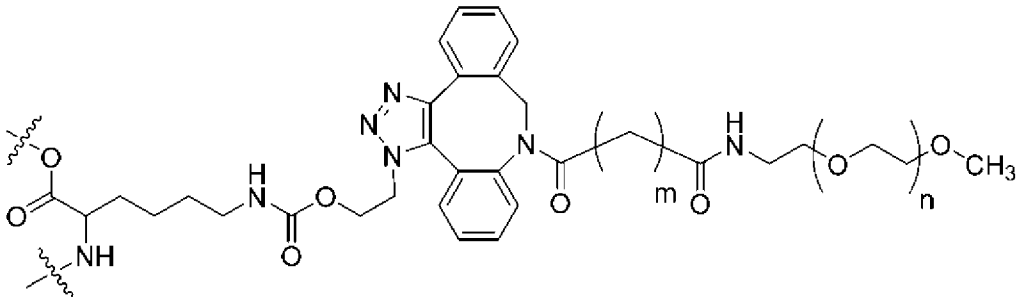
569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0066】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XIV)或(XV)之結構，或(XIV)及(XV)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為P64，及其中m為0至6之整數，p為0至6之整數，及n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XIV)及(XV)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，p為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0067】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構或(XVI)及(XVII)之混合物置換：



式(XVI)



式(XVII)

其中：

m為0至20之整數；

n為在約2至約5000範圍內之整數；及

波浪線表示與SEQ ID NO: 3內未經置換之胺基酸殘基的共價鍵，或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【0068】 在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的、富集(R)、富集(S)、實質上(R)、實質上(S)、(R)或(S)。在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為外消旋的。在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為富集(R)。在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為富集(S)。在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為實質上(R)。在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為實質上(S)。在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為(R)。在一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)內之對掌性中心之立體化學為(S)。

【0069】 在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為0至20、或0至18、或0至16、或0至14、或0至12、或0至10、或0至9、或0至8、或0至7、或0至6、或0至5、或0至4、或

0至3、或0至2。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為0。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為2。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為3。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為4。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為5。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為6。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為7。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為8。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為9。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為10。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為11。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為12。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為13。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為14。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為15。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為16。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為17。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為18。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合

物中之m為19。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之m為20。

【0070】在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之化合物中之n在以下範圍內：約5至約4600、或約10至約4000、或約20至約3000、或約100至約3000、或約100至約2900、或約150至約2900、或約125至約2900、或約100至約2500、或約100至約2000、或約100至約1900、或約100至約1850、或約100至約1750、或約100至約1650、或約100至約1500、或約100至約1400、或約100至約1300、或約100至約1250、或約100至約1150、或約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。

【0071】在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為0至6之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、

795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為1至6之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2至6之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2至4之整數，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為1，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為3，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、

1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為4，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為5，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為6，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為7，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為8，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為9，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本

文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為10，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為11，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為12，及n為選自以下之整數：113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，及n為選自以下之整數：680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137。

【0072】 在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。在本文所述之IL-2結合

物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，其中式(I)結構在IL-2結合物之胺基酸序列中的位置參考SEQ ID NO: 3中之位置。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K34處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F41處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置F43處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置K42處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E61處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置P64處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在

位置R37處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置T40處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置E67處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置Y44處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置V68處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及(XVII)之結構或式(XVI)及(XVII)之混合物在SEQ ID NO: 3之IL-2結合物之胺基酸序列中的位置在位置L71處。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XVI)之結構之量與式(XVII)之結構之量的比率為約1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XVI)之結構之量與式(XVII)之結構之量的比率大於1:1。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，包含IL-2結合物之總量的式(XVI)之結構之量與式(XVII)之結構之量的比率低於1:1。

【0073】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68及L71，及其中n為以下之整數：100至約1150、或

約100至約1100、或約100至約1000、或約100至約900、或約100至約750、或約100至約700、或約100至約600、或約100至約575、或約100至約500、或約100至約450、或約100至約350、或約100至約275、或約100至約230、或約150至約475、或約150至約340、或約113至約340、或約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約340至約795、或約341至約682、或約568至約909、或約227至約1500、或約225至約2280、或約460至約2160、或約460至約2050、或約341至約1820、或約341至約1710、或約341至約1250、或約225至約1250、或約341至約1250、或約341至約1136、或約341至約1023、或約341至約910、或約341至約796、或約341至約682、或約341至約568、或約114至約1000、或約114至約950、或約114至約910、或約114至約800、或約114至約690、或約114至約575。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)之化合物中之n為選自以下之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545及4546。

【0074】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID

NO: 3中的胺基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及1249。

【0075】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0076】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0077】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為P64，及其中n為約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909之整數。在本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，式(XVI)及式(XVII)之化合物中之n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0078】 本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量在以下範圍內之整數：約1,000道爾頓至約200,000道爾頓、或約2,000道爾頓至約150,000道爾頓、或約3,000道爾頓至約125,000道爾頓、或約4,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約100,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約90,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約80,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約70,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約65,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約60,000道爾頓、或約5,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約6,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約7,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約40,000道爾頓、或約8,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約

45,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約35,000道爾頓、或約9,500道爾頓至約30,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約10,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約15,000道爾頓至約30,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約50,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約45,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約40,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約35,000道爾頓、或約20,000道爾頓至約30,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約60,000道爾頓、約70,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約100,000道爾頓、約125,000道爾頓、約150,000道爾頓、約175,000道爾頓或約200,000道爾頓。本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中n為使得PEG部分之分子量為以下之整數：5,000道爾頓、約7,500道爾頓、約10,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約25,000道

爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓或約50,000道爾頓。

【0079】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自F41、F43、K42、E61及P64，m為0至6之整數，及n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137及1249。

【0080】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基選自E61及P64，及其中m為0至6之整數，及n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。

【0081】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為E61，及其中m為0至6之整數，及n為以下之整

數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0082】 在一些實施例中，本文描述包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之IL-2結合物，其中IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(XVI)或(XVII)之結構，或(XVI)及(XVII)之混合物置換，其中經置換之SEQ ID NO: 3中的胺基酸殘基為P64，及其中m為0至6之整數，及n為以下之整數：約450至約800、或約454至約796、或約454至約682、或約568至約909。在式(XVI)及(XVII)之化合物中之本文所述之IL-2結合物的一些實施例中，m為2，及n為選自以下之整數：454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909及910。在一些實施例中，n為約500至約1000。在一些實施例中，n為約550至約800。在一些實施例中，n為約681。

【0083】 本文描述包含有效量之本文所述之IL-2結合物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑的醫藥組合物。

【0084】 本文描述治療個體之癌症之方法，其包含向有需要之個體投與有效量之本文所述之IL-2結合物。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之癌症選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭頸部鱗狀細胞癌(HNSCC)、經典霍奇金淋巴瘤(cHL)、原發性縱隔大B細胞淋巴瘤(PMBCL)、尿道上皮癌、微衛星不穩定癌症、微衛星穩定性

癌症、胃癌、子宮頸癌、肝細胞癌(HCC)、梅克爾細胞癌(MCC)、黑色素瘤、小細胞肺癌(SCLC)、食道癌、神經膠母細胞瘤、間皮瘤、乳癌、三陰性乳癌、前列腺癌、去勢抵抗性前列腺癌、轉移性去勢抵抗性前列腺癌、具有DNA損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢抵抗性前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度突變負荷至低突變負荷之腫瘤、皮膚鱗狀細胞癌(CSCC)、鱗狀細胞皮膚癌(SCSC)、低表現至不表現PD-L1之腫瘤、全身性擴散至肝臟及CNS原發性解剖起始位點之外的腫瘤，及彌漫性大B細胞淋巴瘤。本文描述治療個體之癌症之方法，其包含向有需要之個體投與有效量之本文所述之IL-2結合物。在治療本文所述之癌症之方法的一些實施例中，個體之癌症為膽管癌。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之癌症選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、尿道上皮癌及黑色素瘤。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向有需要之個體投與IL-2結合物每兩週一次、每三週一次、每4週一次、每5週一次、每6週一次、每7週一次或每8週一次。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向有需要之個體投與IL-2結合物每週一次或每兩週一次。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向有需要之個體投與IL-2結合物每週一次。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向有需要之個體投與IL-2結合物每兩週一次。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之血管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級、3級或4級血管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級血管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的

一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之3級血管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之4級血管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之血管緊張性損失。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之血漿蛋白質及流體外滲至血管外空間。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之低血壓及器官灌注減少。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之嗜中性白血球功能減弱。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之趨化性減少。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物並不伴隨有個體之擴散性感染之風險增加。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，擴散性感染為敗血症或細菌心內膜炎。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，擴散性感染為敗血症。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，擴散性感染為細菌心內膜炎。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，在投與IL-2結合物之前，治療個體之任何預先存在的細菌感染。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，在投與IL-2結合物之前，個體經選自以下之抗細菌劑治療：苯唑西林(oxacillin)、萘夫西林(nafcillin)、環丙沙星(ciprofloxacin)及萬古黴素(vancomycin)。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會加重個體之自體免疫疾病或發炎病症之預先存在或初始表現。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個

體投與有效量之IL-2結合物不會加重個體之自體免疫疾病之預先存在或初始表現。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會加重個體之發炎病症之預先存在或初始表現。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症選自克隆氏病、硬皮病、甲狀腺炎、發炎性關節炎、糖尿病、眼球重症肌無力、新月形IgA絲球體腎炎、膽囊炎、大腦血管炎、史蒂芬斯-強森症候群(Stevens-Johnson syndrome)及大皰性類天疱瘡(bullous pemphigoid)。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為克隆氏病。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為硬皮病。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為甲狀腺炎。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為發炎性關節炎。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為糖尿病。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為眼球重症肌無力。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為新月形IgA絲球體腎炎。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為膽囊炎。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為大腦血管炎。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為史蒂芬斯-強森症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，個體之自體免疫疾病或發炎病症為大皰性類天疱瘡。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之精

神狀態變化、話語困難、皮質失明、肢體或步態運動失調、幻覺、精神激越、反應遲鈍或昏迷。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之癲癇。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，在患有已知癲癇症之個體中未禁止向個體投與有效量之IL-2結合物。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之毛細管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級、3級或4級毛細管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級毛細管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之3級毛細管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之4級毛細管滲漏症候群。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之平均動脈血壓下降。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之低血壓。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體經受收縮血壓低於90 mm Hg或自基線收縮血壓下降20 mm Hg。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之水腫。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之腎臟或肝功能減弱。在本文所述之治療癌症之方

法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之嗜伊紅血球增多。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之周邊血液的嗜伊紅血球計數超過500個/μl。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之周邊血液的嗜伊紅血球計數超過500個/μl至1500個/μl。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之周邊血液的嗜伊紅血球計數超過1500/μL至5000/μL。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後個體之周邊血液的嗜伊紅血球計數超過5000個/μL。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，在精神藥物之現有療法下的個體中未禁止向個體投與有效量之IL-2結合物。

【0085】在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，在腎毒性、骨髓毒性、心臟毒性或肝毒性之現有療法下的個體中未禁止向個體投與有效量之IL-2結合物。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，在胺基糖苷、細胞毒性化學療法、小紅莓、甲胺喋呤或天冬醯胺酶之現有療法下的個體中未禁止向個體投與有效量之IL-2結合物。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，在接受含有抗腫瘤劑之組合方案的個體中未禁止向個體投與有效量之IL-2結合物。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，抗腫瘤劑選自達卡巴嗪(dacarbazine)、順鉑(cis-platinum)、他莫昔芬(tamoxifen)及干擾素α。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與

IL-2結合物後個體之一或多個4級不良事件。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，一或多個4級不良事件選自體溫過低；休克；心動過緩；室性期外收縮；心肌缺血；暈厥；出血；心房性心律不齊；靜脈炎；第二程度AV阻塞；心內膜炎；心包積液；周邊壞疽；血栓形成；冠狀動脈病症；口腔炎；噁心及嘔吐；肝功能測試異常；胃腸出血；吐血；出血腹瀉；胃腸病症；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少症；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血液尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；呼吸酸中毒；嗜睡；行為激越；神經病；妄想性反應；痙攣；淚液抽搐；譫妄；哮喘、肺水腫；換氣過度；低氧；咯血；換氣不足；氣胸；瞳孔放大；瞳孔病症；腎功能異常；腎衰竭；及急性管壞死。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後超過1%個體之一或多個4級不良事件。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，一或多個4級不良事件選自體溫過低；休克；心動過緩；室性期外收縮；心肌缺血；暈厥；出血；心房性心律不齊；靜脈炎；第二程度AV阻塞；心內膜炎；心包積液；周邊壞疽；血栓形成；冠狀動脈病症；口腔炎；噁心及嘔吐；肝功能測試異常；胃腸出血；吐血；出血腹瀉；胃腸病症；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少症；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血液尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；呼吸酸中毒；嗜睡；行為激越；神經病；妄想性反應；痙攣；淚液抽搐；譫妄；哮喘、肺水腫；換氣過度；低氧；咯血；換氣不足；氣胸；瞳孔放大；瞳孔病症；腎功能異常；腎衰竭；及急性管壞死。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與

IL-2結合物後超過1%個體之一或多個不良事件，其中一或多個不良事件選自十二指腸潰瘍；腸道壞死；心肌炎；室上性心搏過速；繼發於視神經炎之永久性或短暫性失明；短暫局部缺血發作；腦膜炎；腦水腫；心包炎；過敏性間質性腎炎；及氣管-食道瘺。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起向個體投與IL-2結合物後超過1%個體之一或多個不良事件，其中一或多個不良事件選自惡性高血壓；心跳驟停；心肌梗塞；肺栓塞；中風；腸穿孔；肝臟或腎衰竭；嚴重抑鬱症導致自殺；肺水腫；呼吸驟停；呼吸衰竭。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不會產生針對IL-2結合物之中和抗體。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與IL-2結合物增加個體之周邊CD8+T及NK細胞之數目而不增加個體之周邊CD4+調節性T細胞之數目。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與IL-2結合物增加個體之周邊CD8+T及NK細胞之數目而不增加個體之周邊嗜伊紅血球之數目。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與IL-2結合物增加個體之瘤內CD8+T及NK細胞之數目而不增加個體之瘤內CD4+調節性T細胞之數目。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不需要加護設施或在心肺或加護醫學方面的熟練專家。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不需要加護設施。在本文所述之治療癌症之方法的一些實施例中，向個體投與有效量之IL-2結合物不需要在心肺或加護醫學方面的熟練專家。

【圖式簡單說明】

【0086】 本發明之新穎特性在隨附申請專利範圍中細緻闡述。將參

考闡述利用本發明原理之說明性實施例及其附圖的以下詳細描述來獲得對本發明之特性及優勢的更佳理解：

【0087】 **圖1**展示例示性非天然胺基酸。此圖改編自Young等人之圖2，「Beyond the canonical 20 amino acids: expanding the genetic lexicon,」 *J. of Biological Chemistry* **285**(15): 11039-11044 (2010)。

【0088】 **圖2A至圖2B**說明例示性非天然胺基酸。**圖2A**說明例示性離胺酸衍生物。**圖2B**說明例示性苯丙胺酸衍生物。

【0089】 **圖3A至圖3D**說明例示性非天然胺基酸。此等非天然胺基酸(UAA)已基因編碼於蛋白質中(**圖3A**-UAA 1-42號；**圖3B**-UAA 43-89號；**圖3C**-UAA 90-128號；**圖3D**-UAA 129-167號)。圖**3A至3D**改編自Dumas等人, *Chemical Science* 2015, 6, 50-69之表1。

【0090】 **圖4A至圖4C**展示原生IL-2、P65_30kD、P65_5kD、E62_30kD、E62_5kD及F42_30kD PEG結合物之表面電漿子共振(SPR)分析。**圖4A**展示結合至固定IL-2 Rα之IL-2變異體之SPR分析。**圖4B**展示結合至固定IL-2 Rβ之IL-2變異體之SPR分析。**圖4C**展示結合至固定IL-2 Rα及IL-2 Rβ之重組IL-2及IL-2變異體F42_30kD的SPR分析。

【0091】 **圖5A至圖5F**展示人類LRS初級細胞群體中之pSTAT5信號傳導之例示性IL-2變異體劑量反應曲線。**圖5A**：原生IL-2；**圖5B**：P65_30kD；**圖5C**：K64_30kD；**圖5D**：K43_30kD；**圖5E**：K35_30kD，及**圖5F**：F42_30kD。

【0092】 **圖6A至C**展示PEG及殘基取代促成IL-2變異體之無α藥理學。**圖6A**：原生IL-2；**圖6B**：E62K；**圖6C**：E62_30kD。

【0093】 **圖7**展示IL-2變異體之無α藥理學為PEG尺寸非依賴性的。

【0094】 **圖8**展示在向C57BL/6小鼠單次靜脈內快速給藥阿地介白素(aldesleukin) (IL-2)、E62_5、E62_30及P65_30之後相對於時間概況之平均(±SD)血漿濃度。

【0095】 **圖9**展示在向C57BL/6小鼠單次靜脈內快速給藥P65_30或阿地介白素處理之後，周邊血液中相對於時間單元之pSTAT5+ CD8+ T細胞之百分比。

【0096】 **圖10A至圖10C**展示在單次靜脈內快速給藥P65_30或阿地介白素(IL-2)處理之後，PBMC群體中之CD8+ T細胞(**圖10A**)、NK細胞(**圖10B**)及CD4+ Treg細胞(**圖10C**)之百分比。在所指示之時間點經由心臟穿刺抽取血液，且藉由流式細胞測量術評定免疫細胞群體。各資料點表示各時間點之來自3個複本之平均值± SEM。

【0097】 **圖11A至圖11B**展示在單次靜脈內快速給藥P65_30或阿地介白素(IL-2)處理之後，在記憶CD8+CD44+ T細胞在刺激CD3+群體中增殖時P65_30與IL-2 (阿地介白素)之間的差異。在所指示之時間點經由心臟穿刺抽取血液，且藉由流式細胞測量術評定免疫細胞群體。使用不成對學生t測試分析資料。***指示P值<0.001。**圖11A**展示72、96及120小時之記憶CD8+CD44+ T細胞增殖。**圖11B**展示在120小時時間點時彼等細胞之流式細胞測量術分析。

【0098】 **圖12A至圖12B**展示在單次靜脈內快速給藥P65_30處理之後，帶有同系B16F10腫瘤之C57B16小鼠相對於時間之腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)之增加。**圖12A**展示在處理第5天經P65_30處理相對於未經處理(媒劑)動物之NK、CD8+ T及CD4+ Treg細胞之百分比。**圖12B**展示經P65_30處理及對照(媒劑)動物之CD8+/CD4+ Treg細胞之比率。使用不成

對學生t測試分析資料。***指示P值<0.001。

【0099】 **圖13A至圖13B**展示在單次靜脈內快速給藥遞增含量(0.01-5 mg/kg)之P65_30或阿地介白素(IL-2)處理之後，小鼠IL-2、TNF-α、IFNγ、IL-5及IL-6之血漿含量。細胞介素之血漿濃度經由ELISA測定(Abcam, Cambridge, UK)。對於各劑量組，N=3隻小鼠且在給藥後4、34及72 h收集樣品。**圖13A**展示給藥阿地介白素之動物之細胞介素含量及**圖13B**展示給藥P65_30之動物之細胞介素含量。

【0100】 **圖14**展示在向雄性食蟹獼猴單次靜脈內給藥P65_30kD之後，白血球、淋巴細胞及嗜伊紅血球計數(平均值±SD)。

【0101】 **圖15A至圖15B**展示人類LRS初級細胞之pSTAT5信號傳導之例示性IL-2變異體之劑量反應曲線(**圖15A**)小鼠CTLL-2群體之增殖反應(**圖15B**)。

【0102】 **圖16A至圖16B**展示與正常IL-2對照相比，PEG IL-2化合物可在初級淋巴細胞中離體特異性擴增免疫細胞群體。**圖16A**展示經IL-2(對照)處理後之免疫細胞擴增。**圖16B**展示經P65_30kD處理後之免疫細胞擴增。

【0103】 **圖17A至圖17B**展示在IL-2Rα表面上rhIL-2 (重組人類介白素-2，**圖17A**)及合成結合物IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1 (**圖17B**)之結合反應的感測器圖譜。在此等條件下IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1未偵測到顯著結合反應。

【0104】 **圖17C及圖17D**展示結合至IL-2R β表面之rhIL-2 (重組人類介白素-2，**圖17C**)及合成結合物IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1 (**圖17D**)樣品之感測器圖譜。

【0105】 **圖18**展示Treg之流式細胞測量術細胞分選之門控策略。首先藉由FSC-H使用FSC-A將細胞門控在單峰上，以排除任何聚集體或二重峰(單峰門，第1組)。在此門內，將細胞門控在中間至高正向散射(FSC-A)及側面散射(SSC-A)，以排除紅血球、碎片及粒細胞(淋巴細胞門，第2組)。隨後將T細胞門控成CD3+，CD56/16陰性群體第3組。NK細胞鑑別為CD3陰性、CD56/16高群體，第3組。隨後將T細胞分成CD4+ T細胞及CD8+T細胞(第4組)。接著自CD4+ T細胞將Treg門控成$CD25^{hi}$×$C127^{lo}$群體，第5組。

【0106】**圖 19** 展示三種濃度之化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1在人類血清中直至168小時之穩定性，如實例15所述。

【實施方式】

交叉引用

【0107】 本申請案主張申請於2019年2月6日之美國臨時專利申請案第62/802,191號、申請於2019年5月14日之美國臨時專利申請案第62/847,844號、2019年7月3日申請之美國臨時專利申請案第62/870,581號、2019年9月11日申請之美國臨時專利申請案第62/899,035號及2019年11月25日申請之美國臨時專利申請案第62/940,173號的權利，其全部以全文引用之方式併入本文中。

序列表

【0108】 本申請案含有序列表，該序列表已以ASCII格式以電子方式提交且其全文以引用的方式併入本文中。2020年2月4日創建之該ASCII複本名稱為46085-729_851_SL.txt及大小為124,806個位元組。

【0109】 細胞介素包含細胞信號傳導蛋白質家族，諸如趨化介素、干擾素、介白素、淋巴介質、腫瘤壞死因子及在先天性及適應性免疫細胞恆定中起作用之其他生長因子。細胞介素藉由諸如巨噬細胞、B淋巴細胞、T淋巴細胞及肥大細胞、內皮細胞、成纖維細胞及不同基質細胞之免疫細胞產生。在一些情況下，細胞介素調節體液與基於細胞之免疫反應之間的平衡。

【0110】 介白素為信號傳導蛋白質，調節T及B淋巴細胞、單核球性譜系之細胞、嗜中性白血球、嗜鹼性球、嗜伊紅血球、巨核細胞及造血細胞之發育及分化。介白素藉由輔助CD4 T及B淋巴細胞、單核細胞、巨噬細胞、內皮細胞及其他組織常駐物產生。

【0111】 介白素2 (IL-2)為結構包含15.5 kDa四α螺旋束之多效性第1型細胞介素。IL-2之前驅體形式長度為153個胺基酸殘基，其中前20個胺基酸形成信號肽且殘基21至153形成成熟形式。IL-2主要在抗原刺激後由CD4+ T細胞，且較小程度藉由CD8+細胞、自然殺手(NK)細胞及自然殺手T (NKT)細胞、活化樹突狀細胞(DC)及肥大細胞產生。IL-2信號傳導經由與IL-2受體(IL-2R)次單元、IL-2Rα (亦稱為CD25)、IL-2Rβ (亦稱為CD122)及IL-2Rγ (亦稱為CD132)之特定組合相互作用發生。IL-2與IL-2Rα之相互作用形成具有約10^{-8} M之K_d的「低親和力」IL-2受體複合物。IL-2與-2Rβ及IL-2Rγ之相互作用形成具有約10^{-9} M之K_d的「中等親和力」IL-2受體複合物。IL-2與所有三個次單元IL-2Rα、IL-2Rβ及IL-2Rγ之相互作用形成具有約>10^{-11} M之K_d的「高親和力」IL-2受體複合物。

【0112】 在一些情況下，經由「高親和力」IL-2Rαβγ複合物之IL-2信號傳導調節調節性T細胞之活化及增殖。調節性T細胞或

$CD4^+CD25^+Foxp3^+$調節性T (Treg)細胞藉由抑制諸如$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、B細胞、NK細胞及NKT細胞之效應細胞介導免疫穩態之維持。在一些情況下，Treg細胞由胸腺產生(tTreg細胞)或由周邊中之天然T細胞(pTreg細胞)誘導。在一些情況下，Treg細胞視為具有周邊耐受性之介體。實際上，在一個研究中，不含CD25之周邊$CD4^+$ T細胞之轉移在裸小鼠中產生多種自體免疫性疾病，然而$CD4^+CD25^+$ T細胞之共轉移抑制自體免疫顯現(Sakaguchi等人「Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25)」，*J. Immunol.* 155(3): 1151-1164 (1995))。Treg細胞群體之擴增下調效應T細胞增殖且抑制自體免疫及T細胞抗腫瘤反應。

【0113】 經由「中等親和力」IL-2Rβγ複合物之IL-2信號傳導調節$CD8^+$效應T (Teff)細胞、NK細胞及NKT細胞之活化及增殖。$CD8^+$ Teff細胞(亦稱為細胞毒性T細胞、Tc細胞、細胞毒性T淋巴球、CTL、T殺手細胞、溶胞T細胞、Tcon或殺手T細胞)為識別且殺死受損細胞、癌細胞及感染病原體之細胞的T淋巴球。NK及NKT細胞係與$CD8^+$ Teff細胞、目標癌細胞及感染病原體之細胞類似之淋巴球類型。

【0114】 在一些情況下，利用IL-2信號傳導調節T細胞反應且隨後用於治療癌症。舉例而言，投與高劑量形式之IL-2以誘導Teff細胞群體擴增，從而用於治療癌症。然而，高劑量IL2進一步致使伴隨刺激減弱抗腫瘤免疫反應之Treg細胞。高劑量IL-2亦誘導由血管中之IL-2Rα鏈表現細胞(包括第2型先天性免疫細胞(ILC-2)、嗜伊紅血球及內皮細胞)之接合介導之毒性不良事件。由此導致嗜伊紅血球增多症、毛細管滲漏及血管滲漏症候群VLS)。

【0115】 授受細胞療法使得醫師能夠有效地利用患者之自身免疫細胞來對抗諸如增生性疾病(例如癌症)以及感染性疾病之疾病。在一個非限制性實例中，可自患者收集T淋巴球，再工程改造以靶向惡性細胞表面上之特異性抗原，及再引入患者身體中以特異性靶向惡性細胞。另外，授受細胞療法藉由信號傳導至免疫細胞而在體內提供持續反應，以在將經再工程改造細胞再引入患者之免疫系統中後長期生長及分裂。

【0116】 在某些實施例中，本文揭示一種經由細胞介素/細胞介素受體信號傳導選擇性上調不同群體之淋巴球(例如CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶細胞、NK細胞或NKT細胞)之方法。在一些情況下，細胞介素包含介白素、干擾素或腫瘤壞死因子。在一些情況下，細胞介素為細胞介素結合物，例如介白素結合物、干擾素結合物或腫瘤壞死因子結合物。在額外情況下，本文描述包含醫藥組合物及包含一或多種本文所述之細胞介素結合物之套組。

【0117】 在一些實施例中，本文亦描述一種經由IL-2/IL-2R信號傳導選擇性上調CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞群體之方法。在一些情況下，IL-2為一種IL-2結合物，其與「中等親和力」IL-2Rβγ複合物相互作用，視情況具有與IL-2Rαβγ複合物類似的效能，且相對於野生型IL-2具有減弱之IL-2Rα相互作用。在一些實施例中，本文進一步描述使用本文所述之IL-2結合物治療癌症之方法。在額外實施例中，本文描述醫藥組合物及包含一或多種本文所述之IL-2結合物之套組。在一些實施例中，IL-2結合物包含結合部分(例如PEG)，其有助於提高或降低個體之「清除率」或血漿半衰期，而不影響藥物動力學，包括所需細胞介素-受體相互作用及免疫細胞擴增。

【0118】 在一些實施例中，本文揭示可用於研發授受細胞療法之試劑，該等授受細胞療法包含經工程改造以表現經修飾細胞介素的細胞，該等細胞使得選擇性細胞介素-受體相互作用及免疫細胞擴增。在一些實施例中，試劑包含編碼上述IL-2結合物之核酸構築體。亦揭示可適用於治療本文所述之增生性或感染性疾病的包含上述IL-2結合物之授受性細胞療法。

【0119】 在一些實施例中，本文揭示引起選擇性細胞介素-受體相互作用及免疫細胞擴增之組合物。在一些實施例中，試劑包含編碼上述IL-2結合物之核酸構築體。亦揭示可適用於治療本文所述之增生性或感染性疾病的包含上述IL-2結合物之醫藥組合物。

細胞介素結合物

【0120】 在一些實施例中，本文描述細胞介素結合物。在一些情況下，細胞介素包含介白素、腫瘤壞死因子、干擾素、趨化介素、淋巴激素或生長因子。在一些情況下，細胞介素為介白素。在一些情況下，細胞介素為干擾素。在額外情況下，細胞介素為腫瘤壞死因子。在其他情況下，細胞介素為生長因子。

【0121】 在一些實施例中，本文描述一種介白素結合物。例示性介白素包括(但不限於)介白素2 (IL-2)。

IL-2結合物

【0122】 本文描述**表20**中展示之多肽。在一些實施例中，本文所述之IL-2結合物例示於**表20**中。

【0123】 表20

名稱	序列	SEQ ID NO:
IL-2 (智人) (成熟形式)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLT	1
IL-2 (智人) (前驅體) NCBI寄存編號： AAB46883.1	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQC LEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGS ETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	2
阿地介白素 (aldesleukin)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	3
IL-2_C125S	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT	4
IL-2_P65X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**X**LEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT	5
IL-2_E62X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**X**LKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT	6
IL-2_F42X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**X**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT	7
IL-2_K43X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**X**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT	8
IL-2_K35X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**X**LTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFSQSIISTLT	9
IL-2_P65[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK]**LEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLT	10
IL-2_E62[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK]**LKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLT	11

IL-2_F42[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT[**AzK**]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLT	12
IL-2_K43[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF[**AzK**]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLT	13
IL-2_K35[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[**AzK**]LT RMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFSQSIISTLT	14
IL-2_P65[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[**AzK_PEG**]LEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	15
IL-2_E62[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[**AzK_PEG**]LKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	16
IL-2_F42[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT[**AzK_PEG**]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	17
IL-2_K43[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF[**AzK_PEG**]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	18
IL-2_K35[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[**AzK_P EG**]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	19
IL-2_P65[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[**AzK_PEG5kD**]LEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	20
IL-2_E62[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[**AzK_PEG5kD**]LKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	21
IL-2_F42[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT[**AzK_PEG5kD**]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	22
IL-2_K43[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF[**AzK_PEG5kD**]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	23
IL-2_K35[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[**AzK_P EG5kD**]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD	24

	ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_P65[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG30kD]**LEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	25
IL-2_E62[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG30kD]**LKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	26
IL-2_F42[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	27
IL-2_K43[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	28
IL-2_K35[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_PEG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	29
IL-2_P65X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**X**LEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	30
IL-2_E62X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEE**X**LKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	31
IL-2_F42X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT **X**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	32
IL-2_K43X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT F**X**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	33
IL-2_K35X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**X**LTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	34
IL-2_P65[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK]**LEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	35
IL-2_E62[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEE[**AzK**]LKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	36
IL-2_F42[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT [**AzK**]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN	37

	FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	
IL-2_K43[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT F[**AzK**]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	38
IL-2_K35[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[**AzK**]LTR MLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	39
IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[**AzK_L1_PEG**]LEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	40
IL-2_E62[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEE[**AzK_L1_PEG**]LKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	41
IL-2_F42[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT [**AzK_L1_PEG**]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	42
IL-2_K43[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT F[**AzK_L1_PEG**]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	43
IL-2_K35[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[**AzK_L1_PEG**]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	44
IL-2_P65[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[**AzK_L1_PEG5kD**]LEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	45
IL-2_E62[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEE[**AzK_L1_PEG5kD**]LKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	46
IL-2_F42[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT [**AzK_L1_PEG5kD**]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	47
IL-2_K43[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT F[**AzK_L1_PEG5kD**]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	48
IL-2_K35[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[**AzK_L1_PEG5kD**]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	49
IL-2_P65[AzK_	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT	50

L1_PEG30kD]-1	FKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG30kD]**LE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG30kD]**LKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	51
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT **[AzK_L1_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	52
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT F**[AzK_L1_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	53
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L1_ PEG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	54
IL-2_P65[AzK_L1_PE G]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG]**LEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	55
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG]**LKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	56
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_L1_PEG]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	57
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_L1_PEG]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	58
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L 1_PEG]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	59
IL-2_P65[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG5kD]**L EEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	60
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG5kD]**LKPL EEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	61
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_L1_PEG5kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	62

IL-2_K43[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF**[AzK_L1_PEG5kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	63
IL-2_K35[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L1_PEG5kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	64
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG30kD]**LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	65
IL-2_E62[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG30kD]**LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	66
IL-2_F42[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT**[AzK_L1_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	67
IL-2_K43[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF**[AzK_L1_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	68
IL-2_K35[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L1_PEG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	69
IL-2_P65[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG]**LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	70
IL-2_E62[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG]**LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	71
IL-2_F42[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT**[AzK_PEG]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	72
IL-2_K43[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF**[AzK_PEG]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	73
IL-2_K35[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_PEG]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	74
IL-2_P65[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG5kD]**LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE	75

	TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_E62[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG5kD]**LKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	76
IL-2_F42[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT **[AzK_PEG5kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	77
IL-2_K43[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT F**[AzK_PEG5kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	78
IL-2_K35[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_PEG5kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	79
IL-2_P65[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG30kD]**LEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	80
IL-2_E62[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG30kD]**LKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	81
IL-2_F42[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT **[AzK_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	82
IL-2_K43[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT F**[AzK_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	83
IL-2_K35[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_PEG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	84

X=包含非天然胺基酸之位點。

[AzK]=N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(其結構揭示為圖3C中之化合物90)。化合物具有化學文摘註冊號1167421-25-1。

[AzK_PEG] = N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸經由DBCO介導之點擊化學穩定性結合至PEG，以形成包含式(II)或式(III)之結構的化合物。舉例而言，若規定，則PEG5kD表示平均分子量為5千道爾頓經甲

氧基封端之直鏈聚乙二醇鏈。由點擊反應產生之區位異構體之比率為約1:1或大於1:1。術語「DBCO」意味包括二苯并環辛炔基團的化學部分，諸如包括實例2之流程1中所說明的mPEG-DBCO化合物。甲氧基PEG基團之例示性結構說明於實例2之流程1中之mPEG-DBCO結構中。

[AzK_L1_PEG] = N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸經由DBCO介導之點擊化學穩定性結合至PEG，以形成包含式(IV)或式(V)之結構的化合物。舉例而言，若規定，則PEG5kD表示平均分子量為5千道爾頓經甲氧基封端之直鏈聚乙二醇鏈。由點擊反應產生之區位異構體之比率為約1:1或大於1:1。術語「DBCO」意味包括二苯并環辛炔基團的化學部分，諸如包括實例2之流程1中所說明的mPEG-DBCO化合物。

【0124】 在一些實施例中，本文描述在胺基酸位置經修飾IL-2結合物。在一些情況下，修飾係關於天然胺基酸。在一些情況下，修飾係關於非天然胺基酸。在一些情況下，本文描述一種包含至少一個非天然胺基酸之分離及修飾IL-2多肽。在一些情況下，IL-2多肽為分離及純化之哺乳動物IL-2，例如嚙齒動物IL-2蛋白質或人類IL-2蛋白質。在一些情況下，IL-2多肽為人類IL-2蛋白質。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 1約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含SEQ ID NO: 1之序列。在一些情況下，IL-2多肽由SEQ ID NO: 1之序列組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 2約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 2。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 2組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 3約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或

99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 3。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 3組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 4約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 4。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 4組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 5約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 5。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 5組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 6約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 6。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 6組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 7約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 7。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 7組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 8約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 8。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 8組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 9約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 9。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 9組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 10約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 10。在一些情況下，IL-2多肽

由序列SEQ ID NO: 10組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 11約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 11。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 11組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 12約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 12。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 12組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 13約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 13。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 13組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 14約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 14。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 14組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 15約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 15。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 15組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 16約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 16。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 16組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 17約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 17。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 17組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 18約

80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 18。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 18組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 19約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 19。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 19組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 20約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 20。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 20組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 21約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 21。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 21組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 22約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 22。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 22組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 23約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 23。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 23組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 24約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 24。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 24組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 25約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況

下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 25。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 25組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 26約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 26。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 26組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 27約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 27。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 27組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 28約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 28。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 28組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 29約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 29。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 29組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 30約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 30。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 30組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 31約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 31。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 31組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 32約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 32。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID

NO: 32組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 33約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 33。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 33組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 34約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 34。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 34組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 35約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 35。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 35組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 36約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 36。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 36組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 37約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 37。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 37組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 38約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 38。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 38組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 39約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 39。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 39組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 40約80%、85%、

90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 40。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 40組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 41約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 41。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 41組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 42約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 42。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 42組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 43約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 43。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 43組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 44約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 44。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 44組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 45約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 45。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 45組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 46約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 46。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 46組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 47約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序

列SEQ ID NO: 47。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 47組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 48約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 48。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 48組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 49約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 49。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 49組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 50約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 50。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 50組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 51約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 51。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 51組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 52約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 52。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 52組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 53約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 53。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 53組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 54約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 54。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 54組成。在額

外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 55約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 55。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 55組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 56約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 56。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 56組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 57約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 57。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 57組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 58約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 58。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 58組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 59約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 59。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 59組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 60約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 60。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 60組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 61約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 61。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 61組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 62約80%、85%、90%、95%、96%、

97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 62。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 62組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 63約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 63。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 63組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 64約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 64。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 64組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 65約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 65。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 65組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 66約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 66。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 66組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 67約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 67。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 67組成。在額外情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 68約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在額外情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 68。在額外情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 68組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 69約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 69。

在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 69組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 70約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 70。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 70組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 71約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 71。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 71組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 72約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 72。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 72組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 73約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 73。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 73組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 74約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 74。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 74組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 75約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 75。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 75組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 76約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 76。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 76組成。在一些情況下，IL-2多肽

包含與SEQ ID NO: 77約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 77。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 77組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 78約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 78。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 78組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 79約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 79。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 79組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 80約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 80。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 80組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 81約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 81。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 81組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 82約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 82。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 82組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 83約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 83。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 83組成。在一些情況下，IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 84約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之

序列一致性。在一些情況下，IL-2多肽包含序列SEQ ID NO: 84。在一些情況下，IL-2多肽由序列SEQ ID NO: 84組成。

【0125】 在一些情況下，IL-2多肽為截短變異體。在一些情況下，截短為N端缺失。在一些情況下，截短為C端缺失。在額外情況下，截短包含N端及C端缺失。舉例而言，截短可為自N端或C端抑或兩個末端缺失至少或約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20或更多個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20或更多個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約2個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約3個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約4個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約5個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約6個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約7個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約8個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約9個殘基。在一些情況下，IL-2多肽包含N端缺失至少或約10個殘基。

【0126】 在一些實施例中，IL-2多肽為功能活性片段。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區10-133、20-133、30-133、10-130、20-130、30-130、10-125、20-125、30-125、1-130或1-125，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區10-133，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區20-133，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位

置。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區30-133，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區10-125，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區20-125，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區1-130，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些情況下，功能活性片段包含IL-2區1-125，其中殘基位置參考SEQ ID NO: 1中之位置。

【0127】 在一些實施例中，本文描述一種IL-2結合物，其包含分離、純化及經修飾IL-2多肽及結合部分。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，IL-2結合物與IL-2受體α (IL-2Rα)次單元之親和力降低。在一些情況下，結合部分結合至與IL-2Rα (例如在IL-2/IL-2Rα界面)相互作用之胺基酸殘基。在一些情況下，結合部分結合至接近IL-2/IL-2Rα界面(例如遠離IL-2/IL-2Rα界面約5Å、約10Å、約15Å或約20Å)之胺基酸殘基。如本文所用，與IL-2/IL-2Rα界面有關之殘基包含與來自IL-2Rα次單元之殘基形成疏水相互作用、氫鍵或離子型相互作用之IL-2殘基。

【0128】 在一些情況下，結合部分結合至選自以下之胺基酸殘基：胺基酸位置Y31、K32、N33、P34、K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、P47、K48、Q57、E60、E61、E62、L63、K64、P65、E68、V69、N71、L72、Q74、S75、K76、N77、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111或A112，其中胺基酸殘基之編號與SEQ ID NO: 1相對應。在一些情況下，胺基酸位置選自Y31、K32、N33、P34、K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、P47、K48、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72、Q74、S75、K76、

N77、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111及A112。在一些情況下，胺基酸位置選自N33、P34、K35、T37、R38、M39、T41、F42、K43、F44、Y45、Q57、E60、E61、E62、L63、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111及A112。在一些情況下，胺基酸位置選自K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、R38、T41、F42、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、R38、T41、F42、F44、Y45、E61、E62、E68、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、T41、F42、F44、Y45、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自R38及K64。在一些情況下，胺基酸位置選自E61、E62及E68。在一些情況下，胺基酸位置在K35。在一些情況下，胺基酸位置在T37。在一些情況下，胺基酸位置在R38。在一些情況下，胺基酸位置在T41。在一些情況下，胺基酸位置在F42。在一些情況下，胺基酸位置在K43。在一些情況下，胺基酸位置在F44。在一些情況下，胺基酸位置在Y45。在一些情況下，胺基酸位置在E61。在一些情況下，胺基酸位置在E62。在一些情況下，胺基酸位置在K64。在一些情況下，胺基酸位置在E68。在一些情況下，胺基酸位置在P65。在一些情況下，胺基酸位置在V69。在一些情況下，胺基酸位置在L72。在一些情況下，胺基酸位置在Y107。在一些情況下，胺基酸位置在L72。在一些情況下，胺基酸位置在D109。

【0129】在一些情況下，IL-2結合物進一步包含額外突變。在一些

情況下，額外突變在選自以下之胺基酸位置：K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72及Y107。在此類情況下，胺基酸與額外結合部分結合，以增加血清半衰期、穩定性或其組合。或者，胺基酸在結合至額外結合部分之前首先突變成諸如離胺酸、半胱胺酸、組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或酪胺酸之天然胺基酸；或突變成非天然胺基酸。

【0130】 在一些實施例中，相對於非天然胺基酸經修飾野生型IL-2多肽(例如野生型IL-2多肽)，經修飾IL-2多肽對IL-2受體α (IL-2Rα)次單元之親和力降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%或大於99%。在一些情況下，降低之親和力為約10%。在一些情況下，降低之親和力為約20%。在一些情況下，降低之親和力為約40%。在一些情況下，降低之親和力為約50%。在一些情況下，降低之親和力為約60%。在一些情況下，降低之親和力為約80%。在一些情況下，降低之親和力為約90%。在一些情況下，降低之親和力為約99%。在一些情況下，降低之親和力為大於99%。在一些情況下，降低之親和力為約80%。在一些情況下，降低之親和力為約100%。

【0131】 在一些實施例中，相對於不具有非天然胺基酸修飾之等效IL-2多肽(例如野生型IL-2多肽)，經修飾IL-2多肽對IL-2受體α (IL-2Rα)次單元之親和力降低約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1,000倍或更高。在一些情況下，降低之親和力為約1倍。在一些情況下，降低之親和力為約2倍。在一些情況下，降低之親和力為約4倍。在一些情況下，降低之親和力為約5倍。在一些情況下，降低之親和力為約6倍。在一

些情況下，降低之親和力為約8倍。在一些情況下，降低之親和力為約10倍。在一些情況下，降低之親和力為約30倍。在一些情況下，降低之親和力為約50倍。在一些情況下，降低之親和力為約100倍。在一些情況下，降低之親和力為約300倍。在一些情況下，降低之親和力為約500倍。在一些情況下，降低之親和力為約1000倍。在一些情況下，降低之親和力超過1,000倍。

【0132】 在一些情況下，經修飾IL-2多肽不與IL-2Rα相互作用。在一些情況下，經修飾IL-2多肽進一步與結合部分結合。在一些情況下，IL-2結合物不與IL-2Rα相互作用。

【0133】 在一些實施例中，經修飾IL-2多肽展現出與IL-2βγ信號傳導複合物之第一受體信號傳導效能及與IL-2αβγ信號傳導複合物之第二受體信號傳導效能，且其中第一受體信號傳導效能與第二受體信號傳導效能之間的差異小於10倍。在一些實施例中，經修飾IL-2多肽展現出與IL-2βγ信號傳導複合物之第一受體信號傳導效能及與IL-2αβγ信號傳導複合物之第二受體信號傳導效能，且其中第一受體信號傳導效能與第二受體信號傳導效能之間的差異小於5倍。在一些情況下，差異小於9倍、小於8倍、小於7倍、小於6倍、小於5倍、小於4倍、小於3倍、小於2倍或小於1倍。在一些情況下，經修飾IL-2多肽為部分促效劑，例如活化受體(例如IL-2βγ信號傳導複合物或IL-2αβγ信號傳導複合物)，但相對於完全促效劑對受體僅具有部分功效之促效劑。在一些情況下，經修飾IL-2多肽為完全促效劑，例如以最大反應活化受體(例如IL-2βγ信號傳導複合物或IL-2αβγ信號傳導複合物)之促效劑。

【0134】 在一些情況下，受體信號傳導效能藉由EC50值來量測。在

一些情況下，經修飾IL-2多肽提供活化IL-2βγ信號傳導複合物之第一EC50值及活化IL-2αβγ信號傳導複合物之第二EC50值，且其中第一EC50與第二EC50值之間的差異小於10倍。在一些情況下，經修飾IL-2多肽提供活化IL-2βγ信號傳導複合物之第一EC50值及活化IL-2αβγ信號傳導複合物之第二EC50值，且其中第一EC50與第二EC50值之間的差異小於5倍。在一些情況下，差異小於9倍、小於8倍、小於7倍、小於6倍、小於5倍、小於4倍、小於3倍、小於2倍或小於1倍。

【0135】 在一些情況下，受體信號傳導效能藉由ED50值來量測。在一些情況下，經修飾IL-2多肽提供活化IL-2βγ信號傳導複合物之第一ED50值及活化IL-2αβγ信號傳導複合物之第二ED50值，且其中第一ED50與第二ED50值之間的差異小於10倍。在一些情況下，經修飾IL-2多肽提供活化IL-2βγ信號傳導複合物之第一ED50值及活化IL-2αβγ信號傳導複合物之第二ED50值，且其中第一ED50與第二ED50值之間的差異小於5倍。在一些情況下，差異小於9倍、小於8倍、小於7倍、小於6倍、小於5倍、小於4倍、小於3倍、小於2倍或小於1倍。

【0136】 在一些實施例中，結合部分直接抑或經由連接肽間接連接至IL-2多肽之N端或C端。在一些情況下，結合部分(例如聚合物、蛋白質或肽)在IL-2之N端或C端及直接抑或經由連接肽間接地與IL-2基因融合。在一些情況下，結合部分連接至N端或C端胺基酸殘基。在一些情況下，結合部分連接至結合至N端或C端胺基酸殘基之反應性基團。

【0137】 在一些實施例中，與IL-2Rα之結合親和力降低之IL-2結合物能夠擴增CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體。在一些情況下，結合部分減弱或阻斷

IL-2與IL-2Rα之結合。

【0138】在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體藉由經修飾IL-2多肽經由IL-2Rβγ複合物之活化保持該細胞群體之明顯活化效能。在一些情況下，藉由經修飾IL-2多肽活化等效於藉由野生型IL-2多肽之活化。在其他情況下，藉由經修飾IL-2多肽活化高於藉由野生型IL-2多肽之活化。在一些情況下，經修飾IL-2多肽與IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能高於野生型IL-2多肽與IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能。在一些情況下，經修飾IL-2多肽之受體信號傳導效能高於野生型IL-2多肽之對應效能至少1倍。在一些情況下，與野生型IL-2多肽之對應效能相比，經修飾IL-2多肽之受體信號傳導效能為約或至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、150倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1,000倍或更高。在此類情況下，用於實現CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體之活化水準與野生型IL-2多肽類似之經修飾IL-2多肽的劑量或濃度低於用於野生型IL-2多肽之劑量或濃度。

【0139】在一些實施例中，CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體藉由經修飾IL-2多肽經由IL-2Rβγ複合物之活化保持該細胞群體藉由野生型IL-2多肽之明顯活化效能。在一些情況下，經修飾IL-2多肽IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能。在一些情況下，經修飾IL-2多肽之受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽之對應

效能約或至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍或50倍。

【0140】在一些實施例中，經修飾IL-2多肽展現出與IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能及與IL-2Rαβγ之第二受體信號傳導效能。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，與IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能為效能改善。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，與IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能為效能減弱。在一些實施例中，經修飾IL-2多肽展現出與IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能及與IL-2Rαβγ之第二受體信號傳導效能，且其中與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍、500倍、1000倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少1倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少2倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少5倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少10倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少20倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少50倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少100倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少500倍或更高。在一些情況下，與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能為至少1000倍或更高。在一些情況下，經修飾IL-2多肽之第一受體信號傳導效能高於野生型IL-2多肽與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能，且經修飾IL-2多肽之第二受體信號

傳導效能低於野生型IL-2多肽與IL-2Rαβγ之受體信號傳導效能。在一些情況下，兩種受體信號傳導效能均低於其在野生型IL-2多肽上之對應效能。在其他情況下，兩種受體信號傳導效能均高於其在野生型IL-2多肽上之對應效能。

【0141】 在一些實施例中，IL-2結合物減少投與IL-2結合物之個體中之毒性不良事件。例示性毒性不良事件包括嗜伊紅血球增多症、毛細管滲漏及血管滲漏症候群(VLS)。在一些情況下，相對於投與野生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之毒性不良事件的發生率降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。在一些情況下，相對於投與野生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之毒性不良事件之嚴重程度降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。

【0142】 在一些情況下，毒性不良事件為嗜伊紅血球增多症。在一些情況下，相對於投與野生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之嗜伊紅血球增多症的發生率降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。在一些情況下，相對於投與野生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之嗜伊紅血球增多症之嚴重程度降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。

【0143】 在一些情況下，毒性不良事件為毛細管滲漏。在一些情況下，相對於投與野生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之毛細管滲漏的發生率降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。在一些情況下，相對於投與野

生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之毛細管滲漏之嚴重程度降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。

【0144】在一些情況下，毒性不良事件為VLS。在一些情況下，相對於投與野生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之VLS的發生率降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。在一些情況下，相對於投與野生型IL-2或阿地介白素之第二個體，IL-2結合物使個體之VLS之嚴重程度降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或約100%。

【0145】在一些實施例中，IL-2結合物包含大於1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時或更長之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於1小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於2小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於3小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於4小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於5小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於6小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於7小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於8小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於9小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結

合物包含大於10小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於12小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於18小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含大於24小時之血漿半衰期。

【0146】 在一些實施例中，IL-2結合物包含至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時或更長之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少1小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少2小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少3小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少4小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少5小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少6小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少7小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少8小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少9小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少10小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少12小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少18小時之血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含至少24小時之血漿半衰期。

【0147】 在一些實施例中，IL-2結合物包含約1小時至約7天、約12小時至約7天、約18小時至約7天、約24小時至約7天、約1小時至約5天、

約12小時至約5天、約24小時至約5天、約2天至約5天或約2天至約3天之血漿半衰期。

【0148】 在一些情況下，IL-2結合物包含約1小時至約18小時、約1小時至約12小時、約2小時至約10小時、約2小時至約8小時、約4小時至約18小時、約4小時至約12小時、約4小時至約10小時、約4小時至約8小時、約6小時至約18小時、約6小時至約12小時、約6小時至約10小時、約6小時至約8小時、約8小時至約18小時、約8小時至約12小時或約8小時至約10小時之血漿半衰期。

【0149】 在一些實施例中，IL-2結合物包含能夠增殖及/或擴增CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、NK細胞、NKT細胞或其組合但不施加諸如細胞凋亡之不利影響之血漿半衰期。

【0150】 在一些實施例中，相對於野生型IL-2，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期，例如至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長。在一些實施例中，相對於野生型IL-2，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期，例如至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時或更長。

【0151】 在一些實施例中，相對於野生型IL-2，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期，例如約1小時至約18小時、約1小時至約12小時、約2小時至約10小時、約2小時至約8小時、約4小時至約18小時、約4小時至約12小時、約4小時至約10小時、約4小時至約8小時、約6小時至約18小時、約6小時至約12小時、約6小時至約10小時、約6小時至約8小時、約8

小時至約18小時、約8小時至約12小時或約8小時至約10小時。

【0152】 在一些實施例中，相對於阿地介白素，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期，例如至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長。在一些實施例中，相對於阿地介白素，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期，例如至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時或更長。

【0153】 在一些實施例中，相對於阿地介白素，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期，例如約1小時至約18小時、約1小時至約12小時、約2小時至約10小時、約2小時至約8小時、約4小時至約18小時、約4小時至約12小時、約4小時至約10小時、約4小時至約8小時、約6小時至約18小時、約6小時至約12小時、約6小時至約10小時、約6小時至約8小時、約8小時至約18小時、約8小時至約12小時或約8小時至約10小時。

【0154】 在一些實施例中，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，IL-2結合物包含至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長之經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，IL-2結合物包含至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時或更長之經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，IL-2結合物包含約1小時至約18小時、約1小時至約12小時、約2小時至約10小時、約2小時至約8小時、約4小時至約18小

時、約4小時至約12小時、約4小時至約10小時、約4小時至約8小時、約6小時至約18小時、約6小時至約12小時、約6小時至約10小時、約6小時至約8小時、約8小時至約18小時、約8小時至約12小時或約8小時至約10小時之經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，降低之毒性為相對於野生型IL2降低至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍或更多。在一些情況下，降低之毒性為相對於野生型IL-2降低至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%或更多。

【0155】 在一些實施例中，IL-2結合物包含經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，IL-2結合物包含至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長之經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，IL-2結合物包含至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時或更長之經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，IL-2結合物包含約1小時至約18小時、約1小時至約12小時、約2小時至約10小時、約2小時至約8小時、約4小時至約18小時、約4小時至約12小時、約4小時至約10小時、約4小時至約8小時、約6小時至約18小時、約6小時至約12小時、約6小時至約10小時、約6小時至約8小時、約8小時至約18小時、約8小時至約12小時或約8小時至約10小時之經延長血漿半衰期及降低之毒性。在一些情況下，降低之毒性為相對於阿地介白素降低至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍或更多。在一些情況下，降低之毒

性為相對於阿地介白素降低至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%或更多。

【0156】在一些實施例中，IL-2結合物包含結合部分，其中結合部分之大小(例如體積或長度)增強血漿穩定性但不降低效能。在一些情況下，結合部分之大小使血漿半衰期延長至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長。在一些情況下，結合部分之大小使血漿半衰期延長至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時或更長。在一些情況下，結合部分之大小使血漿半衰期延長約1小時至約18小時、約1小時至約12小時、約2小時至約10小時、約2小時至約8小時、約4小時至約18小時、約4小時至約12小時、約4小時至約10小時、約4小時至約8小時、約6小時至約18小時、約6小時至約12小時、約6小時至約10小時、約6小時至約8小時、約8小時至約18小時、約8小時至約12小時或約8小時至約10小時。在一些情況下，相對於阿地介白素，結合部分之大小使效能降低低於5%、4%、3%、2%、1%或更低。

【0157】在一些實施例中，IL-2結合物包含結合部分，其中結合部分之大小(例如體積或長度)增強血漿穩定性及效能。在一些情況下，結合部分之大小使血漿半衰期延長至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天、7天或更長。在一些情況下，結合部分之大小使血漿半衰期延長至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、12小時、15小時、18小

時、24小時或更長。在一些情況下，結合部分之大小使血漿半衰期延長約1小時至約18小時、約1小時至約12小時、約2小時至約10小時、約2小時至約8小時、約4小時至約18小時、約4小時至約12小時、約4小時至約10小時、約4小時至約8小時、約6小時至約18小時、約6小時至約12小時、約6小時至約10小時、約6小時至約8小時、約8小時至約18小時、約8小時至約12小時或約8小時至約10小時。在一些情況下，相對於阿地介白素，結合部分之大小使效能進一步增加超過5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%或更多。

【0158】 在一些實施例中，本文描述一種IL-2結合物，其包含共價連接至結合部分之非天然胺基酸，其中非天然胺基酸位於區35-107中，及其中區35-107與SEQ ID NO: 1之殘基K35-Y107相對應。

【0159】 在一些實施例中，本文描述一種介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白對介白素2α受體(IL-2Rα)之結合親和力小於野生型人類IL-2 (hIL-2)，其中該結合蛋白對介白素2α受體(IL-2Rα)之結合親和力小於野生型人類IL-2 (hIL-2)。在一些實施例中，本文描述一種介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白對介白素2α受體(IL-2Rα)之結合親和力小於野生型人類IL-2 (hIL-2)，且其中該結合蛋白包含至少一個非天然胺基酸。在一些情況下，該結合蛋白為經修飾IL-2多肽或其功能活性片段，其中經修飾IL-2多肽包含至少一個非天然胺基酸。在一些情況下，至少一個非天然胺基酸位於區35-107中，且其中區35-107與SEQ ID NO: 1之殘基K35-Y107相對應。

【0160】 在一些實施例中，本文描述一種IL-2/IL-2Rβγ複合物，其包含經修飾IL-2多肽(包含突變)及IL-2Rβγ，其中經修飾IL-2多肽對IL-

2Rα之結合親和力降低，且其中降低之結合親和力係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合親和力相比而言。在一些情況下，經修飾IL-2多肽進一步包含共價連接至突變位點之結合部分。在一些情況下，突變位點包含突變成天然胺基酸之胺基酸。在一些情況下，突變位點包含突變成半胱胺酸殘基之胺基酸。在其他情況下，突變位點包含突變成離胺酸殘基之胺基酸。

【0161】 在一些實施例中，本文描述一種IL-2/IL-2Rβγ複合物，其包含有包含非天然胺基酸之經修飾IL-2多肽及IL-2Rβγ，其中經修飾IL-2多肽對IL-2Rα之結合親和力降低，且其中降低之結合親和力係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合親和力相比而言。在一些情況下，經修飾IL-2多肽進一步包含共價連接至非天然胺基酸之結合部分。

【0162】 在一些實施例中，本文描述一種IL-2/IL-2Rβγ複合物，其包含有包含非天然胺基酸之經修飾IL-2多肽及IL-2Rβγ，其中經修飾IL-2多肽與IL-2Rα之受體信號傳導效能降低，且其中降低之受體信號傳導效能係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的受體信號傳導效能相比而言。在一些情況下，經修飾IL-2多肽進一步包含共價連接至非天然胺基酸之結合部分。

【0163】 在一些實施例中，本文描述一種CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化劑，其選擇性擴增細胞群體中之CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、NK細胞、NKT細胞或其組合，其中該活化劑包含有包含至少一個突變之經修飾介白素2(IL-2)多肽。在一些情況下，突變係關於天然胺基酸。在其他情況下，突變係關於非天然胺基酸。在一些實施例中，本文描

述一種CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化劑，其選擇性擴增細胞群體中之CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、NK細胞、NKT細胞或其組合，其中該活化劑包含有包含至少一個非天然胺基酸之經修飾介白素2 (IL-2)多肽。在一些情況下，與接觸野生型IL-2多肽之CD3+細胞群體中之CD4+ Treg細胞的擴增相比，該當該活化劑與該CD3+細胞群體接觸時，活化劑使CD4+ T調節性(Treg)細胞擴增低於20%、15%、10%、5%、1%或低於0.1%。在一些情況下，該活化劑不使該細胞群體中之Treg細胞擴增。在一些情況下，該細胞群體為活體內細胞群體。在一些情況下，該細胞群體為活體外細胞群體。在一些情況下，該細胞群體為離體細胞群體。

【0164】 在一些情況下，本文亦描述一種使CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體擴增之方法，其包含使該細胞群體與治療有效量之CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞活化劑接觸，其中該活化劑包含有包含至少一個突變之經修飾介白素2(IL-2)多肽，藉此使CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體擴增。在一些情況下，突變係關於天然胺基酸。在其他情況下，突變係關於非天然胺基酸。在一些情況下，本文亦描述一種使CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體擴增之方法，其包含使該細胞群體與治療有效量之CD4+輔助細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞活化劑接觸，其中該活化劑包含有包含至少一個非天然胺基酸之經修飾介白素2 (IL-2)多肽，藉此使CD4+輔助

細胞、CD8+效應天然及記憶T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T(NKT)細胞群體擴增。

【0165】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置35之K35處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地決定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0166】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置37之殘基

T37處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地決定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0167】 在一些情況下，結合部分結合至選自以下之胺基酸殘基：胺基酸位置P2、T3、S4、S5、S6、T7、K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、G27、N29、N30、Y31、K32、K35、T37、M46、K47、K48、A50、T51、E52、K53、H55、

Q57、E60、E67、N71、Q74、S75、K76、N77、F78、H79、R81、P82、R83、D84、S87、N88、N89、V91、I92、L94、E95、K97、G98、S99、E100、T101、T102、F103、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111、A112、T113、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133，其中胺基酸殘基之編號與SEQ ID NO: 1相對應。在一些情況下，胺基酸位置選自K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、R81、D84、S87、N88、V91、I92、L94、E95、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133。在一些情況下，胺基酸位置選自P2、T3、S4、S5、S6、T7、G27、N29、N30、Y31、K32、K35、T37、M46、K47、K48、A50、T51、E52、K53、H55、Q57、E60、E67、N71、Q74、S75、K76、N77、F78、H79、P82、R83、N89、K97、G98、S99、E100、T101、T102、F103、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111、A112及T113。在一些情況下，胺基酸位置選自K8、K9、L12、E15、H16、L19、D20、Q22、M23、N26、D84、N88、E95及Q126。在一些情況下，胺基酸位置選自K8、K9及H16。在一些情況下，胺基酸位置選自Q22、N26、N88及Q126。在一些情況下，胺基酸位置選自E15、D20、D84及E95。在一些情況下，胺基酸位置選自L12、L19及M23。在一些情況下，胺基酸位置選自Q22及N26。在一些情況下，胺基酸位置在K8。在一些情況下，胺基酸位置在K9。在一些情況下，胺基酸位置在Q11。在一些情況下，胺基酸位置在L12。在一些情況下，胺基酸位置在E15。在一些情況下，胺基酸位置在H16。在一些情況下，胺基酸位置在L18。在一

些情況下，胺基酸位置在L19。在一些情況下，胺基酸位置在D20。在一些情況下，胺基酸位置在Q22。在一些情況下，胺基酸位置在M23。在一些情況下，胺基酸位置在N26。在一些情況下，胺基酸位置在R81。在一些情況下，胺基酸位置在D84。在一些情況下，胺基酸位置在S87。在一些情況下，胺基酸位置在N88。在一些情況下，胺基酸位置在V91。在一些情況下，胺基酸位置在I92。在一些情況下，胺基酸位置在L94。在一些情況下，胺基酸位置在E95。在一些情況下，胺基酸位置在E116。在一些情況下，胺基酸位置在N119。在一些情況下，胺基酸位置在R120。在一些情況下，胺基酸位置在T123。在一些情況下，胺基酸位置在A125。在一些情況下，胺基酸位置在Q126。在一些情況下，胺基酸位置在S127。在一些情況下，胺基酸位置在S130。在一些情況下，胺基酸位置在T131。在一些情況下，胺基酸位置在L132。在一些情況下，胺基酸位置在T133。

【0168】在一些情況下，IL-2結合物進一步包含額外突變。在此類情況下，胺基酸與額外結合部分結合，以增加血清半衰期、穩定性或其組合。或者，胺基酸在結合至額外結合部分之前首先突變成諸如離胺酸、半胱胺酸、組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或酪胺酸之天然胺基酸；或突變成非天然胺基酸。

【0169】在一些實施例中，相對於野生型IL-2多肽，IL-2結合物對IL-2Rαβγ複合物之IL-2受體β (IL-2Rβ)次單元、IL-2受體γ (IL-2Rγ)次單元或其組合之結合親和力降低。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，IL-2結合物對IL-2受體β (IL-2Rβ)次單元、IL-2受體γ (IL-2Rγ)次單元或其組合之親和力降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、

80%、90%、95%、99%或大於99%。在一些情況下，降低之親和力為約10%。在一些情況下，降低之親和力為約20%。在一些情況下，降低之親和力為約40%。在一些情況下，降低之親和力為約50%。在一些情況下，降低之親和力為約60%。在一些情況下，降低之親和力為約80%。在一些情況下，降低之親和力為約90%。在一些情況下，降低之親和力為約99%。在一些情況下，降低之親和力為大於99%。在一些情況下，降低之親和力為約80%。在一些情況下，降低之親和力為約100%。

【0170】 在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，IL-2結合物對IL-2受體β (IL-2Rβ)次單元、IL-2受體γ (IL-2Rγ)次單元或其組合之親和力降低約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1,000倍或更多。在一些情況下，降低之親和力為約1倍。在一些情況下，降低之親和力為約2倍。在一些情況下，降低之親和力為約4倍。在一些情況下，降低之親和力為約5倍。在一些情況下，降低之親和力為約6倍。在一些情況下，降低之親和力為約8倍。在一些情況下，降低之親和力為約10倍。在一些情況下，降低之親和力為約30倍。在一些情況下，降低之親和力為約50倍。在一些情況下，降低之親和力為約100倍。在一些情況下，降低之親和力為約300倍。在一些情況下，降低之親和力為約500倍。在一些情況下，降低之親和力為約1000倍。在一些情況下，降低之親和力超過1,000倍。

【0171】 在一些實施例中，IL-2結合物之IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集降低。在一些情況下，降低之募集係與藉由不具有非天然胺基酸之等效IL-2多肽(例如野生型IL-2多肽)的IL-2Rγ次單元募集相比而言。在一些情況下，相對於不具有非天然胺基酸修飾之等效IL-2多肽，

IL-2Rγ次單元募集降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或降低大於99%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約10%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約20%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約40%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約50%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約60%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約70%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約80%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約90%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約99%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低超過99%。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約100%。在一些情況下，IL-2結合物之IL-2Rα次單元募集進一步增加。

【0172】在一些實施例中，相對於不具有非天然胺基酸修飾之等效IL-2多肽(例如野生型IL-2多肽)，IL-2Rγ次單元募集之降低為約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1,000倍或更高。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約1倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約2倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約4倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約5倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約6倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約8倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約10倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約30倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約50倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約100倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約300倍。在一些情況

下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約500倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低為約1000倍。在一些情況下，IL-2Rγ次單元募集之降低超過1,000倍。在一些情況下，IL-2結合物進一步具有增加之IL-2Rα次單元募集。

【0173】 在一些實施例中，IL-2結合物之IL-2Rα次單元向IL-2多肽的募集增加。在一些情況下，降低之募集係與藉由不具有非天然胺基酸之等效IL-2多肽(例如野生型IL-2多肽)的IL-2Rα次單元募集相比而言。在一些情況下，相對於不具有非天然胺基酸修飾之等效IL-2多肽，IL-2Rα次單元募集增加約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或增加大於99%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約10%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約20%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約40%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約50%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約60%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約70%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約80%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約90%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約99%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加超過99%。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約100%。在一些情況下，IL-2結合物進一步具有IL-2Rβ次單元及/或IL-2Rγ次單元之募集降低。

【0174】 在一些實施例中，相對於不具有天然胺基酸修飾之等效IL-2多肽(例如野生型IL-2多肽)，IL-2Rα次單元募集之增加為約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1,000倍或更高。在一些情況下，IL-2Rα次

單元募集之增加為約1倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約2倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約4倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約5倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約6倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約8倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約10倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約30倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約50倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約100倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約300倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約500倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加為約1000倍。在一些情況下，IL-2Rα次單元募集之增加超過1,000倍。在一些情況下，IL-2結合物進一步具有IL-2Rβ次單元及/或IL-2Rγ次單元之募集降低。

【0175】在一些實施例中，本文所述之IL-2多肽與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能降低。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能降低為約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1000倍或更多。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約2倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約5倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約10倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約20倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約30倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約40倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約50倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約100倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約200倍。在一些情況

下，受體信號傳導效能之降低為約300倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約400倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約500倍。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為約1000倍。

【0176】 在一些情況下，受體信號傳導效能藉由EC50值來量測。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為EC50之增加。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，EC50之增加為約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1000倍或更多。

【0177】 在一些情況下，受體信號傳導效能藉由ED50值來量測。在一些情況下，受體信號傳導效能之降低為ED50之增加。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，ED50之增加為約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1000倍或更高。

【0178】 在一些實施例中，與野生型IL-2多肽之治療窗相比，本文所述之IL-2多肽具有經擴增治療窗。在一些情況下，經擴增治療窗係由於IL-2多肽與介白素2受體βγ (IL-2Rβγ)之間的結合減少、與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能降低、IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集降低或IL-2Rα次單元向IL-2多肽之募集增加。在一些情況下，IL-2多肽不具有介白素2αβγ受體(IL-2Rαβγ)之活化減弱。

【0179】 在一些實施例中，經修飾IL-2多肽展現出與IL-2βγ信號傳導複合物之第一受體信號傳導效能及與IL-2αβγ信號傳導複合物之第二受體信號傳導效能，且其中第一受體信號傳導效能與第二受體信號傳導效能之間的差異為至少1倍。在一些情況下，差異為至少2倍、3倍、4倍、5

倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1000倍或更高。在一些情況下，第一受體信號傳導效能低於第二受體信號傳導效能。在一些情況下，第一受體信號傳導效能低於第二受體信號傳導效能至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍、500倍、1000倍或更低。在一些情況下，相較於與IL-2αβγ信號傳導複合物之第二受體信號傳導效能，經修飾IL-2多肽與IL-2βγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能更低。在一些情況下，經修飾IL-2多肽之第一信號傳導效能比野生型IL-2多肽之細胞信號傳導效能低至少1倍。在一些情況下，經修飾IL-2多肽之第一信號傳導效能比野生型IL-2多肽之細胞信號傳導效能低至少2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、200倍或500倍。在一些情況下，第一受體信號傳導效能及第二受體信號傳導效能均低於野生型IL-2多肽之對應效能，但第一受體信號傳導效能低於第二受體信號傳導效能。在一些情況下，第一受體信號傳導效能與第二受體信號傳導效能之間的差異增大經修飾IL-2多肽之治療窗。

【0180】 在一些情況下，結合部分減弱或阻斷與IL-2Rβγ之IL-2的受體信號傳導效能，或降低IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集。

【0181】 在一些情況下，與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能降低的經修飾IL-2多肽能夠擴增CD4+ T調節性(Treg)細胞。

【0182】 在一些實施例中，藉由經修飾IL-2/IL-2Rαβγ複合物之CD4+ Treg細胞增殖等於或大於野生型IL-2多肽的細胞增殖。

【0183】 在一些實施例中，IL-2/IL-2Rαβγ複合物誘導CD4+ Treg細胞增殖至足以調節動物模型之疾病過程的群體。

【0184】在一些實施例中，本文描述一種介白素2αβγ受體(IL-2Rαβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白之介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)的受體信號傳導效能低於野生型人類IL-2 (hIL-2)的信號傳導效能，且其中該結合蛋白包含至少一個非天然胺基酸。在一些情況下，該結合蛋白為經修飾IL-2多肽或其功能活性片段，其中經修飾IL-2多肽包含至少一個非天然胺基酸。

【0185】在一些實施例中，本文描述一種介白素2αβγ受體(IL-2Rαβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白之IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集低於野生型人類IL-2 (hIL-2)之募集，且其中該結合蛋白包含至少一個非天然胺基酸。在一些情況下，該結合蛋白為經修飾IL-2多肽或其功能活性片段，其中經修飾IL-2多肽包含至少一個非天然胺基酸。

【0186】在一些實施例中，本文描述一種介白素2αβγ受體(IL-2Rαβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白對介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)之結合親和力低於野生型人類IL-2 (hIL-2)，且其中該結合蛋白包含至少一個非天然胺基酸。在此類情況下，該結合蛋白為經修飾IL-2多肽或其功能活性片段，其中經修飾IL-2多肽包含至少一個非天然胺基酸。

【0187】在一些實施例中，本文描述一種IL-2/IL-2Rαβγ複合物，其包含有包含非天然胺基酸之經修飾IL-2多肽及IL-2Rαβγ，其中經修飾IL-2多肽與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能降低，及其中降低之受體信號傳導效能係與野生型IL-2多肽與IL-2Rβγ之間的結合親和力相比而言。在一些情況下，經修飾IL-2多肽進一步包含共價連接至非天然胺基酸之結合部分。

【0188】在一些實施例中，本文描述一種IL-2/IL-2Rαβγ複合物，

其包含有包含非天然胺基酸之經修飾IL-2多肽及IL-2Rαβγ，其中藉由該經修飾IL-2多肽之IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集低於野生型IL-2多肽之募集。在一些情況下，經修飾IL-2多肽進一步包含共價連接至非天然胺基酸之結合部分。

【0189】 在一些實施例中，本文描述一種IL-2/IL-2Rαβγ複合物，其包含有包含非天然胺基酸之經修飾IL-2多肽及IL-2Rαβγ，其中經修飾IL-2多肽對IL-2Rβγ之結合親和力降低，且其中降低之結合親和力係與野生型IL-2多肽與IL-2Rβγ之間的結合親和力相比而言。在一些實施例中，本文描述一種IL-2/IL-2Rαβγ複合物，其包含有包含非天然胺基酸之經修飾IL-2多肽及IL-2Rαβγ，其中藉由該經修飾IL-2多肽之IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集低於野生型IL-2多肽之募集。在一些情況下，經修飾IL-2多肽進一步包含共價連接至非天然胺基酸之結合部分。

【0190】 在一些實施例中，本文描述一種選擇性擴增細胞群體之CD4+ Treg細胞的CD4+ Treg細胞活化劑，其中該活化劑包含有包含至少一個非天然胺基酸之經修飾IL-2多肽。在一些情況下，相對於藉由野生型IL-2多肽接觸之CD3+細胞群體中CD8+效應T細胞及/或天然殺手細胞之擴增，當該活化劑與該CD3+細胞群體接觸時，該活化劑在CD3細胞群體中擴增CD8+效應T細胞及/或天然殺手細胞低於20%、15%、10%、5%、1%或0.1%。在一些情況下，該細胞群體為活體內細胞群體。在一些情況下，該細胞群體為活體外細胞群體。在一些情況下，該細胞群體為離體細胞群體。

【0191】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置38之殘基R38處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量

為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0192】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置41之殘基T41處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，

分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0193】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置42之殘基F42處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量

包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0194】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置43之殘基K43處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一

些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0195】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置44之殘基F44處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影

響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0196】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置45之殘基Y45處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之

間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0197】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置60之殘基E60處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0198】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置61之殘基E61處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0199】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置62之殘基E62處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。

在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0200】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置64之殘基K64處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些

實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0201】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置65之殘基P65處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾

IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0202】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置68之殘基E68處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2

多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0203】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置69之殘基V69處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對

IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0204】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置71之殘基N71處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽

/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0205】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置72之殘基L72處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0206】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置104之殘

基M104處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0207】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置105之C105處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量

包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

【0208】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置107之殘基Y107處包含突變的經修飾IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含

40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分地確定經修飾IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較長活體內血漿半衰期。在一些情況下，與較大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG對應於經修飾IL-2多肽之較短活體內血漿半衰期。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽與IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽對IL-2Rα的所需結合減少或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成無影響，其中與IL-2Rα之結合減少係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比而言。

細胞介素結合物前驅體

【0209】 本文描述細胞介素結合物前驅體，其包含突變體細胞介素(諸如IL-2)，其中一或多個胺基酸由野生型胺基酸突變成。本文所述用於治療疾病或病況之方法通常使用此類前驅體。在一些實施例中，細胞介素前驅體不發生結合。此類突變各包含添加、缺失或取代。在一些實施例中，突變包含取代為不同天然胺基酸。在一些情況下，突變體細胞介素包含在以下胺基酸位置處之突變：Y31、K32、N33、P34、K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、P47、K48、Q57、E60、E61、E62、L63、K64、P65、E68、V69、N71、L72、Q74、S75、K76、N77、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111或

A112，其中胺基酸殘基之編號與SEQ ID NO: 1相對應。在一些情況下，胺基酸位置選自Y31、K32、N33、P34、K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、P47、K48、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72、Q74、S75、K76、N77、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111及A112。在一些情況下，胺基酸位置選自N33、P34、K35、T37、R38、M39、T41、F42、K43、F44、Y45、Q57、E60、E61、E62、L63、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111及A112。在一些情況下，胺基酸位置選自K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、R38、T41、F42、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、R38、T41、F42、F44、Y45、E61、E62、E68、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、T41、F42、F44、Y45、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自R38及K64。在一些情況下，胺基酸位置選自E61、E62及E68。在一些情況下，胺基酸位置在K35。在一些情況下，胺基酸位置在T37。在一些情況下，胺基酸位置在R38。在一些情況下，胺基酸位置在T41。在一些情況下，胺基酸位置在F42。在一些情況下，胺基酸位置在K43。在一些情況下，胺基酸位置在F44。在一些情況下，胺基酸位置在Y45。在一些情況下，胺基酸位置在E61。在一些情況下，胺基酸位置在E62。在一些情況下，胺基酸位置在K64。在一些情況下，胺基酸位置在E68。在一些情況下，胺基酸位置在P65。在一些情況下，胺基酸位置在V69。在一些情況下，胺基酸位

置在L72。在一些情況下，胺基酸位置在Y107。在一些情況下，胺基酸位置在L72。在一些情況下，胺基酸位置在D109。在一些實施例中，細胞介素突變體包含結合部分，其中結合部分連接至突變體細胞介素中之突變型位點。

【0210】本文所述之細胞介素突變體通常包含一或多個向天然胺基酸之突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及至少一個突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62K突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62C突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62A突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62I突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62L突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62Y突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62W突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62N突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62R突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62D突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62Q突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62G突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62H突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62M突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62F突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62P突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62S突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62T

突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及E62V突變。

【0211】在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及至少一個突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65K突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65C突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65A突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65I突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65L突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65Y突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65W突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65N突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65R突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65D突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65Q突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65G突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65H突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65M突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65F突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65E突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65S突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65T突變。在一些實施例中，細胞介素突變體包含SEQ ID NO: 1及P65V突變。

蛋白質或肽融合物

【0212】在一些實施例中，本文所述之細胞介素結合物包含與肽或蛋白質(融合物)融合之細胞介素(例如IL-2或其他細胞介素)。在一些實施例中，肽或蛋白質為抗體或抗體片段。在一些實施例中，本文所述之細胞介素結合物包含與抗體或其結合片段融合之細胞介素(例如IL-2或其他細胞介素)。在一些實施例中，使本文所述之細胞介素與多種蛋白質或肽融合。在一些實施例中，細胞介素結合物包含與蛋白質或肽之細胞介素融合物及至少一個結合部分。在一些情況下，抗體或其結合片段包含人類化抗體或其結合片段、鼠類抗體或其結合片段、嵌合抗體或其結合片段、單株抗體或其結合片段、單價Fab'、二價Fab_2、$F(ab)'_3$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、$(scFv)_2$、雙功能抗體、微型抗體、奈米抗體、三功能抗體、四功能抗體、人類抗體、經二硫鍵穩定Fv蛋白質(dsFv)、單域抗體(sdAb)、Ig NAR、駱駝抗體或其結合片段、雙特異性抗體或其結合片段或其經化學修飾衍生物。在一些情況下，此類融合蛋白質直接經由轉譯產生。在一些實施例中，融合物使用化學或其他酶促連接方法產生。在一些實施例中，細胞介素結合物包含藉由連接子連接之經融合肽或蛋白質。在一些實施例中，連接子為肽。在一些實施例中，細胞介素結合物包含N端肽或蛋白質融合物。在一些實施例中，細胞介素結合物包含C端肽或蛋白質融合物。在一些情況下，與肽或蛋白質融合之細胞介素進一步與一或多個下文所述之結合部分結合。

【0213】在一些情況下，細胞介素結合物包含與scFv、雙scFv、$(scFv)_2$、dsFv之融合物或sdAb融合物。在一些情況下，融合物包含scFv。在一些情況下，細胞介素結合物包含與雙scFv之融合物。在一些情況下，細胞介素結合物包含與$(scFv)_2$之融合物。在一些情況下，細胞介

素結合物包含與dsFv之融合物。在一些情況下，細胞介素結合物包含與sdAb之融合物。在一些情況下，與scFv、雙scFv、$(scFv)_2$、dsFv或sdAb融合之細胞介素進一步與一或多個下文所述之結合部分結合。

【0214】 在一些情況下，細胞介素結合物包含與抗體(例如IgG、IgA、IgM、IgE或IgD)之Fc部分之融合物。在一些情況下，細胞介素結合物包含與IgG (例如IgG_1、IgG_3或IgG_4)之Fc部分之融合物。在一些情況下，與Fc部分融合之細胞介素進一步與一或多個下文所述之結合部分結合。

【0215】 在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與抗體或其結合片段融合。在一些情況下，細胞介素多肽與以下融合：人類化抗體或其結合片段、鼠類抗體或其結合片段、嵌合抗體或其結合片段、單株抗體或其結合片段、單價Fab'、二價Fab_2、$F(ab)'_3$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、$(scFv)_2$、雙功能抗體、微型抗體、奈米抗體、三功能抗體、四功能抗體、人類抗體、經二硫鍵穩定Fv蛋白質(dsFv)、單域抗體(sdAb)、Ig NAR、駱駝抗體或其結合片段、雙特異性抗體或其結合片段或其經化學修飾衍生物。在額外情況下，細胞介素多肽與抗體之Fc部分融合。在額外情況下，細胞介素多肽與IgG (例如IgG_1、IgG_3或IgG_4)之Fc部分融合。在一些情況下，與抗體或其結合片段融合之細胞介素進一步與一或多個下文所述之結合部分結合。

【0216】 在一些情況下，IL-2多肽與抗體或其結合片段融合。在一些情況下，IL-2多肽與人類化抗體或其結合片段、鼠類抗體或其結合片段、嵌合抗體或其結合片段、單株抗體或其結合片段、單價Fab'、二價Fab_2、$F(ab)'_3$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、$(scFv)_2$、雙功能抗

體、微型抗體、奈米抗體、三功能抗體、四功能抗體、人類抗體、經二硫化物穩定Fv蛋白(dsFv)、單結構域抗體(sdAb)、Ig NAR、駱駝抗體或其結合片段、雙特異性抗體或其結合片段或其經化學修飾衍生物融合。在額外情況下，IL-2多肽與抗體之Fc部分融合。在額外情況下，IL-2多肽與IgG (例如IgG_1、IgG_3或IgG_4)之Fc部分融合。在一些情況下，與抗體或其結合片段融合之IL-2多肽進一步與一或多個下文所述之結合部分結合。

天然及非天然胺基酸

【0217】 在一些實施例中，本文所述(例如在諸如IL-2之細胞介素內)之胺基酸殘基在結合至結合部分(或與其反應)之前突變成離胺酸、半胱胺酸、組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或酪胺酸。舉例而言，離胺酸、半胱胺酸、組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或酪胺酸之側鏈可結合至本文所述之結合部分。在一些情況下，胺基酸殘基突變成半胱胺酸、離胺酸或組胺酸。在一些情況下，胺基酸殘基突變成半胱胺酸。在一些情況下，胺基酸殘基突變成離胺酸。在一些情況下，胺基酸殘基突變成組胺酸。在一些情況下，胺基酸殘基突變成酪胺酸。在一些情況下，胺基酸殘基突變成色胺酸。在一些實施例中，非天然胺基酸不與結合部分結合。在一些實施例中，本文所述之細胞介素包含非天然胺基酸，其中該細胞介素與蛋白質結合，其中該連接點並非非天然胺基酸。

【0218】 在一些實施例中，本文所述(例如在諸如IL-2之細胞介素內)之胺基酸殘基在結合至結合部分之前突變成非天然胺基酸。在一些情況下，向非天然胺基酸之突變防止免疫系統之自身抗原反應或使免疫系統之自身抗原反應減至最小。如本文所用，術語「非天然胺基酸」或「非典

型胺基酸」係指除20個天然存在於蛋白質中之胺基酸外之胺基酸。非天然胺基酸之非限制性實例包括：對乙醯基-L-苯丙胺酸、對碘-L-苯丙胺酸、對甲氧基苯丙胺酸、O-甲基-L-酪胺酸、對炔丙基氧基苯丙氨酸、對炔丙基-苯丙胺酸、L-3-(2-萘基)丙胺酸、3-甲基-苯丙胺酸、O-4-烯丙基-L-酪胺酸、4-丙基-L-酪胺酸、三-O-乙醯基-GlcNAc對絲胺酸、L-多巴、氟化苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、對疊氮基-L-苯丙胺酸、對醯基-L-苯丙胺酸、對苯甲醯基-L-苯丙胺酸、對二羥硼基苯丙胺酸、O-炔丙基酪胺酸、L-磷絲胺酸、膦醯基絲胺酸、膦醯基酪胺酸、對溴苯基丙胺酸、硒半胱胺酸、對胺基-L-苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、N6-(2-疊氮基乙氧基)-羰基-L-離胺酸(AzK；其化學結構在圖3C中展示為化合物90)，酪胺酸胺基酸之非天然類似物；麩醯胺酸胺基酸之非天然類似物；苯丙胺酸胺基酸之非天然類似物；絲胺酸胺基酸之非天然類似物；蘇胺酸胺基酸之非天然類似物；經烷基、芳基、醯基、疊氮基、氰基、鹵基、肼、醯肼、羥基、烯基、炔烴、醚、硫醇、磺醯基、硒基、酯、硫代酸、硼酸鹽、硼酸酯、膦基、膦醯基、膦、雜環、烯酮、亞胺、醛、羥胺、酮基或胺基取代之胺基酸或其組合；具有光可活化交聯劑之胺基酸；經螺旋標記胺基酸；螢光胺基酸；金屬結合胺基酸；含金屬之胺基酸；放射性胺基酸；光籠化及/或光可異構化胺基酸；含有生物素或生物素類似物之胺基酸；含有酮之胺基酸；包含聚乙二醇或聚醚之胺基酸；經重鍵原子取代胺基酸；化學可裂解或可光裂解之胺基酸；具有細長側鏈之胺基酸；含有毒性基團之胺基酸；經糖取代胺基酸；碳連接之含糖胺基酸；氧化還原活性胺基酸；含有胺基酸之α-羥基；α,α二取代胺基酸；β-胺基酸；除脯胺酸或組胺酸外之環狀胺基酸及除苯丙胺酸、酪胺酸或色胺酸外之芳族胺基酸。

【0219】 在一些實施例中，非天然胺基酸包含用於目標多肽之位點選擇性標記的選擇性反應性基團或反應性基團。在一些情況下，化學反應為雙正交反應(例如生物相容及選擇性反應)。在一些情況下，化學反應為Cu (I)催化或「無銅」炔烴-疊氮化物三唑形成反應、施陶丁格連接(Staudinger ligation)、反轉電子需求之狄爾斯-阿德(inverse-electron-demand Diels-Alder；IEDDA)反應、「光點擊(photo-click)」化學反應或金屬介導之方法，諸如烯烴複分解及Suzuki-Miyaura或Sonogashira交叉偶合。

【0220】 在一些實施例中，非天然胺基酸包含光反應性基團，其在用例如UV照射時交聯。

【0221】 在一些實施例中，非天然胺基酸包含光籠蔽胺基酸。

【0222】 在一些情況下，非天然胺基酸為經對位取代、經間位取代或經鄰位取代之胺基酸衍生物。

【0223】 在一些情況下，非天然胺基酸包含對乙醯基-L-苯丙胺酸、對疊氮基甲基-L-苯丙胺酸(pAMF)、對碘-L-苯丙胺酸、O-甲基-L-酪胺酸、對甲氧基苯丙胺酸、對炔丙基氧基苯丙胺酸、對炔丙基-苯丙胺酸、L-3-(2-萘基)丙胺酸、3-甲基-苯丙胺酸、O-4-烯丙基-L-酪胺酸、4-丙基-L-酪胺酸、三-O-乙醯基-GlcNAcβ-絲胺酸、L-多巴、氟化苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、對疊氮基-L-苯丙胺酸、對醯基-L-苯丙胺酸、對苯甲醯基-L-苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、對疊氮基-L-苯丙胺酸、對醯基-L-苯丙胺酸、對苯甲醯基-L-苯丙胺酸、L-磷絲胺酸、膦醯基絲胺酸、膦醯基酪胺酸、對溴苯基丙胺酸、對胺基-L-苯丙胺酸或異丙基-L-苯丙胺酸。

【0224】 在一些情況下，非天然胺基酸為3-胺基酪胺酸、3-硝基酪胺酸、3,4-二羥基-苯丙胺酸或3-碘酪胺酸。

【0225】 在一些情況下，非天然胺基酸為苯基硒半胱胺酸。

【0226】 在一些情況下，非天然胺基酸為含有二苯甲酮、酮、碘、甲氧基、乙醯基、苯甲醯基或疊氮基之苯丙胺酸衍生物。

【0227】 在一些情況下，非天然胺基酸為含有二苯甲酮、酮、碘、甲氧基、乙醯基、苯甲醯基或疊氮基之離胺酸衍生物。

【0228】 在一些情況下，非天然胺基酸包含芳族側鏈。

【0229】 在一些情況下，非天然胺基酸不包含芳族側鏈。

【0230】 在一些情況下，非天然胺基酸包含疊氮基。

【0231】 在一些情況下，非天然胺基酸包含邁克爾受體(Michael-acceptor)基團。在一些情況下，邁克爾受體基團包含能夠經由1,2-加成反應形成共價鍵之不飽和部分。在一些情況下，邁克爾受體基團包含缺電子烯烴或炔烴。在一些情況下，邁克爾受體基團包括(但不限於) α,β不飽和的：酮、醛、亞碸、碸、腈、亞胺或芳族化合物。

【0232】 在一些情況下，非天然胺基酸為去氫丙胺酸。

【0233】 在一些情況下，非天然胺基酸包含醛或酮基團。

【0234】 在一些情況下，非天然胺基酸為包含醛或酮基團之離胺酸衍生物。

【0235】 在一些情況下，非天然胺基酸為在β、γ或δ位置包含一或多個O、N、Se或S原子之離胺酸衍生物。在一些情況下，非天然胺基酸為在γ位置包含O、N、Se或S原子之離胺酸衍生物。

【0236】 在一些情況下，非天然胺基酸為ε N原子經氧原子置換之

離胺酸衍生物。

【0237】 在一些情況下，非天然胺基酸為並非天然存在之轉譯後修飾離胺酸之離胺酸衍生物。

【0238】 在一些情況下，非天然胺基酸為包含側鏈之胺基酸，其中來自α位置之第六原子包含羰基。在一些情況下，非天然胺基酸為包含側鏈之胺基酸，其中來自α位置之第六原子包含羰基，來自α位置之第五原子為氮。在一些情況下，非天然胺基酸為包含側鏈之胺基酸，其中來自α位置之第七原子為氧原子。

【0239】 在一些情況下，非天然胺基酸為包含硒之絲胺酸衍生物。在一些情況下，非天然胺基酸為硒絲胺酸(2-胺基-3-氫硒丙酸)。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-3-((2-((3-(苯甲氧基)-3-側氧基丙基)胺基)乙基)硒烷基)丙酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-3-(苯基硒烷基)丙酸。在一些情況下，非天然胺基酸包含硒，其中硒之氧化致使形成包含烯烴之非天然胺基酸。

【0240】 在一些情況下，非天然胺基酸包含環辛炔基。

【0241】 在一些情況下，非天然胺基酸包含反環辛烯基。

【0242】 在一些情況下，非天然胺基酸包含降冰片烯基。

【0243】 在一些情況下，非天然胺基酸包含環丙烯基。

【0244】 在一些情況下，非天然胺基酸包含二氮環丙烯基。

【0245】 在一些情況下，非天然胺基酸包含四嗪基。

【0246】 在一些情況下，非天然胺基酸為離胺酸衍生物，其中側鏈氮經胺甲醯基化。在一些情況下，非天然胺基酸為離胺酸衍生物，其中側鏈氮經醯化。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(第三丁氧基)羰

基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(第三丁氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-Boc-N6-甲基離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-乙醯基離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為吡咯離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-三氟乙醯基離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(苯甲氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(對碘苯甲氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(對硝基苯甲氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-脯胺醯基離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(環戊氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(環戊烷羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(四氫呋喃-2-羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(3-乙炔基四氫呋喃-2-羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(2-疊氮基環戊氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(2-疊氮基乙氧基)-羰基-離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(2-硝基苯甲氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-{[(2-環辛炔基氧基)羰基]胺基}己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(2-胺基丁-3-炔醯基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-6-((2-胺基丁-3-炔醯基)氧基)己酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(烯丙氧基羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(丁烯基-4-氧基羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(戊烯基-5-氧基羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((丁-3-炔-1-基氧基)羰基)-離胺酸。在一些情況下，非天

然胺基酸為N6-((戊-4-炔-1-基氧基)羰基)-離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(噻唑啶-4-羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-8-側氧基壬酸。在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-8-側氧基辛酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(2-側氧乙醯基)離胺酸。

【0247】 在一些情況下，非天然胺基酸為N6-丙醯基離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-丁醯基離胺酸，在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(丁-2-烯醯基)離胺酸，在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((雙環[2.2.1]庚-5-烯-2-基氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((螺[2.3]己-1-烯-5-基甲氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-(((4-(1-(三氟甲基)環丙-2-烯-1-基)苯甲基)氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((雙環[2.2.1]庚-5-烯-2-基甲氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為半胱胺醯基離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((1-(6-硝基苯并[d][1,3]二氧雜環戊烯-5-基)乙氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((2-(3-甲基-3H-二氮雜環丙烯-3-基)乙氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((3-(3-甲基-3H-二氮雜環丙烯-3-基)丙氧基)羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((間硝基苯甲氧基)N6-甲基羰基)離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((雙環[6.1.0]非-4-炔-9-基甲氧基)羰基)-離胺酸。在一些情況下，非天然胺基酸為N6-((環庚-3-烯-1-基氧基)羰基)-L-離胺酸。

【0248】 在一些情況下，非天然胺基酸為2-胺基-3-(((((苯甲氧基)羰基)胺基)甲基)硒烷基)丙酸。

【0249】 在一些實施例中，非天然胺基酸藉由重新設置之琥珀、蛋

白石或赭石終止密碼子併入至細胞介素(例如IL多肽)中。

【0250】 在一些實施例中，非天然胺基酸藉由4-鹼基密碼子併入至細胞介素(例如IL多肽)中。

【0251】 在一些實施例中，非天然胺基酸藉由重新設置之罕見有意義密碼子併入至細胞介素(例如IL多肽)中。

【0252】 在一些實施例中，非天然胺基酸藉由包含非天然核酸之合成密碼子併入至細胞介素(例如IL多肽)中。

在一些情況下，非天然胺基酸藉由正交經修飾合成酶/tRNA對併入至細胞介素中。此類正交對包含能夠使非天然tRNA加載非天然胺基酸，同時使a)其他內源性胺基酸於非天然tRNA上及b)非天然胺基酸於其他內源性tRNA上之加載降至最低的非天然合成酶。此類正交對包含能夠藉由非天然合成酶加載，同時避免藉由內源性合成酶加載a)其他內源性胺基酸之tRNA。在一些實施例中，此類對自諸如細菌、酵母、古細菌或人類來源之各種生物體鑑別出。在一些實施例中，正交合成酶/tRNA對包含來自單個生物體之組分。在一些實施例中，正交合成酶/tRNA對包含來自兩個不同生物體之組分。在一些實施例中，正交合成酶/tRNA對包含在經修飾前促進兩個不同胺基酸之轉譯的組分。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾丙胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾精胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾天冬醯胺合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾天冬胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾半胱胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾麩醯胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾麩胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾丙胺酸甘胺酸。在一些實施例中，正交合

成酶為經修飾組胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾白胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾異白胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾離胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾甲硫胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾苯丙胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾脯胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾絲胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾蘇胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾色胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾酪胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾纈胺酸合成酶。在一些實施例中，正交合成酶為經修飾磷絲胺酸合成酶。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾丙胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾精胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾天冬醯胺tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾天冬胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾半胱胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾麩醯胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾麩胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾丙胺酸甘胺酸。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾組胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾白胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾異白胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾離胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾甲硫胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾苯丙胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾脯胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾絲胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾蘇胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾色胺酸

tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾酪胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾纈胺酸tRNA。在一些實施例中，正交tRNA為經修飾磷絲胺酸tRNA。

【0253】 在一些實施例中，非天然胺基酸藉由胺醯基(aaRS或RS)-tRNA合成酶-tRNA對併入至細胞介素(例如IL多肽)中。例示性aaRS-tRNA對包括(但不限於)：詹氏甲烷球菌(*Mj-Tyr*) aaRS/tRNA對、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌$tRNA_{CUA}$對、大腸桿菌LeuRS (*Ec-Leu*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌$tRNA_{CUA}$對及吡咯離胺醯基-tRNA對。在一些情況下，非天然胺基酸藉由*Mj-Tyr*RS/tRNA對併入至細胞介素(例如IL多肽)中。可藉由*Mj-Tyr*RS/tRNA對併入之例示性UAA包括(但不限於)經對位取代之苯丙胺酸衍生物，諸如對胺基苯丙胺酸及對甲氧基苯丙胺酸；經間位取代之酪胺酸衍生物，諸如3-胺基酪胺酸、3-硝基酪胺酸、3,4-二羥基苯丙胺酸及3-碘酪胺酸；苯基硒半胱胺酸；對二羥硼基苯丙胺酸；及鄰硝基苯甲基酪胺酸。

【0254】 在一些情況下，非天然胺基酸藉由*Ec-Tyr*/$tRNA_{CUA}$或*Ec-Leu*/$tRNA_{CUA}$對併入至細胞介素(例如IL多肽)中。可藉由*Ec-Tyr*/$tRNA_{CUA}$或*Ec-Leu*/$tRNA_{CUA}$對併入之例示性UAA包括(但不限於)含有二苯甲酮、酮、碘或疊氮基物取代基之苯丙胺酸衍生物；O-炔丙基酪胺酸；α-胺基辛酸、O-甲基酪胺酸、O-硝苄基半胱胺酸；及3-(萘-2-基胺基)-2-胺基-丙酸。

【0255】 在一些情況下，非天然胺基酸藉由吡咯離胺醯基-tRNA對併入至細胞介素(例如IL多肽)中。在一些情況下，PylRS獲自古細菌，例如獲自產甲烷古細菌。在一些情況下，PylRS獲自巴氏甲烷八疊球菌

(*Methanosarcina barkeri*)、馬氏甲烷八疊球菌(*Methanosarcina mazei*)或嗜乙酸甲烷八疊球菌(*Methanosarcina acetivorans*)。可藉由吡咯離胺醯基-tRNA對併入之例示性UAA包括(但不限於)經醯胺及胺基甲酸酯取代之離胺酸，諸如2-胺基-6-((R)-四氫呋喃-2-甲醯胺基)己酸、*N*-ε-D-脯胺醯基-L-離胺酸及N-ε-環戊基氧基羰基-L-離胺酸；*N*-ε-丙烯醯基-L-離胺酸；*N*-ε-[(1-(6-硝基苯并[d][1,3]間二氧雜環戊烯-5-基)乙氧基)羰基]-L-離胺酸；及*N*-ε-(1-甲基環丙-2-烯甲醯胺基)離胺酸。在一些實施例中，本文中所揭示之IL-2結合物可藉由使用藉由*M.barkeri*吡咯離胺醯基-tRNA合成酶(*Mb* PylRS)選擇性加載有非天然胺基酸(諸如*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK))的*M. mazei* Pyl tRNA來製備。其他方法對於一般熟習此項技術者為已知的，諸如揭示於Zhang等人, Nature 2017, 551(7682): 644-647中之彼等。

【0256】在一些情況下，非天然胺基酸藉由US 9,988,619及US 9,938,516中所揭示之合成酶併入至本文所述之細胞介素(例如IL多肽)中。可藉由此類合成酶併入之例示性UAA包括對甲基疊氮基-L-苯丙胺酸、芳烷基、雜環基、雜芳烷基非天然胺基酸及其他非天然胺基酸。在一些實施例中，此類UAA包含吡啶基、吡嗪基、吡唑基、三唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基或其他雜環。在一些實施例中，此類胺基酸包含疊氮基、四嗪或諸如水溶性部分之能夠結合至偶合搭配物之其他化學基團。在一些實施例中，此類合成酶得以表現且用以將UAA併入至活體內細胞介素中。在一些實施例中，此類合成酶用以使用轉譯系統將UAA併入至細胞介素中。

【0257】在一些情況下，非天然胺基酸藉由天然產生之合成酶併入

至本文所述之細胞介素(例如IL多肽)中。在一些實施例中，非天然胺基酸藉由對於一或多個胺基酸具營養缺陷性之生物體併入至細胞介素中。在一些實施例中，對應於營養缺陷型胺基酸之合成酶能夠使對應tRNA加載非天然胺基酸。在一些實施例中，非天然胺基酸為硒半胱胺酸或其衍生物。在一些實施例中，非天然胺基酸為硒甲硫胺酸或其衍生物。在一些實施例中，非天然胺基酸為芳族胺基酸，其中芳族胺基酸包含芳基鹵化物，諸如碘化物。在實施例中，非天然胺基酸在結構上與營養缺陷型胺基酸類似。

【0258】 在一些情況下，非天然胺基酸包含圖1中所說明的非天然胺基酸。

【0259】 在一些情況下，非天然胺基酸包含離胺酸或苯丙胺酸衍生物或類似物。在一些情況下，非天然胺基酸包含離胺酸衍生物或離胺酸類似物。在一些情況下，非天然胺基酸包含吡咯離胺酸(Pyl)。在一些情況下，非天然胺基酸包含苯丙胺酸衍生物或苯丙胺酸類似物。在一些情況下，非天然胺基酸為Wan等人，「Pyrrolysyl-tRNA synthetase: an ordinary enzyme but an outstanding genetic code expansion tool」, Biocheim Biophys Aceta 1844(6): 1059-4070 (2014)中所述之非天然胺基酸。在一些情況下，非天然胺基酸包含圖2 (例如圖2A及圖2B)中所說明的之非天然胺基酸。

【0260】 在一些實施例中，非天然胺基酸包含圖3A-圖3D中所說明的非天然胺基酸(改編自Dumas等人, Chemical Science 2015, 6, 50-69之表1)。

【0261】 在一些實施例中，併入至本文所述之細胞介素(例如IL多肽)中之非天然胺基酸揭示於US 9,840,493；US 9,682,934；US

2017/0260137；US 9,938,516；或US 2018/0086734中。可藉由此類合成酶併入之例示性UAA包括對甲基疊氮基-L-苯丙胺酸、芳烷基、雜環基及雜芳烷基及離胺酸衍生物非天然胺基酸。在一些實施例中，此類UAA包含吡啶基、吡嗪基、吡唑基、三唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基或其他雜環。在一些實施例中，此類胺基酸包含疊氮基、四嗪或諸如水溶性部分之能夠結合至偶合搭配物之其他化學基團。在一些實施例中，UAA包含經由烷基連接子連接至芳族部分之疊氮基。在一些實施例中，烷基連接子為C_1-C_{10}連接子。在一些實施例中，UAA包含經由烷基連接子連接至芳族部分之四嗪。在一些實施例中，UAA包含經由胺基連接至芳族部分之四嗪。在一些實施例中，UAA包含經由烷胺基連接至芳族部分之四嗪。在一些實施例中，UAA包含經由烷基鏈連接至胺基酸側鏈之末端氮(例如離胺酸衍生物之N6，或包含較短烷基側鏈之衍生物之N5、N4或N3)之疊氮基。在一些實施例中，UAA包含經由烷基鏈連接至胺基酸側鏈之末端氮之四嗪。在一些實施例中，UAA包含經由烷基連接子連接至醯胺之疊氮基或四嗪。在一些實施例中，UAA為3-胺基丙胺酸、絲胺酸、離胺酸或其衍生物之含有疊氮基或四嗪之胺基甲酸酯或醯胺。在一些實施例中，此類UAA併入至活體內細胞介素中。在一些實施例中，此類UAA併入至無細胞系統中之細胞介素中。

結合部分

【0262】 在某些實施例中，本文揭示結合至一或多種上述細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)之結合部分。在一些情況下，結合部分為干擾細胞介素與其受體之相互作用的分子。在一些情況下，結合部分為當鍵結至細胞介素時使得細胞介素結合物能夠調節免疫反應之任何分子。在一些

情況下，結合部分經由共價鍵結合至細胞介素。在一些情況下，本文所述之細胞介素由三唑基團連接至結合部分。在一些情況下，本文所述之細胞介素由二氫噠嗪或噠嗪基團連接至結合部分。在一些情況下，結合部分包含水溶性聚合物。在其他情況下，結合部分包含蛋白質或其結合片段。在額外情況下，結合部分包含肽。在額外情況下，結合部分包含核酸。在額外情況下，結合部分包含小分子。在額外情況下，結合部分包含生物結合物(例如，TLR促效劑，諸如TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8或TLR9促效劑；或合成配體，諸如Pam3Cys、CFA、MALP2、Pam2Cys、FSL-1、Hib-OMPC、聚I:C、聚A:U、AGP、MPL A、RC-529、MDF2β、CFA或鞭毛蛋白(Flagellin))。在一些情況下，結合部分增加血清半衰期及/或改善穩定性。在一些情況下，結合部分降低細胞介素與一或多個細胞介素受體域或次單元之相互作用。在額外情況下，結合部分阻斷細胞介素與一或多個細胞介素域或次單元及其同源受體之相互作用。在一些實施例中，本文所述之細胞介素結合物包含多個結合部分。在一些實施例中，結合部分連接至細胞介素肽中之非天然或天然胺基酸。在一些情況下，細胞介素結合物包含連接至天然胺基酸之結合部分。在一些實施例中，細胞介素結合物連接至細胞介素肽中之非天然胺基酸。在一些實施例中，結合部分連接至細胞介素肽之N或C端胺基酸。本文揭示各種組合位點，例如第一結合部分連接至細胞介素肽中之非天然或天然胺基酸，且第二結合部分連接至細胞介素肽之N或C端胺基酸。在一些實施例中，單個結合部分連接至細胞介素肽(例如短纖維)之多個殘基。在一些實施例中，結合部分連接至細胞介素肽之N與C端胺基酸。

水溶性聚合物

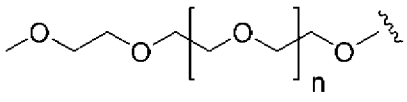
【0263】 在一些實施例中，本文所述之結合部分為水溶性聚合物。在一些情況下，水溶性聚合物為非肽、無毒性及生物相容的。如本文所用，若與物質單獨或與另一物質(例如活性劑，諸如細胞介素部分)一起結合活組織使用(例如向患者投與)相關之有利效果勝過如由例如醫師、毒理學家或臨床開發專家之臨床醫師所評估之任何不利效果，則該物質視為生物相容的。在一些情況下，水溶性聚合物進一步為非免疫原性的。在一些情況下，若物質之預期活體內使用不產生不合需要之免疫反應(例如形成抗體)或若產生免疫反應，但如藉由例如醫師、毒理學家或臨床臨床開發專家之臨床醫師所評估並不認為此類反應臨床上顯著或重要，則該物質視為非免疫原性的。

【0264】 在一些情況下，水溶性聚合物之特徵為具有約2至約300個末端。例示性水溶性聚合物包括(但不限於)聚(伸烷基乙二醇)，諸如聚乙二醇(「PEG」)、聚(丙二醇) (「PPG」)、乙二醇及丙二醇之共聚物及其類似物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯系醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇) (PVA)、聚丙烯醯胺(PAAm)、聚(N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺) (PHPMA)、聚二甲基丙烯醯胺(PDAAm)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(「POZ」) (其描述於中WO 2008/106186)、聚(N-丙烯醯嗎啉)及前述中之任一者之組合。

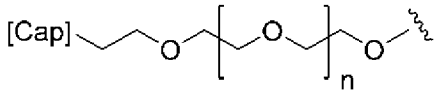
【0265】 在一些情況下，水溶性聚合物不限於特定結構。在一些情況下，水溶性聚合物為直鏈(例如封端的，例如烷氧基PEG或雙官能PEG)、分支鏈或多臂(例如分叉PEG或連接至多元醇核心之PEG)、樹突狀

(或星形)架構，其各自含或不含一或多個可分解鍵聯。此外，水溶性聚合物之內部結構可以許多不同重複模式組織，且可選自由以下組成之群：均聚物、交替共聚物、無規共聚物、嵌段共聚物、交替三聚物、無規三聚物及嵌段三聚物。

【0266】在一些情況下，水溶性聚合物由重複聚合單元之長度，例如聚乙二醇單元之數目n表示。在一些情況下，水溶性聚合物具有以下結構：



，其中波浪線表示連接至連接子、反應性基團或非天然胺基酸，及n為1至5000。在一些情況下，水溶性聚合物具有以下結構：



，其中波浪線表示附接至連接、反應性基團或非天然胺基酸，「Cap」表示封端基團(例如，諸如-OCH_3、-O(C_1-C_6烷基)、-SMe、-S(C_1-C_6烷基)、-CO_2H、-CO_2(C_1-C_6烷基)、-$CONH_2$、-CONH(C_1-C_6烷基)、-CON(C_1-C_6烷基)$_2$、-NH_2、-SH或OH)及n為1-5000。在一些實施例中，n為100-2000、200-1000、300-750、400-600、450-550、400-2000、750-3000或100-750。在一些實施例中，n為約100、200、300、400、500、600、700、800、900或約1000。在一些實施例中，n為至少100、200、300、400、500、600、700、800、900或至少1000。在一些實施例中，n為不超過100、200、300、400、500、600、700、800、900或不超過1000。在一些實施例中，n表示為水溶性聚合物之平均長度。

【0267】在一些實施例中，IL-2結合物中水溶性聚合物之重量平均

分子量為約100道爾頓至約150,000道爾頓。例示性範圍包括例如在大於5,000道爾頓至約100,000道爾頓範圍內、在約6,000道爾頓至約90,000道爾頓範圍內、在約10,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在大於10,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在約20,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在約53,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在約25,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內、在約29,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內、在約35,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內及在約40,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內之重量平均分子量。

【0268】 水溶性聚合物之例示性重量平均分子量包括：約100道爾頓、約200道爾頓、約300道爾頓、約400道爾頓、約500道爾頓、約600道爾頓、約700道爾頓、約750道爾頓、約800道爾頓、約900道爾頓、約1,000道爾頓、約1,500道爾頓、約2,000道爾頓、約2,200道爾頓、約2,500道爾頓、約3,000道爾頓、約4,000道爾頓、約4,400道爾頓、約4,500道爾頓、約5,000道爾頓、約5,500道爾頓、約6,000道爾頓、約7,000道爾頓、約7,500道爾頓、約8,000道爾頓、約9,000道爾頓、約10,000道爾頓、約11,000道爾頓、約12,000道爾頓、約13,000道爾頓、約14,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約22,500道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約55,000道爾頓、約60,000道爾頓、約65,000道爾頓、約70,000道爾頓及約75,000道爾頓。亦可使用具有前述中之任一者之總分子量的分支形式之水溶性聚合物(例如包含兩個20,000道爾頓聚合物之分支40,000道爾頓水溶性聚合物)。在一或多個實施例中，結合物不具有直接抑或間接連接具有低於約6,000道爾頓之重量平均分子

量之PEG的任何PEG部分。

【0269】 PEG通常包含許多(OCH_2CH_2)單體[或(CH_2CH_2O)單體，視PEG如何定義而定]。如本文所用，重複單元之數量由「(OCH_2CH_2)n 」中之下標「n」標識。因此，(n)之值通常屬於以下範圍中之一或多者內：2至約3400、約100至約2300、約100至約2270、約136至約2050、約225至約1930、約450至約1930、約1200至約1930、約568至約2727、約660至約2730、約795至約2730、約795至約2730、約909至約2730及約1,200至約1,900。對於分子量已知之任何既定聚合物，可藉由聚合物之總重量平均分子量除以重複單體之分子量確定重複單元之數量(亦即「n」)。

【0270】 在一些情況下，水溶性聚合物為封端聚合物，亦即，具有至少一個用諸如低碳C_{1-6}烷氧基或羥基之相對惰性基團封端之末端的聚合物。當聚合物為PEG時，例如可使用甲氧基-PEG(通常稱為mPEG)，其為直鏈形式之PEG，其中聚合物之一個末端為甲氧基(-OCH_3)，而另一末端為羥基或可視情況經化學修飾其他官能基。

【0271】 在一些實施例中，包含本文所揭示之IL-2結合物的PEG基團為直鏈或分支鏈PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為直鏈PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為分支鏈PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為直鏈或分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為直鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為約100道爾頓至約150,000道爾頓之直鏈或分支鏈PEG基團。例示性範圍包括例如在大於5,000道爾頓至約100,000道爾頓範

圍內、在約6,000道爾頓至約90,000道爾頓範圍內、在約10,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在大於10,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在約20,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在約53,000道爾頓至約85,000道爾頓範圍內、在約25,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內、在約29,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內、在約35,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內及在約40,000道爾頓至約120,000道爾頓範圍內之重量平均分子量。PEG基團之例示性重量平均分子量包括約100道爾頓、約200道爾頓、約300道爾頓、約400道爾頓、約500道爾頓、約600道爾頓、約700道爾頓、約750道爾頓、約800道爾頓、約900道爾頓、約1,000道爾頓、約1,500道爾頓、約2,000道爾頓、約2,200道爾頓、約2,500道爾頓、約3,000道爾頓、約4,000道爾頓、約4,400道爾頓、約4,500道爾頓、約5,000道爾頓、約5,500道爾頓、約6,000道爾頓、約7,000道爾頓、約7,500道爾頓、約8,000道爾頓、約9,000道爾頓、約10,000道爾頓、約11,000道爾頓、約12,000道爾頓、約13,000道爾頓、約14,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約22,500道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約55,000道爾頓、約60,000道爾頓、約65,000道爾頓、約70,000道爾頓、約75,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約95,000道爾頓及約100,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為具有如上所述之平均分子量的直鏈PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為具有如上所述之平均分子量的分支鏈PEG基團。在一些實施例中，包含本文所揭示之IL-2結合物的PEG基團為具有限定分子量±10%、或15%、或20%、或25%之直鏈或分支鏈PEG基團。舉例而言，包括於本發明範疇內

的IL-2結合物包含分子量為30,000 Da±3000 Da，或30,000 Da±4,500 Da，或30,000 Da±6,000 Da之PEG基團。

【0272】在一些實施例中，包含本文所揭示之IL-2結合物的PEG基團為平均分子量為約5,000道爾頓至約60,000道爾頓之直鏈或分支鏈PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之直鏈或分支鏈PEG基團：約5,000道爾頓、約5,500道爾頓、約6,000道爾頓、約7,000道爾頓、約7,500道爾頓、約8,000道爾頓、約9,000道爾頓、約10,000道爾頓、約11,000道爾頓、約12,000道爾頓、約13,000道爾頓、約14,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約22,500道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約55,000道爾頓、約60,000道爾頓、約65,000道爾頓、約70,000道爾頓、約75,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約95,000道爾頓及約100,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之直鏈或分支鏈PEG基團：約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之直鏈或分支鏈PEG基團：約5,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為以下之直鏈PEG基團：約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之分支鏈PEG基團：約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。

【0273】在一些實施例中，包含本文所揭示之IL-2結合物的PEG基團為平均分子量為約5,000道爾頓至約60,000道爾頓之直鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之直鏈甲氧基PEG基團：約5,000道爾頓、約5,500道爾頓、約6,000道爾頓、約7,000道爾頓、約7,500道爾頓、約8,000道爾頓、約9,000道爾頓、約10,000道爾頓、約11,000道爾頓、約12,000道爾頓、約13,000道爾頓、約14,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約22,500道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約55,000道爾頓、約60,000道爾頓、約65,000道爾頓、約70,000道爾頓、約75,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約95,000道爾頓及約100,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之直鏈甲氧基PEG基團：約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之直鏈甲氧基PEG基團：約5,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為以下之直鏈甲氧基PEG基團：約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約5,000道爾頓之直鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約10,000道爾頓之直鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約20,000道爾頓之直鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約30,000道爾頓之直鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約50,000道爾頓之直鏈甲氧基

PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約60,000道爾頓之直鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，包含本文所揭示之IL-2結合物的PEG基團為具有限定分子量±10%、或15%、或20%、或25%之直鏈甲氧基PEG基團。舉例而言，包括於本發明範疇內的IL-2結合物包含分子量為30,000 Da±3000 Da，或30,000 Da±4,500 Da，或30,000 Da±6,000 Da之直鏈甲氧基PEG基團。

【0274】在一些實施例中，包含本文所揭示之IL-2結合物的PEG基團為平均分子量為約5,000道爾頓至約60,000道爾頓之分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之分支鏈甲氧基PEG基團：約5,000道爾頓、約5,500道爾頓、約6,000道爾頓、約7,000道爾頓、約7,500道爾頓、約8,000道爾頓、約9,000道爾頓、約10,000道爾頓、約11,000道爾頓、約12,000道爾頓、約13,000道爾頓、約14,000道爾頓、約15,000道爾頓、約20,000道爾頓、約22,500道爾頓、約25,000道爾頓、約30,000道爾頓、約35,000道爾頓、約40,000道爾頓、約45,000道爾頓、約50,000道爾頓、約55,000道爾頓、約60,000道爾頓、約65,000道爾頓、約70,000道爾頓、約75,000道爾頓、約80,000道爾頓、約90,000道爾頓、約95,000道爾頓及約100,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之分支鏈甲氧基PEG基團：約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子量為以下之分支鏈甲氧基PEG基團：約5,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為以下之分支鏈甲氧基PEG基團，約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約

30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為以下之分支鏈甲氧基PEG基團，約5,000道爾頓、約10,000道爾頓、約20,000道爾頓、約30,000道爾頓、約50,000道爾頓或約60,000道爾頓。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約5,000道爾頓之分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約10,000道爾頓之分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約20,000道爾頓之分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約30,000道爾頓之分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約50,000道爾頓之分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，PEG基團為平均分子為約60,000道爾頓之分支鏈甲氧基PEG基團。在一些實施例中，包含本文所揭示之IL-2結合物的PEG基團為具有限定分子量±10%、或15%、或20%、或25%之分支鏈甲氧基PEG基團。舉例而言，包括於本發明範疇內的IL-2結合物包含分子量為30,000 Da±3000 Da，或30,000 Da±4,500 Da，或30,000 Da±6,000 Da之分支鏈甲氧基PEG基團。

【0275】 在一些實施例中，例示性水溶性聚合物包括(但不限於)來自Quanta Biodesign, Ltd之線性或分支個別PEG (dPEG)；來自Nektar Therapeutics之線性、分支或分叉PEG；及來自JenKem Technology之Y形PEG衍生物。

【0276】 在一些實施例中，本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與選自以下之水溶性聚合物結合：聚(伸烷基乙二醇)，諸如聚乙二醇(「PEG」)、聚(丙二醇) (「PPG」)、乙二醇及丙二醇之共聚物及其類似物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯系醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥

烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇) (PVA)、聚丙烯醯胺(PAAm)、聚二甲基丙烯醯胺(PDAAm)、聚(N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺) (PHPMA)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(「POZ」)、聚(N-丙烯醯嗎啉)及其組合。在一些情況下，細胞介素多肽與PEG結合(例如聚乙二醇化)。在一些情況下，細胞介素多肽與PPG結合。在一些情況下，細胞介素多肽與POZ結合。在一些情況下，細胞介素多肽與PVP結合。

【0277】 在一些實施例中，本文所述之IL-2多肽與選自以下之水溶性聚合物結合：聚(伸烷基乙二醇)，諸如聚乙二醇(「PEG」)、聚(丙二醇) (「PPG」)、乙二醇及丙二醇之共聚物及其類似物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯系醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇) (PVA)、聚丙烯醯胺(PAAm)、聚二甲基丙烯醯胺(PDAAm)、聚(N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺) (PHPMA)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(「POZ」)、聚(N-丙烯醯嗎啉)及其組合。在一些情況下，IL-2多肽與PEG結合(例如聚乙二醇化)。在一些情況下，IL-2多肽與PPG結合。在一些情況下，IL-2多肽與POZ結合。在一些情況下，IL-2多肽與PVP結合。

【0278】 在一些情況下，水溶性聚合物包含聚丙三醇(PG)。在一些情況下，聚丙三醇為超支化PG(HPG) (例如，如Imran等人, 「Influence of architecture of high molecular weight linear and branched polyglycerols on their biocompatibility and biodistribution」, Biomaterials 33:9135-9147 (2012)所述)。在其他情況下，聚丙三醇為線性PG (LPG)。在額外情況下，聚丙三醇為中等官能性PG、線性嵌段超支

化PG（例如如Wurm等人，「Squaric acid mediated synthesis and biological activity of a library of linear and hyperbranched poly(glycerol)-protein conjugates」，Biomacromolecules 13:1161-1171 (2012)所述)或側鏈官能性PG（例如如Li等人，「Synthesis of linear polyether polyol derivatives as new materials for bioconjugation」，Bioconjugate Chem. 20:780-789 (2009)所述。

【0279】在一些情況下，本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與例如HPG、LPG、中等官能性PG、線性嵌段超支化PG或側鏈官能性PG之PG結合。在一些情況下，細胞介素為IL-2多肽。在一些情況下，IL-2多肽與PG、中等官能性PG、線性嵌段超支化PG結合。

【0280】在一些實施例中，水溶性聚合物為可分解合成PEG替代物。例示性可分解合成PEG替代物包括(但不限於)聚[寡甲基丙烯酸(乙二醇)甲酯] (POEGMA)；由遠螯或二末端官能化基於PEG之大分子單體之聚合反應產生之主鏈經修飾PEG衍生物；包含含可分解鍵聯之共聚單體之PEG衍生物，諸如聚[(環氧乙烷)-共-(環氧甲乙烷)][P(EO-*co*-MEO)]、環狀乙烯酮縮醛，諸如共聚有OEGMA之5,6-苯并-2-亞甲基-1,3-二氧雜環庚烷(BMDO)、2-亞甲基-1,3-二氧雜環庚烷(MDO)及2-亞甲基-4-苯基-1,3-二氧雜環戊烷(MPDL)；或聚(ε-己內酯)-接枝-聚(環氧乙烷) (PCL-g-PEO)。

【0281】在一些情況下，本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與以下結合：可分解合成PEG替代物，諸如POEGM；由遠螯或二末端官能化基於PEG之大分子單體之聚合反應產生之主鏈經修飾PEG衍生物；P(EO-*co*-MEO)；環狀乙烯酮縮醛，諸如共聚有OEGMA之

BMDO、MDO及MPDL；或PCL-g-PEO。在一些情況下，細胞介素為IL-2多肽。在一些情況下，IL-2多肽與以下結合：可分解合成PEG替代物，諸如POEGM；由遠螯或二末端官能化基於PEG之大分子單體之聚合反應產生之主鏈經修飾PEG衍生物；P(EO-*co*-MEO)；環狀乙烯酮縮醛，諸如共聚有OEGMA之BMDO、MDO及MPDL；或PCL-g-PEO。

【0282】 在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚(兩性離子)。例示性聚(兩性離子)包括(但不限於)聚(磺基甜菜鹼甲基丙烯酸酯) (PSBMA)、聚(羧基甜菜鹼甲基丙烯酸酯) (PCBMA)及聚(2-甲基丙烯醯基氧基乙基磷酸膽鹼) (PMPC)。在一些情況下，本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與諸如PSBMA、PCBMA PMPC之聚(兩性離子)結合。在一些情況下，細胞介素為IL-2多肽。在一些情況下，IL-2多肽諸如PSBMA、PCBMA或PMPC之聚(兩性離子)結合。

【0283】 在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚碳酸酯。例示性聚碳酸酯包括(但不限於) 5-甲基-2-側氧基-1,3-二噁烷-5-甲酸五氟苯酯(MTC-OC_6F_5)。在一些情況下，本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與諸如MTC-OC_6F_5之聚碳酸酯結合。在一些情況下，細胞介素為IL-2多肽。在一些情況下，IL-2多肽與諸如MTC- OC_6F_5之聚碳酸酯結合。

【0284】 在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚合物雜交體，諸如聚碳酸酯/PEG聚合物雜交體、肽/蛋白質-聚合物結合物、或含羥基及/或兩性離子衍生化聚合物(例如含羥基及/或兩性離子衍生化PEG聚合物)。在一些情況下，本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與聚合物雜交體結合，該聚合物雜交體為諸如聚碳酸酯/PEG聚合物雜交體、肽/

蛋白質-聚合物結合物、或含羥基及/或兩性離子衍生化聚合物(例如含羥基及/或兩性離子衍生化PEG聚合物)。在一些情況下，細胞介素為IL-2多肽。在一些情況下，IL-2多肽與聚合物雜交體結合，該聚合物雜交體為諸如聚碳酸酯/PEG聚合物雜交體、肽/蛋白質-聚合物結合物、或含羥基及/或兩性離子衍生化聚合物(例如含羥基及/或兩性離子衍生化PEG聚合物)。

【0285】 在一些情況下，水溶性聚合物包含多醣。例示性多醣包括(但不限於)葡聚糖、聚唾液酸(PSA)、玻尿酸(HA)、直鏈澱粉、肝素、硫酸乙醯肝素(HS)、糊精或羥乙基澱粉(HES)。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與多醣結合。在一些情況下，IL-2多肽與葡聚糖結合。在一些情況下，IL-2多肽與PSA結合。在一些情況下，IL-2多肽與HA結合。在一些情況下，IL-2多肽與直鏈澱粉結合。在一些情況下，IL-2多肽與肝素結合。在一些情況下，IL-2多肽與HS結合。在一些情況下，IL-2多肽與糊精結合。在一些情況下，IL-2多肽與HES結合。

【0286】 在一些情況下，水溶性聚合物包含聚醣。聚糖之例示性類別包括*N*-連接聚醣、O-連接聚醣、醣脂、O-GlcNAc及葡糖胺聚醣。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與聚醣結合。在一些情況下，IL-2多肽與*N*-連接聚醣結合。在一些情況下，IL-2多肽與*O*-連接聚醣結合。在一些情況下，IL-2多肽與醣脂結合。在一些情況下，IL-2多肽與O-GlcNAc結合。在一些情況下，IL-2多肽與葡糖胺聚醣結合。

【0287】 在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚噁唑啉聚合物。聚噁唑啉聚合物為線性合成聚合物，且與PEG類似，包含低多分散性。在一些情況下，聚噁唑啉聚合物為多分散聚噁唑啉聚合物，其特徵在於平均分子量。在一些情況下，聚噁唑啉聚合物之平均分子量包括(例如) 1000、

1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、10,000、12,000、20,000、35,000、40,000、50,000、60,000、100,000、200,000、300,000、400,000或500,000 Da。在一些情況下，聚噁唑啉聚合物包含聚(2-甲基2-噁唑啉)(PMOZ)、聚(2-乙基2-噁唑啉) (PEOZ)或聚(2-丙基2-噁唑啉) (PPOZ)。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與聚噁唑啉聚合物結合。在一些情況下，IL-2多肽與聚噁唑啉聚合物結合。在一些情況下，IL-2多肽與PMOZ結合。在一些情況下，IL-2多肽與PEOZ結合。在一些情況下，IL-2多肽與PPOZ結合。

【0288】 在一些情況下，水溶性聚合物包含聚丙烯酸聚合物。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與聚丙烯酸聚合物結合。在一些情況下，IL-2多肽與聚丙烯酸聚合物結合。

【0289】 在一些情況下，水溶性聚合物包含多元胺。多元胺為包含兩個或更多個初級胺基之有機聚合物。在一些實施例中，多元胺包括分支多元胺、線性多元胺或環狀多元胺。在一些情況下，多元胺為低分子量線性多元胺。例示性多元胺包括腐胺、屍胺、亞精胺、精胺、乙二胺、1,3-二胺基丙烷、己二胺、四乙基甲二胺及哌嗪。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與多元胺結合。在一些情況下，IL-2多肽與多元胺結合。在一些情況下，IL-2多肽與腐胺、屍胺、亞精胺、精胺、乙二胺、1,3-二胺基丙烷、己二胺、四乙基甲二胺或哌嗪結合。

【0290】 在一些情況下，水溶性聚合物描述於美國專利第7,744,861號、第8,273,833號及第7,803,777號中。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與美國專利第7,744,861號、第8,273,833號或第

7,803,777號中所述之連接子結合。在一些情況下，IL-2多肽與美國專利第7,744,861號、第8,273,833號或第7,803,777號中所述之連接子結合。

脂質

【0291】 在一些實施例中，本文所述之結合部分為脂質。在一些情況下，脂質為脂肪酸。在一些情況下，脂肪酸為飽和脂肪酸。在其他情況下，脂肪酸為不飽和脂肪酸。例示性脂肪酸包括(但不限於)包含約6至約26個碳原子、約6至約24個碳原子、約6至約22個碳原子、約6至約20個碳原子、約6至約18個碳原子、約20至約26個碳原子、約12至約26個碳原子、約12至約24個碳原子、約12至約22個碳原子、約12至約20個碳原子或約12至約18個碳原子之脂肪酸。在一些情況下，脂質結合至一或多個血清蛋白質，藉此使血清穩定性及/或血清半衰期逐漸增加。

【0292】 在一些實施例中，脂質與IL-2結合。在一些情況下，脂質為脂肪酸，例如飽和脂肪酸或不飽和脂肪酸。在一些情況下，脂肪酸為約6至約26個碳原子、約6至約24個碳原子、約6至約22個碳原子、約6至約20個碳原子、約6至約18個碳原子、約20至約26個碳原子、約12至約26個碳原子、約12至約24個碳原子、約12至約22個碳原子、約12至約20個碳原子或約12至約18個碳原子。在一些情況下，脂肪酸包含約6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25或26個碳原子之長度。在一些情況下，脂肪酸包含羊油酸(己酸)、葡萄花酸(庚酸)、羊羶酸(辛酸)、天竺葵酸(壬酸)、羊脂酸(癸酸)、十一酸(undecylic acid/undecanoic acid)、月桂酸(十二酸酸)、十三酸(tridecylic acid/tridecanoic acid)、肉豆蔻酸(十四酸)、十五酸(pentadecylic acid/pentadecanoic acid)、棕櫚酸(十六酸)、珠光子酸(十七酸)、硬脂酸

(十八酸)、十九酸(nonadecylic acid/nonadecanoic acid)、花生酸酸(二十酸)、二十一酸(heneicosylic acid/heneicosanoic acid)、蘄樹酸(二十二酸)、二十三酸(tricosylic acid/tricosanoic acid)、木答酸(二十四酸)、二十五酸(pentacosylic acid/pentacosanoic acid)或蠟酸(二十六酸)。

【0293】 在一些實施例中，IL-2脂質結合物增加血清穩定性及/或血清半衰期。

蛋白質

【0294】 在一些實施例中，本文所述之結合部分為蛋白質或其結合片段。例示性蛋白質包括白蛋白、轉鐵蛋白或甲狀腺素運載蛋白。在一些情況下，蛋白質或其結合片段包含抗體或其結合片段。在一些情況下，細胞介素結合物包含蛋白質或其結合片段。在一些情況下，包含蛋白質或其結合片段之IL-2結合物具有增加之血清半衰期及/或穩定性。在一些情況下，包含蛋白質或其結合片段之IL-2結合物與一或多個IL-2R次單元之IL-2相互作用降低。在額外情況下，蛋白質或其結合片段阻斷IL-2與一或多個IL-2R次單元之相互作用。

【0295】 在一些實施例中，結合部分為白蛋白。白蛋白為水溶性球形蛋白質家族。通常見於包含約55-60%之所有血漿蛋白質的血漿中。人類血清白蛋白(HSA)為585胺基酸多肽，其中將三級結構分成三個域，域I(胺基酸殘基1-195)、域II (胺基酸殘基196-383)及域III (胺基酸殘基384-585)。各域進一步包含結合位點，其可與諸如長鏈及中長鏈脂肪酸、膽紅素或氯化血紅素之內源性配位體或諸如雜環或芳族化合物之外源性化合物可逆抑或不可逆相互作用。

【0296】 在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽

與白蛋白結合。在一些情況下，細胞介素多肽與人類血清白蛋白(HSA)結合。在額外情況下，細胞介素多肽與白蛋白之功能片段結合。

【0297】 在一些情況下，IL-2多肽與白蛋白結合。在一些情況下，IL-2多肽與人類血清白蛋白(HSA)結合。在額外情況下，IL-2多肽與白蛋白之功能片段結合。

【0298】 在一些實施例中，結合部分為轉鐵蛋白。轉鐵蛋白為679胺基酸多肽，其為約80 kDa大小且包含兩個Fe^{3+}結合位點，一者位於N端域且另一者位於C端域。在一些情況下，人類轉鐵蛋白具有約7-12天之半衰期。

【0299】 在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與轉鐵蛋白結合。在一些情況下，細胞介素多肽與人類轉鐵蛋白結合。在額外情況下，細胞介素多肽與轉鐵蛋白之功能片段結合。

【0300】 在一些情況下，IL-2多肽與轉鐵蛋白結合。在一些情況下，IL-2多肽與人類轉鐵蛋白結合。在額外情況下，IL-2多肽與轉鐵蛋白之功能片段結合。

【0301】 在一些實施例中，結合部分為甲狀腺素運載蛋白(TTR)。甲狀腺素運載蛋白為位於血清及腦脊髓液中運輸甲狀腺激素甲狀腺素(T_4)及結合至視黃醇之視黃醇結合蛋白之運輸蛋白質。

【0302】 在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與甲狀腺素運載蛋白(經由其末端中之一者或經由內部鉸鏈區)結合。在一些情況下，細胞介素多肽與甲狀腺素運載蛋白之功能片段結合。

【0303】 在一些情況下，IL-2多肽與甲狀腺素運載蛋白(經由其末端中之一者或經由內部鉸鏈區)結合。在一些情況下，IL-2多肽與甲狀腺素

運載蛋白之功能片段結合。

【0304】 在一些實施例中，結合部分為抗體或其結合片段。在一些情況下，抗體或其結合片段包含人類化抗體或其結合片段、鼠類抗體或其結合片段、嵌合抗體或其結合片段、單株抗體或其結合片段、單價Fab'、二價Fab_2、$F(ab)'_3$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、$(scFv)_2$、雙功能抗體、微型抗體、奈米抗體、三功能抗體、四功能抗體、人類抗體、經二硫鍵穩定Fv蛋白質(dsFv)、單域抗體(sdAb)、Ig NAR、駱駝抗體或其結合片段、雙特異性抗體或其結合片段或其經化學修飾衍生物。

【0305】 在其他情況下，結合部分包含scFv、雙scFv、$(scFv)_2$、dsFv或sdAb。在一些情況下，結合部分包含scFv。在一些情況下，結合部分包含雙scFv。在一些情況下，結合部分包含$(scFv)_2$。在一些情況下，結合部分包含dsFv。在一些情況下，結合部分包含sdAb。

【0306】 在一些情況下，結合部分包含抗體之Fc部分，例如IgG、IgA、IgM、IgE或IgD之Fc部分。在一些情況下，部分包含IgG (例如IgG_1、IgG_3或IgG_4)之Fc部分。

【0307】 在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與抗體或其結合片段結合。在一些情況下，細胞介素多肽與以下結合：人類化抗體或其結合片段、鼠類抗體或其結合片段、嵌合抗體或其結合片段、單株抗體或其結合片段、單價Fab'、二價Fab_2、$F(ab)'_3$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、$(scFv)_2$、雙功能抗體、微型抗體、奈米抗體、三功能抗體、四功能抗體、人類抗體、經二硫鍵穩定Fv蛋白質(dsFv)、單域抗體(sdAb)、Ig NAR、駱駝抗體或其結合片段、雙特異性抗體或其結合片段或其經化學修飾衍生物。在額外情況下，細胞介素多肽與抗體之Fc部

分結合。在額外情況下，細胞介素多肽與IgG (例如IgG_1、IgG_3或IgG_4)之Fc部分結合。

【0308】 在一些情況下，IL-2多肽與抗體或其結合片段結合。在一些情況下，IL-2多肽與以下結合：人類化抗體或其結合片段、鼠類抗體或其結合片段、嵌合抗體或其結合片段、單株抗體或其結合片段、單價Fab'、二價Fab_2、$F(ab)'_3$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、$(scFv)_2$、雙功能抗體、微型抗體、奈米抗體、三功能抗體、四功能抗體、人類抗體、經二硫鍵穩定Fv蛋白質(dsFv)、單域抗體(sdAb)、Ig NAR、駱駝抗體或其結合片段、雙特異性抗體或其結合片段或其經化學修飾衍生物。在額外情況下，IL-2多肽與抗體之Fc部分結合。在額外情況下，IL-2多肽與IgG (例如IgG_1、IgG_3或IgG_4)之Fc部分結合。

【0309】 在一些實施例中，IL-2多肽與水溶性聚合物(例如PEG)及抗體或其結合片段結合。在一些情況下，抗體或其結合片段包含：人類化抗體或其結合片段、鼠類抗體或其結合片段、嵌合抗體或其結合片段、單株抗體或其結合片段、單價Fab'、二價Fab_2、$F(ab)'_3$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、$(scFv)_2$、雙功能抗體、微型抗體、奈米抗體、三功能抗體、四功能抗體、人類抗體、經二硫鍵穩定Fv蛋白質(dsFv)、單域抗體(sdAb)、Ig NAR、駱駝抗體或其結合片段、雙特異性抗體或其結合片段或其經化學修飾衍生物。在一些情況下，抗體或其結合片段包含scFv、雙scFv、$(scFv)_2$、dsFv或sdAb。在一些情況下，抗體或其結合片段包含scFv。在一些情況下，抗體或其結合片段引導IL-2結合至所關注目標細胞，且水溶性聚合物增加穩定性及/或血清半衰期。

【0310】 在一些情況下，一或多種IL-2多肽-水溶性聚合物(例如

PEG)結合物進一步結合至抗體或其結合片段。在一些情況下，IL-2結合物與抗體之比率為約1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1或12:1。在一些情況下，IL-2結合物與抗體之比率為約1:1。在其他情況下，IL-2結合物與抗體之比率為約2:1、3:1或4:1。在額外情況下，IL-2結合物與抗體之比率為約6:1或更高。

【0311】 在一些實施例中，一或多種IL-2多肽-水溶性聚合物(例如PEG)結合物直接結合至抗體或其結合片段。在其他情況下，IL-2結合物由連接子間接結合至抗體或其結合片段。例示性連接子包括同型雙官能連接子、異型雙官能連接子、基於順丁烯二醯亞胺之連接子、零痕跡連接子、自我分解型連接子、間隔子及其類似物。

【0312】 在一些實施例中，抗體或其結合片段直接抑或間接結合至IL-2多肽-水溶性聚合物(例如PEG)結合物之IL-2多肽部分。在此類情況下，抗體與IL-2多肽之結合位點位於不阻礙IL-2多肽與IL-2Rβγ結合之位點。在額外情況下，抗體與IL-2多肽之結合位點處於部分阻斷IL-2多肽與IL-2Rβγ之結合的位點。在額外情況下，抗體與IL-2多肽之結合位點位於將阻礙或進一步阻礙IL-2多肽與IL-2Rα結合之位點。在其他實施例中，抗體或其結合片段直接抑或間接結合至IL-2多肽-水溶性聚合物(例如PEG)結合物之水溶性聚合物部分。

肽

【0313】 在一些實施例中，本文所述之結合部分為肽。在一些情況下，肽為非結構化肽。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與肽結合。在一些情況下，包含肽之IL-2結合物具有增加之血清半衰期及/或穩定性。在一些情況下，包含肽之IL-2結合物與一或多個

IL-2R次單元之IL-2相互作用降低。在額外情況下，肽阻斷IL-2與一或多個IL-2R次單元之相互作用。

【0314】 在一些情況下，結合部分為XTEN™肽(Amunix Operating Inc.)且修飾稱為XTEN化。XTEN化為編碼所關注多肽之核酸與編碼XTEN™肽(Amunix Operating Inc.)之核酸的遺傳融合，該XTEN™肽為包含不同百分比之六種胺基酸之長非結構化親水性肽：Ala、Glu、Gly、Ser及Thr。在一些情況下，XTEN™肽根據諸如表現、遺傳穩定性、溶解度、聚集抗性、增加之半衰期、增加之效能及/或增加之活體外活性的特性結合所關注多肽進行選擇。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與XTEN肽結合。在一些情況下，IL-2多肽與XTEN肽結合。

【0315】 在一些情況下，結合部分為富甘胺酸高胺基酸聚合物(HAP)且修飾稱為HAP化。HAP化為編碼所關注多肽之核酸與編碼富甘胺酸之高胺基酸聚合物(HAP)之核酸的遺傳融合。在一些情況下，HAP聚合物包含$(Gly_4Ser)_n$ (SEQ I DNO: 85)重複基元，且有時長度為約50、100、150、200、250、300或更多個殘基。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與HAP結合。在一些情況下，IL-2多肽與HAP結合。

【0316】 在一些實施例中，結合部分為PAS多肽且修飾稱為PAS化。PAS化為編碼所關注多肽之核酸與編碼PAS多肽之核酸的遺傳融合。PAS多肽為由Pro、Ala及Ser殘基組成之親水性不帶電多肽。在一些情況下，PAS多肽之長度為至少約100、200、300、400、500或600個胺基酸。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與PAS多肽結合。在一些情況下，IL-2多肽與PAS多肽結合。

【0317】 在一些實施例中，結合部為類彈性蛋白多肽(ELP)且修飾

稱為ELP化。ELP化為編碼所關注多肽之核酸與編碼類彈性蛋白多肽(ELP)之核酸的遺傳融合。ELP包含VPGxG重複基元(SEQ ID NO: 86)，其中x為除脯胺酸外之任何胺基酸。在一些情況下，細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽與ELP結合。在一些情況下，IL-2多肽與ELP結合。

【0318】 在一些實施例中，結合部分為CTP肽。CTP肽包含31個胺基酸殘基肽FQSSSS*KAPPPS*LPSPS*RLPGPS*DTPILPQ (SEQ ID NO: 87)，其中S*指示O-糖基化位點(OPKO)。在一些情況下，CTP肽與細胞介素多肽(例如IL-2多肽)基因融合。在一些情況下，細胞介素多肽(例如IL-2多肽)與CTP肽結合。

【0319】 在一些實施例中，細胞介素(例如IL-2多肽)藉由麩胺醯化來修飾。麩胺醯化(或聚麩胺醯化)為麩胺酸之可逆轉譯後修飾，其中麩胺酸之γ-羧基與游離麩胺酸中之胺基形成類肽鍵，在該游離麩胺酸中α-羧基延伸成聚麩胺酸酯鏈。

【0320】 在一些實施例中，細胞介素(例如IL-2多肽)藉由類明膠蛋白質(GLK)聚合物修飾。在一些情況下，GLK聚合物包含多個重複序列Gly-Xaa-Yaa，其中Xaa及Yaa分別主要包含脯胺酸及4-羥脯胺酸。在一些情況下，GLK聚合物進一步包含胺基酸殘基Pro、Gly、Glu、Qln、Asn、Ser及Lys。在一些情況下，GLK聚合物之長度為約20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、150個殘基或更長。

額外結合部分

【0321】 在一些情況下，結合部分包含細胞外生物標記。在一些情況下，細胞外生物標記為腫瘤抗原。在一些情況下，例示性細胞外生物標記包含CD19、PSMA、B7-H3、B7-H6、CD70、CEA、CSPG4、

EGFRvIII、EphA3、EpCAM、EGFR、ErbB2 (HER2)、FAP、FRα、GD2、GD3、路易斯-Y (Lewis-Y)、間皮素(mesothelin)、Muc1、Muc16、ROR1、TAG72、VEGFR2、CD11、Gr-1、CD204、CD16、CD49b、CD3、CD4、CD8及B220。在一些情況下，結合部分鍵結或結合至細胞介素(例如IL-2)。在一些情況下，結合部分例如在細胞介素(例如IL-2)之N端或C端發生基因融合。

【0322】在一些情況下，結合部分包含來自轉譯後經修飾分子。在一些情況下，轉譯後修飾之實例包括豆蔻醯化、棕櫚醯化、異戊烯化(或異戊烯化)(例如法呢基化或四異戊二烯化)、糖基磷脂醯肌醇化、醯化(例如O-醯化、N-醯化、S-醯化)、烷基化(例如加入諸如甲基或乙基之烷基)、醯胺化、糖基化、羥基化、碘化、核苷酸加入、氧化、磷酸化、琥珀醯化、硫酸化、糖化、胺甲醯化、麩胺醯化或去醯胺化。在一些情況下，細胞介素(例如IL-2)藉由轉譯後修飾來修飾，該轉譯後修飾為諸如豆蔻醯化、棕櫚醯化、異戊烯化(或異戊烯化)(例如法呢基化或四異戊二烯化)、糖基磷脂醯肌醇化、醯化(例如O-醯化、N-醯化、S-醯化)、烷基化(例如加入諸如甲基或乙基之烷基)、醯胺化、糖基化、羥基化、碘化、核苷酸加入、氧化、磷酸化、琥珀醯化、硫酸化、糖化、胺甲醯化、麩胺醯化或去醯胺化。

結合

連接子

【0323】在一些實施例中，適用於使結合部分結合(conjugating/binding)至本文所述之細胞介素多肽(例如IL-2多肽)之官能性反應性基團包括例如零或高級連接子。在一些情況下，併入至本文所述

之介白素中之非天然胺基酸包含官能性反應性基團。在一些情況下，連接子包含與併入至本文所述之介白素中之非天然胺基酸反應的官能性反應性基團。在一些情況下，結合部分包含與併入至本文所述之介白素中之非天然胺基酸反應的官能性反應性基團。在一些情況下，結合部分包含與本文所述之連接子(視情況預先連接至細胞介素肽)反應的官能性反應性基團。在一些實施例中，連接子包含與本文所述之細胞介素肽中之天然胺基酸反應的反應性基團。在一些情況下，高級連接子包含雙官能連接子，諸如同型雙官能連接子或異型雙官能連接子。例示性同型雙官能連接子包括(但不限於)：羅曼特氏試劑(Lomant's reagent)二硫代雙(丁二醯亞胺基丙酸酯) DSP、3'3'-二硫代雙(丙酸磺基丁二醯亞胺酯) (DTSSP)、辛二酸二丁二醯亞胺酯(DSS)、辛二酸雙(磺基丁二醯亞胺酯) (BS)、酒石酸二丁二醯亞胺酯(DST)、酒石酸二磺基丁二醯亞胺酯(磺基DST)、糖基雙(丁二醯亞胺基丁二酸)伸乙酯(EGS)、戊二酸二丁二醯亞胺酯(DSG)、碳酸N,N'-二丁二醯亞胺酯(DSC)、二亞胺代己二酸二甲酯(DMA)、庚二亞胺酸二甲酯(DMP)、辛二亞胺酸二甲酯(DMS)、二甲基-3,3'-二硫代雙丙醯亞胺酸酯(DTBP)、1,4-二-3'-(2'-吡啶基二硫基)丙醯胺基)丁烷(DPDPB)、雙順丁烯二醯亞胺基己烷(BMH)、含有芳基鹵化物之化合物(DFDNB) (諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯或1,3-二氟-4,6-二硝基苯)、4,4'-二氟-3,3'-二硝基苯基碸(DFDNPS)、雙-[β-(4-疊氮基柳基醯胺基)乙基]二硫化物(BASED)、甲醛、戊二醛、1,4-丁二醇二縮水甘油醚、己二酸二醯肼、碳醯肼、鄰甲苯胺、3,3'-二甲基聯苯胺、聯苯胺、α,α'-對二胺基聯苯、二碘-對二甲苯磺酸、N,N'-伸乙基-雙(碘乙醯胺)或N,N'-六亞甲基-雙(碘乙醯胺)。

【0324】 在一些實施例中，雙官能連接子包含異型雙官能連接子。

例示性異雙官能連接子包括(但不限於)胺反應性及硫氫基交聯連接子，諸如N-丁二醯亞胺基3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(sPDP)、長鏈N-丁二醯亞胺基3-(2-吡啶基二硫基))丙酸酯(LC-sPDP)、水溶性長鏈N-丁二醯亞胺基3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(磺酸基-LC-sPDP)、丁二醯亞胺基氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶基二硫基)甲苯(sMPT)、磺基丁二醯亞胺基-6-[α-甲基-α-(2-吡啶基二硫基)甲苯醯胺基]己酸酯(磺酸基-LC-sMPT)、丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(sMCC)、磺基丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(磺酸基-sMCC)、m-順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基丁二醯亞胺酯(MBs)、m-順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-MB)、N-丁二醯亞胺基(4-碘乙醯基)胺基苯甲酸酯(sIAB)、磺基丁二醯亞胺基(4-碘乙醯基)胺基苯甲酸酯(磺酸基-sIAB)、丁二醯亞胺基-4-(對馬來醯亞胺基苯基)丁酸酯(sMPB)、磺基丁二醯亞胺基-4-(對馬來醯亞胺基苯基)丁酸酯(磺酸基-sMPB)、N-(γ-順丁烯二醯亞胺基丁醯氧基)丁二醯亞胺酯(GMBs)、N-(γ-順丁烯二醯亞胺基丁醯氧基)磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-GMBs)、丁二醯亞胺基6-((碘乙醯基)胺基)己酸酯(sIAX)、丁二醯亞胺基6-[6-(((碘乙醯基)胺基)己醯基)胺基]己酸酯(sIAXX)、丁二醯亞胺基4-(((碘乙醯基)胺基)甲基)環己烷-1-羧酸酯(sIAC)、丁二醯亞胺基6-((((4-碘乙醯基)胺基)甲基)環己烷-1-羰基)胺基)羧酸酯(sIACX)、對硝苯基碘乙酸酯(NPIA)、羰基反應性及硫氫基反應性交聯劑，諸如4-(4-N-馬來醯亞胺基苯基)丁酸醯肼(MPBH)、4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧基-醯肼-8(M_2C_2H)、3-(2-吡啶基二硫基)丙醯基醯肼(PDPH)，胺反應性及光反應性交叉連接子，諸如N-羥基丁二醯亞胺基-4-疊氮柳酸(NHs-AsA)、N-羥基

磺基丁二醯亞胺基-4-疊氮柳酸(磺酸基-NHs-AsA)、磺基丁二醯亞胺基-(4-疊氮基柳基醯胺基)己酸酯(磺酸基-NHs-LC-AsA)、磺基丁二醯亞胺基-2-(對疊氮基柳基醯胺基)乙基-1,3'-二硫丙酸酯(sAsD)、N-羥基丁二醯亞胺基-4-疊氮苯甲酸酯(HsAB)、N-羥基磺基丁二醯亞胺基-4-疊氮苯甲酸酯(磺酸基-HsAB)、N-丁二醯亞胺基-6-(4'-疊氮基-2'-硝基苯基胺基)己酸酯(sANPAH)、磺基丁二醯亞胺基-6-(4'-疊氮基-2'-硝基苯基胺基)己酸酯(磺酸基-sANPAH)、N-5-疊氮基-2-硝基苯甲醯氧基丁二醯亞胺(ANB-NOs)、磺基丁二醯亞胺基-2-(m-疊氮基-o-硝基苯甲醯胺基)-乙基-1,3'-二硫丙酸酯(sAND)、N-丁二醯亞胺基-4(4-疊氮苯基)1,3'-二硫丙酸酯(sADP)、N-磺基丁二醯亞胺基(4-疊氮苯基)-1,3'-二硫丙酸酯(磺酸基-sADP)、磺基丁二醯亞胺基4-(對疊氮苯基)丁酸酯(磺酸基-sAPB)、磺基丁二醯亞胺基2-(7-疊氮基-4-甲基香豆素-3-乙醯胺)乙基-1,3'-二硫丙酸酯(sAED)、磺基丁二醯亞胺基7-疊氮基-4-甲基香豆素-3-乙酯(磺酸基-sAMCA)、對硝苯基重氮丙酮酸酯(ρNPDP)、對硝苯基-2-重氮-3,3,3-三氟丙酸酯(PNP-DTP)、硫氫基反應性及光反應性交叉連接子諸如1-(對疊氮基柳基醯胺基)-4-(碘乙醯胺基)丁(AsIB)、N-[4-(對疊氮基柳基醯胺基)丁基]-3'-(2'-吡啶基二硫基)丙醯胺(APDP)、苯甲酮-4-碘乙醯胺、苯甲酮-4-順丁烯二醯亞胺羰基反應性及光反應性交叉連接子，諸如對疊氮基苯甲醯基醯肼(ABH)；羧酸酯反應性及光反應性交叉連接子，諸如4-(對疊氮水楊基胺基)丁胺(AsBA)；及精胺酸反應性及光反應性交叉連接子，諸如對疊氮苯基乙二醛(APG)。

【0325】 在一些情況下，反應性官能基包含對存在於結合部分上(例如結合部分或IL-2上)之親電子基團具有反應性之親核基團。例示性親電

子基團包括羰基，諸如醛、酮、羧酸、酯、醯胺、烯酮、醯基鹵化物或酸酐。在一些實施例中，反應性官能基為醛。例示性親核基團包括醯肼、肟、胺基、肼、縮胺基硫脲、肼羧酸酯及芳基醯肼。在一些實施例中，併入至本文所述之介白素中之非天然胺基酸包含親電子基團。

【0326】 在一些實施例中，連接子為可裂解連接子。在一些實施例中，可裂解連接子為二肽連接子。在一些實施例中，二肽連接子為纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)、苯丙胺酸-離胺酸(Phe-Lys)、纈胺酸-丙胺酸(Val-Ala)及纈胺酸-離胺酸(Val-Lys)。在一些實施例中，二肽連接子為纈胺酸-瓜胺酸。

【0327】 在一些實施例中，連接子為肽連接子，其包含例如至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20、25、30、35、40、45、50或更多個胺基酸。在一些情況下，肽連接子包含至多2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20、25、30、35、40、45、50或更少個胺基酸。在額外情況下，肽連接子包含約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20、25、30、35、40、45或50個胺基酸。

【0328】 在一些實施例中，連接子包含自我分解型連接部分。在一些實施例中，自我分解型連接部分包含對胺基苯甲醇(PAB)、對胺基苯甲氧基羰基(PABC)或其衍生物或類似物。在一些實施例中，連接子包含二肽連接部分及自我分解型連接部分。在一些實施例中，自我分解型連接部分諸如描述於美國專利第9089614號及WIPO申請案第WO2015038426號中。

【0329】 在一些實施例中，可裂解連接子為葡萄糖苷酸。在一些實施例中，可裂解連接子為酸可裂解連接子。在一些實施例中，酸可裂解連

接子為肼。在一些實施例中，可裂解連接子為可還原連接子。

【0330】 在一些實施例中，連接子包含順丁烯二醯亞胺基。在一些情況下，順丁烯二醯亞胺基亦稱為順丁烯二醯亞胺間隔子。在一些情況下，順丁烯二醯亞胺基進一步包含羊油酸，從而形成順丁烯二醯亞胺基己醯基(mc)。在一些情況下，連接子包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(mc)。在一些情況下，連接子為順丁烯二醯亞胺基己醯基(mc)。在其他情況下，順丁烯二醯亞胺基包含順丁烯二醯亞胺基甲基，諸如上文所述之丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(sMCC)或磺基丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(磺基-sMCC)。

【0331】 在一些實施例中，順丁烯二醯亞胺基為自穩定順丁烯二醯亞胺。在一些情況下，自穩定順丁烯二醯亞胺利用二胺基丙酸(DPR)鄰近順丁烯二醯亞胺併入鹼性胺基以提供硫代丁二醯亞胺環水解之分子內催化，藉此使順丁烯二醯亞胺避免經由逆邁克爾(Michael)反應發生消除反應。在一些情況下，自穩定順丁烯二醯亞胺為Lyon等人，「Self-hydrolyzing maleimides improve the stability and pharmacological properties of antibody-drug conjugates」, Nat. Biotechnol. **32**(10):1059-1062 (2014)中所述之順丁烯二醯亞胺基。在一些情況下，連接子包含自穩定順丁烯二醯亞胺。在一些情況下，連接子為自穩定順丁烯二醯亞胺。

結合化學反應

【0332】 使用各種結合反應來結合連接子、結合部分及併入至本文所述之細胞介素肽中之非天然胺基酸。此類結合反應通常與諸如「生物正交」反應之水性條件相容。在一些實施例中，結合反應藉由諸如催化劑之化學試劑、光或見於連接子、結合部分或非天然胺基酸上之反應性化學基

團介導。在一些實施例中，結合反應藉由酶介導。在一些實施例中，本文所用之結合反應描述於Gong, Y., Pan, L. Tett. Lett. 2015, 56, 2123中。在一些實施例中，本文所用之結合反應描述於Chen, X.; Wu. Y-W. Org. Biomol. Chem. 2016, 14, 5417中。

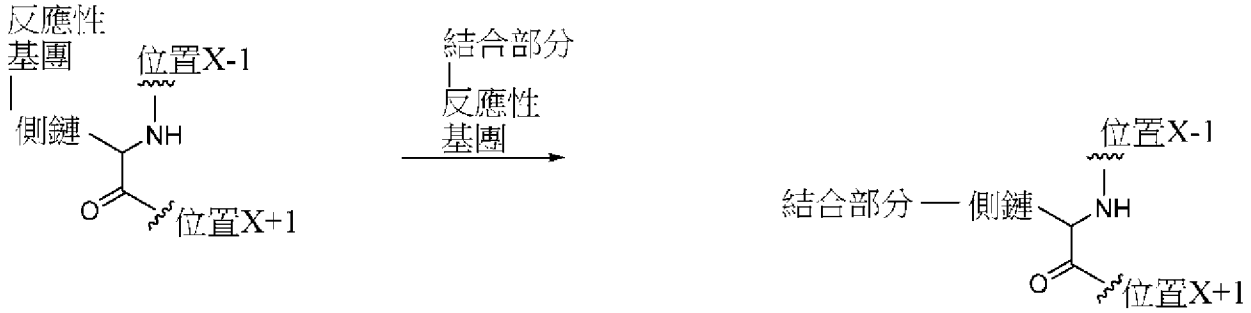
【0333】 在一些本文所述之實施例中，結合反應包含酮或醛與親核體之反應。在一些實施例中，結合反應包含酮與胺氧基反應以形成肟。在一些實施例中，結合反應包含酮與芳基或雜芳基胺基反應以形成亞胺。在一些實施例中，結合反應包含醛與芳基或雜芳基胺基反應以形成亞胺。在一些實施例中，本文所述之結合反應產生包含經由肟連接之連接子或結合部分之細胞介素肽。在一些實施例中，結合反應包含醛或酮與色胺親核體之皮克特-施彭格勒反應(Pictet-Spengler reaction)。在一些實施例中，結合反應包含肼基-皮克特-施彭格勒反應。在一些實施例中，結合反應包含皮克特-施彭格勒連接。

【0334】 在一些本文所述之實施例中，本文所述之結合反應包含疊氮基與膦之反應(施陶丁格連接(Staudinger ligation))。在一些實施例中，膦為芳基膦。在一些實施例中，芳基膦包含原酸酯基團。在一些實施例中，膦包含結構2-(二苯基磷烷基)苯甲酸甲酯。在一些實施例中，本文所述之結合反應產生包含經由芳基醯胺連接之連接子或結合部分之細胞介素肽。在一些實施例中，本文所述之結合反應產生包含經由醯胺連接之連接子或結合部分之細胞介素肽。

【0335】 在一些本文所述之實施例中，本文所述之結合反應包含1,3-偶極環加成反應。在一些實施例中，1,3-偶極環加成反應包含疊氮基與膦之反應(「點擊」反應)。在一些實施例中，結合反應藉由銅催化。在

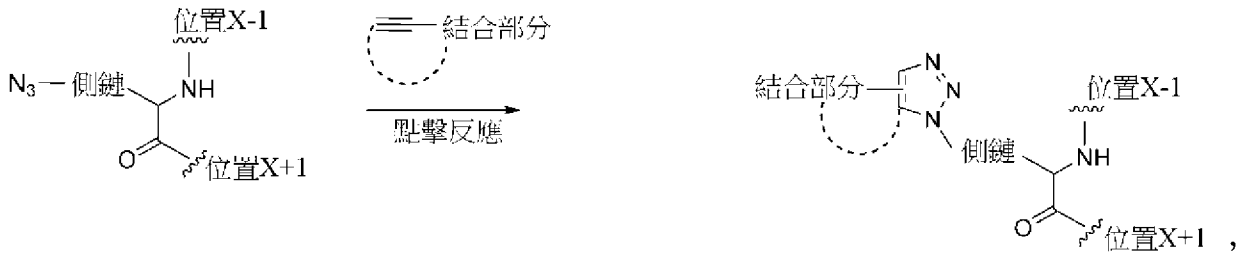
一些實施例中，本文所述之結合反應產生包含經由三唑連接之連接子或結合部分之細胞介素肽。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含疊氮基與應變烯烴之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含疊氮基與應變炔烴之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含疊氮基與例如OCT、DIFO、DIFBO、DIBO、BARAC、TMTH或其他應變環炔之環炔之反應，其結構示於Gong, Y., Pan, L. Tett. Lett. 2015, 56, 2123中。在一些實施例中，1,3-偶極環加成反應藉由光催化(「光點擊」)。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含末端烯丙基與四唑及光之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含末端炔基與四唑及光之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含O-烯丙基胺基酸與四嗪及光之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含O-烯丙基酪胺酸與四嗪及光之反應。

【0336】 在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含：



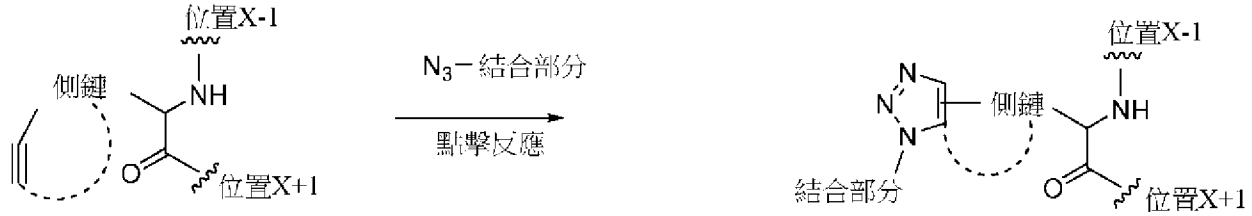
，

其中X為IL-2結合物中包含非天然胺基酸之位置，諸如SEQ ID NO: 5、6、7、8、9、30、31、32、33及34之任一者中。在一些實施例中，結合部分包含水溶性聚合物。在一些實施例中，反應性基團包含炔烴或疊氮化物。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含：



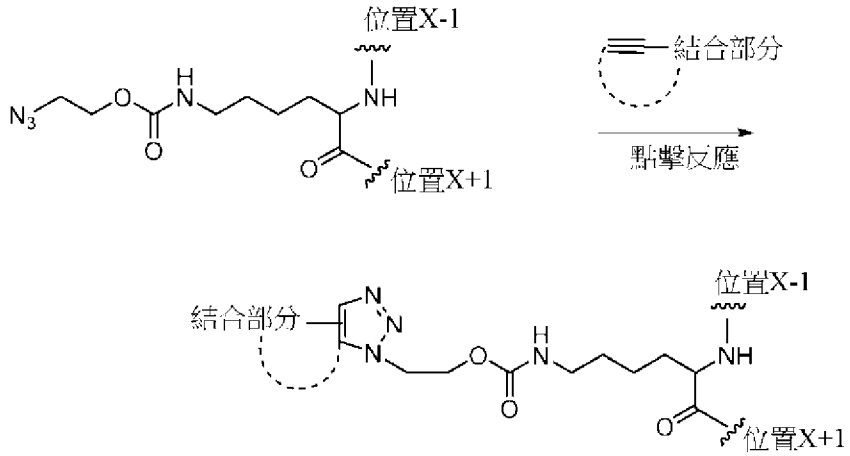
，

其中X為IL-2結合物中包含非天然胺基酸之位置，諸如SEQ ID NO: 5、6、7、8、9、30、31、32、33及34之任一者中。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含：

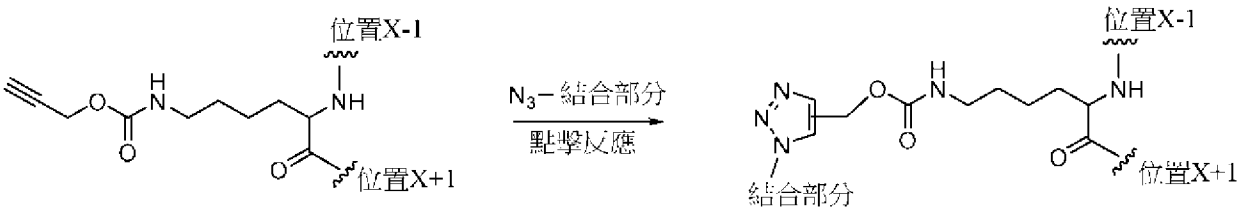


，

其中X為IL-2結合物中包含非天然胺基酸之位置，諸如SEQ ID NO: 5、6、7、8、9、30、31、32、33及34之任一者中。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含：



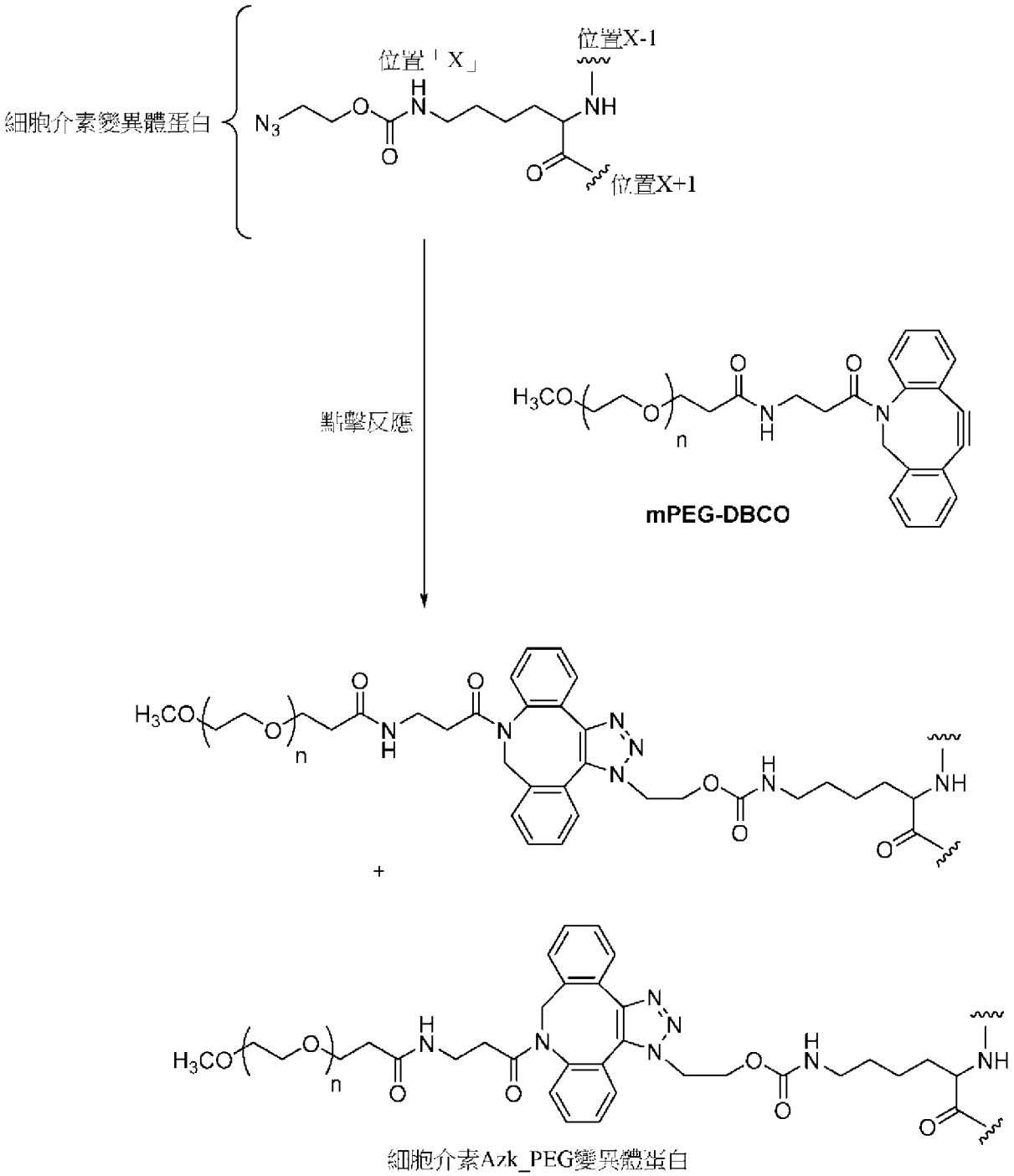
，其中X為IL-2結合物中包含非天然胺基酸之位置，諸如SEQ ID NO: 5、6、7、8、9、30、31、32、33及34之任一者中。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含：



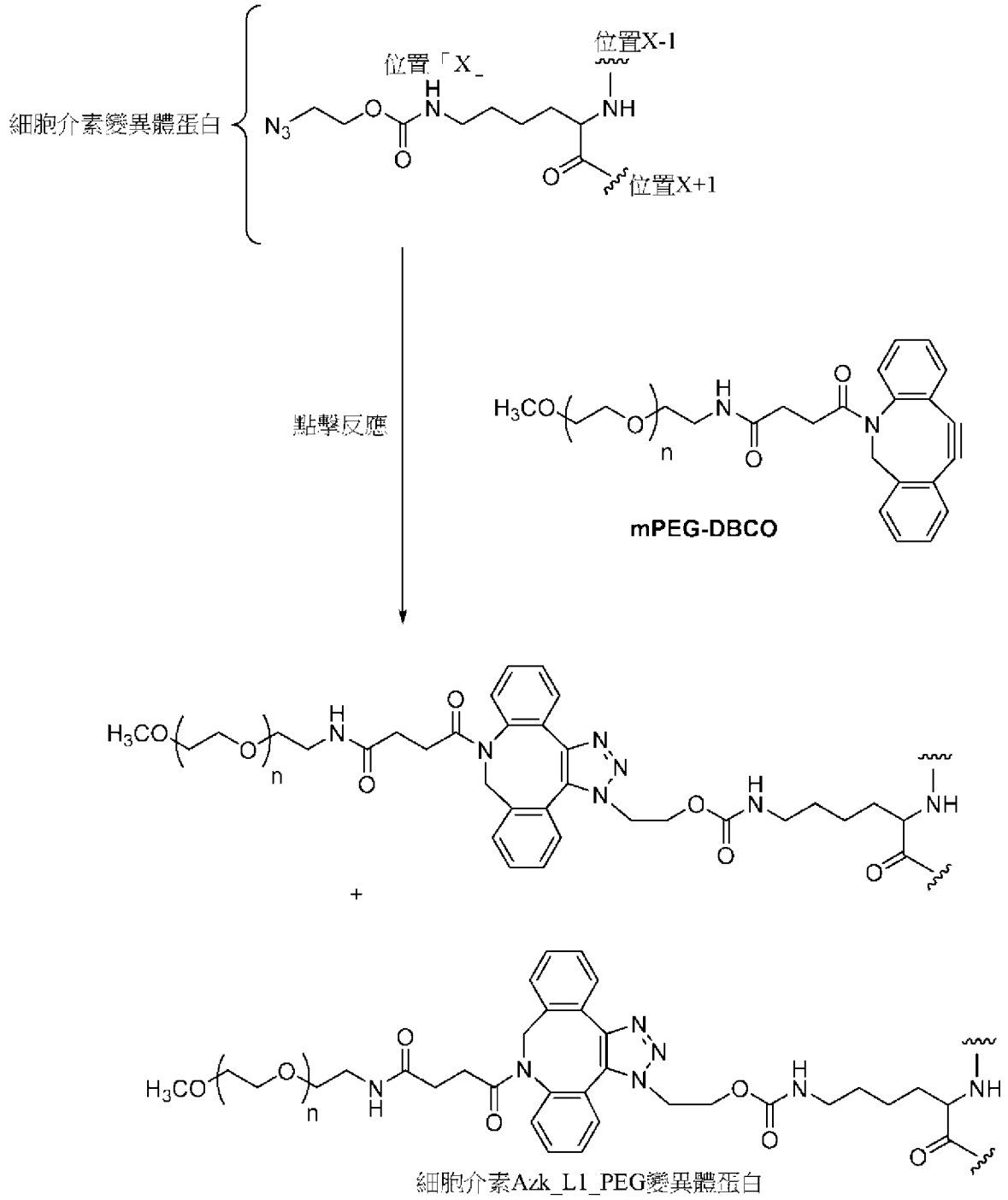
，

其中X為IL-2結合物中包含非天然胺基酸之位置，諸如SEQ ID NO: 5、6、7、8、9、30、31、32、33及34之任一者中。在一些實施例中，本文所述之結合反應產生**表20**之IL-2變異體。

【0337】 在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含疊氮部分(諸如包含於含有衍生自*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)之胺基酸殘基的蛋白質中)與應變環炔(諸如衍生自DBCO之分子部分，該分子為包含二苯并環辛炔基之化學部分)之間的環加成反應。包含DBCO部分之PEG基團為可商購的或可藉由一般技術者已知之方法製備。



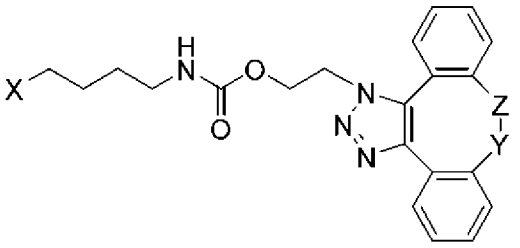
細胞介素Azk_PEG變異體蛋白



【0338】本文所述之結合反應(諸如點擊反應)可產生單個區位異構體或區位異構體之混合物。在一些情況下，區位異構體之比率為約1:1。在一些情況下，區位異構體之比率為約2:1。在一些情況下，區位異構物之比率為約1.5:1。在一些情況下，區位異構體之比率為約1.2:1。在一些情況下，區位異構體之比率為約1.1:1。在一些情況下，區位異構體之比

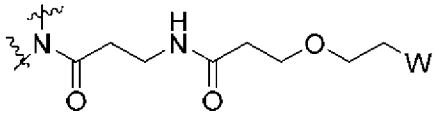
率大於1:1。

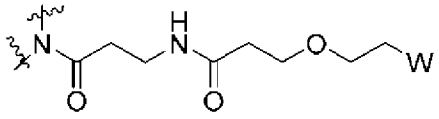
【0339】 本文描述具有式(I)結構之IL-2結合物：



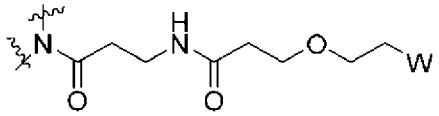
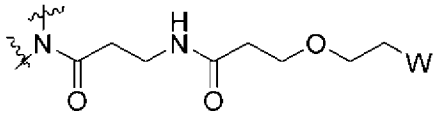
式(I)；

其中：

Z為CH_2及Y為  ；或

Y為CH_2及Z為  ；

W為平均分子量選自以下之PEG基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa及50kDa；及

X為重組人類IL-2之胺基酸位置，其中胺基酸位置參考SEQ ID NO: 1中之位置；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，Z為CH_2及Y為  。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，Y為CH_2及Z為  。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量選自5kDa、10kDa及30kDa。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為5kDa。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為10kDa。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為20kDa。在式(I)之IL-2結合物的一些

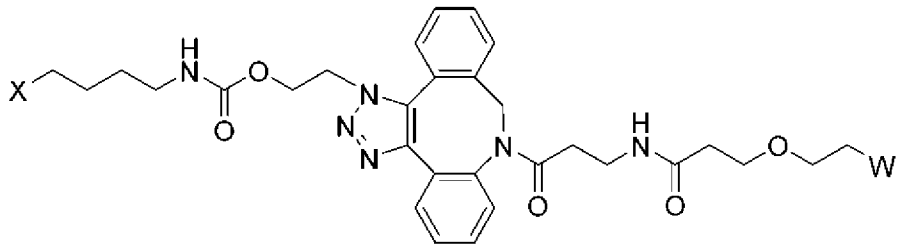
實施例中，PEG基團之平均分子量為30kDa。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為40kDa。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團之平均分子量為50kDa。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為K35。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為F42。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為K43。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為E62。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為P65。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為R38。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為T41。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為E68。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為Y45。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X為V69。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X選自K35、F42、K43、E62、P65、R38、T41、E68、Y45及V69。在式(I)之IL-2結合物的一些實施例中，X選自F42、K43、E62及P65。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含SEQ ID NO: 5至84中之任一者之序列。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含SEQ ID NO: 15至29。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含SEQ ID NO: 40至54。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含SEQ ID NO: 55至69。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含SEQ ID NO: 70至84。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 3。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 4。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 5。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 6。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 7。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 8。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 9。在一些實施例中，式(I)

之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 10。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 11。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 12。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 13。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 14。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 15。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 16。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 17。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 18。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 19。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 20。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 21。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 22。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 23。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 24。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 25。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 26。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 27。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 28。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 29。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 30。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 31。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 32。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 33。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 34。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 35。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含

序列SEQ ID NO: 36。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 37。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 38。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 39。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 40。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 41。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 42。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 43。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 44。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 45。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 46。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 47。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 48。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 49。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 50。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 51。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 52。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 53。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 54。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 55。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 56。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 57。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 58。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 59。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 60。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 61。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO:

62。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 63。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 64。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 65。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 66。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 67。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 68。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 69。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 70。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 71。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 72。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 73。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 74。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 75。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 76。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 77。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 78。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 79。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 80。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 81。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 82。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 83。在一些實施例中，式(I)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 84。

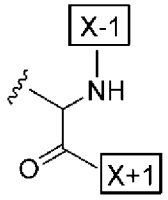
【0340】 本文描述具有式(II)結構之IL-2結合物：



式(II)；

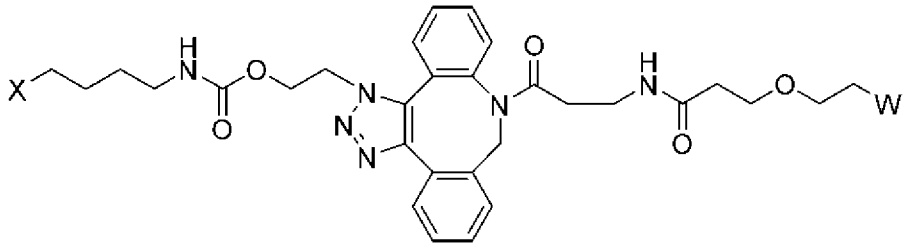
其中W為平均分子量選自以下之PEG基團：5kDa、10kDa及30kDa；及

X為具有選自F42、K43、E62及P65之重組人類IL-2之結構：



的胺基酸位置，其中胺基酸位置與SEQ ID NO: 1中之位置相對應。

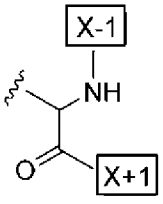
【0341】 本文描述具有式(III)結構之IL-2結合物：



式(III)；

其中W為平均分子量選自以下之PEG基團：5kDa、10kDa及30kDa；及

X為具有選自F42、K43、E62及P65之重組人類IL-2之結構



的胺基酸位置，其中胺基酸與SEQ ID NO: 1中之位置相對應。

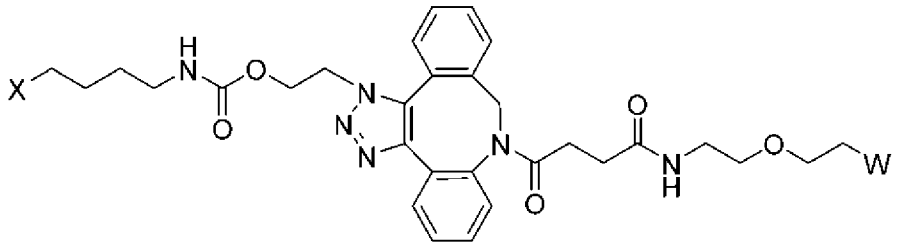
【0342】 在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之F42位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之F42位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之K43位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之K43位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之E62位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之E62位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之P65位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之P65位置。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之F42位置及W為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之K43位置及W為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之E62位置及W為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之P65位置為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之F42位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之K43位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之E62位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在式(II)或式(III)之IL-2結合物的一些實施例中，重

組人類IL-2及W之P65位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含SEQ NO: 3至29及70至84中之任一者之序列。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 3。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 4。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列5。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列6。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列7。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列8。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列9。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列10。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列11。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列12。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列13。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列14。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列15。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列16。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列17。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列18。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列19。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列20。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列21。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列22。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列23。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列24。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列25。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列26。在一些實施例中，式(II)或

式(III)之IL-2結合物包含序列27。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列28。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列29。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列70。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列71。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列72。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列73。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列74。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列75。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列76。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列77。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列78。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列79。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列80。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列81。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列82。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列83。在一些實施例中，式(II)或式(III)之IL-2結合物包含序列84。

【0343】 本文描述式(I)、式(II)或式(III)之醫藥組合物。在一些實施例中，式(I)、式(II)或式(III)之醫藥組合物包含包括SEQ ID NO: 3至29及70至84中之任一者之序列。在一些實施例中，式(I)、式(II)或式(III)之醫藥組合物包含包括SEQ ID NO: 3之序列。在一些實施例中，式(I)、式(II)或式(III)之醫藥組合物包含包括SEQ ID NO: 4之序列。

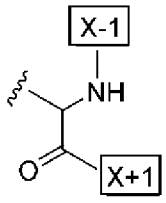
【0344】 本文描述具有式(IV)結構之IL-2結合物：



式(IV)；

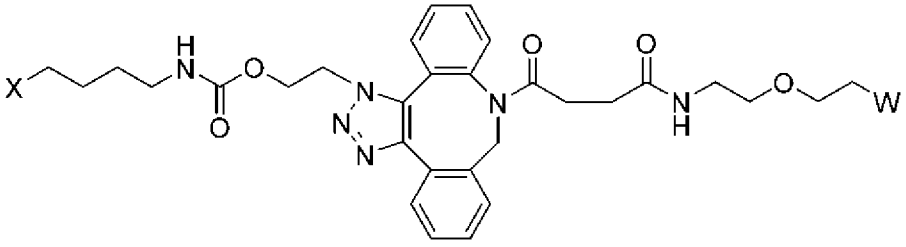
其中W為平均分子量選自以下之PEG基團：5kDa、10kDa及30kDa；及

X為具有選自F42、K43、E62及P65之重組人類IL-2之結構：



的胺基酸位置，其中胺基酸位置與SEQ ID NO: 1中之位置相對應。

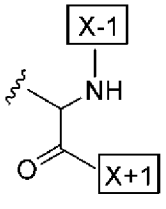
【0345】 本文描述具有式(V)結構之IL-2結合物：



式(V)；

其中W為平均分子量選自以下之PEG基團：5kDa、10kDa及30kDa；及

X為具有選自F42、K43、E62及P65之重組人類IL-2之結構



的胺基酸位置，其中胺基酸與SEQ ID NO: 1中之位置相對應。

【0346】在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之F42位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之F42位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之K43位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之K43位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之E62位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之E62位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之P65位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，PEG基團具有5 kDa之平均分子量及X為重組人類IL-2之P65位置。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之F42位置及W為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之K43位置及W為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，X為重組人類IL-2之E62位置及W為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之P65位置為平均分子量為10 kDa之PEG基團。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之F42位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之K43位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，重組人類IL-2及W之E62位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在式(IV)或式(V)之IL-2結合物的一些實施例中，重

組人類IL-2及W之P65位置為平均分子量為30 kDa之PEG基團。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含SEQ NO: 3、4、40至69中之任一者之序列。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 3。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 4。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 40。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 41。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 42。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 43。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 44。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 45。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 46。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 47。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 48。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 49。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 50。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 51。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 52。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 53。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 54。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 55。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 56。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 57。在一些實

施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 58。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 59。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 60。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 61。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 62。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 63。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 64。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 65。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 66。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 67。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 68。在一些實施例中，式(IV)或式(V)之IL-2結合物包含序列SEQ ID NO: 69。

【0347】 本文描述式(I)、式(IV)或式(V)之醫藥組合物。在一些實施例中，式(I)、式(IV)或式(V)之醫藥組合物包含包括SEQ ID NO: 3、4及40至69中之任一者之序列。在一些實施例中，式(I)、式(IV)或式(V)之醫藥組合物包含包括SEQ ID NO: 3之序列。

【0348】 在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含含二烯及親二烯物之反向電子需求環加成反應。在一些實施例中，二烯包含四嗪。在一些實施例中，親二烯物包含烯烴。在一些實施例中，親二烯物包含炔烴。在一些實施例中，炔烴係應變炔烴。在一些實施例中，烯烴係應變二烯。在一些實施例中，炔烴係反-環辛炔。在一些實施例中，炔烴係環辛烯。在一些實施例中，烯烴係環丙烯。在一些實施例中，烯烴係氟

環丙烯。在一些實施例中，本文所述之結合反應使得形成經由環中包含兩個氮原子之6員環雜環連接至連接子或結合部分之細胞介素肽。

【0349】 在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含烯烴複分解反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含烯烴及炔烴與釕催化劑之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含兩種烯烴與釕催化劑之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含兩種炔烴與釕催化劑之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含烯烴或炔烴與釕催化劑及包含烯丙基之胺基酸之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含烯烴或炔烴與釕催化劑及包含硫化丙烯或硒化丙烯之胺基酸之反應。在一些實施例中，釕催化劑係霍夫達-格拉布斯(Hoveda-Grubbs)第2代催化劑。在一些實施例中，烯烴複分解反應包含一或多種應變烯烴或炔烴之反應。

【0350】 在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含交叉偶合反應。在一些實施例中，交叉偶合反應包含過渡金屬催化劑，諸如銥、金、釕、銠、鈀、鎳、鉑或其他過渡金屬催化劑及一或多種配位體。在一些實施例中，過渡金屬催化劑係水溶性的。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含鈴木-宮浦交叉偶合反應(Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction)。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含芳基鹵化物(或三氟甲磺酸酯或甲苯磺酸酯)、芳基或烯基硼酸及鈀催化劑之反應。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含薗頭交叉偶合反應(Sonogashira cross-coupling reaction)。在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含芳基鹵化物(或三氟甲磺酸酯或甲苯磺酸酯)、炔烴及鈀催化劑之反應。在一些實施例中，交叉偶合反應

使得連接子或結合部分經由碳-碳鍵連接至細胞介素肽。

【0351】 在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含在結合之前反應性基團之去除保護基或「釋放」反應。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含藉由光釋放反應性基團，隨後進行結合反應。在一些實施例中，反應性基團經包含一或多個硝基之芳烷基部分保護。在一些實施例中，反應性基團之釋放產生游離胺、硫化物或其他反應性基團。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含藉由過渡金屬催化劑釋放反應性基團，隨後進行結合反應。在一些實施例中，過渡金屬催化劑包含鈀及一或多種配位體。在一些實施例中，反應性基團經烯丙基部分保護。在一些實施例中，反應性基團經烯丙基胺基甲酸酯保護。在一些實施例中，反應性基團經丙炔部分保護。在一些實施例中，反應性基團經胺基甲酸炔丙酯保護。在一些實施例中，反應性基團經親二烯物保護，其中暴露於二烯(諸如四嗪)使得反應性基團去除保護基。

【0352】 在本文所述之一些實施例中，本文所述之結合反應包含配位體導向之反應，其中連接至反應性基團)之配位體(視情況)促進反應性基團與細胞介素肽之間的結合位點。在一些實施例中，配位體在細胞介素肽與反應性基團反應期間或之後裂解。在一些實施例中，細胞介素肽之結合位點係天然胺基酸。在一些實施例中，細胞介素肽之結合位點係離胺酸、半胱胺酸或絲胺酸。在一些實施例中，細胞介素肽之結合位點係本文所述之非天然胺基酸。在一些實施例中，反應性基團包含離去基，諸如缺電子芳基或雜芳基。在一些實施例中，反應性基團包含離去基，諸如經細胞介素肽置換之缺電子烷基。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含自由基捕獲劑與自由基物種之反應。在一些實施例中，本文所述之結合反

應包含氧化自由基加成反應。在一些實施例中，自由基捕獲劑係芳基胺。在一些實施例中，自由基物種係酪胺醯自由基。在一些實施例中，自由基物種由釕催化劑(諸如[$Ru(bpy)_3$])及光產生。

【0353】 酶促反應視情況用於本文所述之結合反應。例示性酶促結合包括SortA介導之結合、TG介導之結合或FGE介導之結合。在一些實施例中，本文所述之結合反應包含末端1-胺基-2-硫基與硫酯之天然蛋白質接合(NPL)以形成醯胺鍵。

【0354】 本文描述使連接子或結合部分與細胞介素肽反應之各種結合反應，其中反應與細胞介素肽中之天然(「典型」)胺基酸發生。在一些實施例中，天然胺基酸發現於見於野生型序列中之結合位置，或可替代地該位置已發生突變。在一些實施例中，結合反應包含在半胱胺酸殘基處形成雙硫鍵。在一些實施例中，結合反應包含半胱胺酸或離胺酸之1,4邁克爾加成反應(Michael addition reaction)。在一些實施例中，結合反應包含半胱胺酸之氰基苯并噻唑接合。在一些實施例中，結合反應包含與丙酮部分，諸如1,3-二氯-2-丙酮交聯。在一些實施例中，結合反應包含1,4邁克爾加成得到去氫丙胺酸，其由半胱胺酸與O-均三甲苯磺醯基羥胺之反應形成。在一些實施例中，結合反應包含酪胺酸與三唑啉二酮(TAD)或TAD衍生物之反應。在一些實施例中，結合反應包含色胺酸與銙類碳烯之反應。

使用方法

增生性疾病或病狀

【0355】 在一些實施例中，本文描述一種治療有需要之個體之增生性疾病或病狀之方法，其包含向個體投與治療有效量之本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。在一些情況下，細胞介素結合物包含SEQ ID

NO: 5-84。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 15-29。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 40-54。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 55-69。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 70-84。在一些情況下，IL-2結合物包含經分離及純化之IL-2多肽及結合部分，其中相對於野生型IL-2多肽，IL-2結合物具有降低之與IL-2受體α (IL-2Rα)次單元之親和力。在一些情況下，IL-2結合物包含經分離及純化之IL-2多肽；及在選自以下之胺基酸位置結合至經分離及純化之IL-2多肽的結合部分：K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E60、E61、E62、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105及Y107，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些情況下，IL-2結合物較佳與IL-2Rβ及IL-2Rβγ次單元相互作用以形成IL-2/IL-2Rβγ複合物。在一些情況下，IL-2/IL-2Rβγ複合物刺激及/或增強CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶T細胞、NK細胞及/或NKT細胞之擴增。在額外情況下，Teff細胞之擴增使Teff:Treg比率偏向Teff群體。在一些實施例中，包含殘基F42 (其中殘基對應於SEQ ID NO: 1之位置42)處之突變的IL-2結合物包含結合部分，其包含分子量為約2,000-50,000 Da的PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。

在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽的較長活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0356】 在一些實施例中，本文描述一種治療有需要個體之增生性疾病或病狀之方法，其包含向個體投與治療有效量之**表20**所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 1-84。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 15-29。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 40-54。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 55-69。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO.: 70-84。在一些實施例中，IL-2結合物包含式(I)結構。在一些實施例中，IL-2結合物包含式(II)結構。在一些實施例中，IL-2結合物包含式(III)結構。在一些實施例中，IL-2結合物包含式(IV)結構。在一些實施例中，IL-2結合物包含式(V)結構。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 2。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 3。在一些實施例中，IL-2結

合物包含SEQ ID NO: 4。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 5。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 6。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 7。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 8。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 9。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 10。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 11。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 12。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 13。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 14。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 15。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 16。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 17。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 18。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 19。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 20。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 21。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 22。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 23。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 24。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 25。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 26。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 27。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 28。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 24。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 25。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 26。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 27。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 28。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 29。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 30。在一些實施例中，IL-2

結合物包含SEQ ID NO: 31。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 32。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 33。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 34。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 35。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 36。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 37。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 38。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 39。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 40。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 41。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 42。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 43。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 44。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 45。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 46。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 47。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 48。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 49。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 50。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 51。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 52。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 53。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 54。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 55。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 56。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 57。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 58。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 59。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 60。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 61。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 62。在一些實施例

中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 63。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 64。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 65。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 66。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 67。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 68。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 69。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 70。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 71。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 72。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 73。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 74。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 75。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 76。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 77。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 78。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 79。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 80。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 81。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 82。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 83。在一些實施例中，IL-2結合物包含SEQ ID NO: 84。

【0357】 在一些實施例中，增生性疾病或病狀係癌症。在一些情況下，癌症係實體腫瘤。例示性實體腫瘤包括但不限於膀胱癌、骨癌、腦癌、乳癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰臟癌或前列腺癌。在一些情況下，實體腫瘤係轉移癌。在一些情況下，實體腫瘤係復發性或難治性癌症。在一些情況下，實體腫瘤為去勢耐藥性前列腺癌、轉移性去勢耐藥性前列腺癌或具有DNA損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢耐藥性前列腺癌。

【0358】 在一些情況下，向有需要之個體投與本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)結合物以用於治療實體腫瘤。在此類情況下，個體患有膀胱癌、骨癌、腦癌、乳癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰臟癌或前列腺癌。在一些情況下，實體腫瘤係轉移癌。在一些情況下，實體腫瘤係復發性或難治性癌症。在一些情況下，實體腫瘤為去勢耐藥性前列腺癌、轉移性去勢耐藥性前列腺癌或具有DNA損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢耐藥性前列腺癌。

【0359】 在一些情況下，向有需要之個體投與本文所述之IL-2結合物以用於治療實體腫瘤。在此類情況下，個體患有膀胱癌、骨癌、腦癌、乳癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰臟癌或前列腺癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療膀胱癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療乳癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療結腸直腸癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療食道癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療頭頸癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療腎癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療肺癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療黑色素瘤。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療卵巢癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療胰臟癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療前列腺癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療去勢耐藥性前列腺癌、轉移性去勢耐藥性前列腺癌或具有DNA損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢耐藥性前列腺癌。

【0360】 在一些實施例中，向個體投與IL-2結合物以用於治療轉移癌。在一些情況下，轉移癌包含轉移性膀胱癌、轉移性骨癌、轉移性腦癌、轉移性乳癌、轉移性結腸直腸癌、轉移性食道癌、轉移性眼癌、轉移性頭頸癌、轉移性腎癌、轉移性肺癌、轉移性黑色素瘤、轉移性卵巢癌、轉移性胰臟癌或轉移性前列腺癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療轉移性膀胱癌、轉移性骨癌、轉移性腦癌、轉移性乳癌、轉移性結腸直腸癌、轉移性食道癌、轉移性眼癌、轉移性頭頸癌、轉移性腎癌、轉移性肺癌、轉移性黑色素瘤、轉移性卵巢癌、轉移性胰臟癌或轉移性前列腺癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療去勢耐藥性前列腺癌、轉移性去勢耐藥性前列腺癌或具有DNA損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢耐藥性前列腺癌。

【0361】 在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療復發性或難治性癌症。在一些情況下，復發性或難治性癌症包含復發性或難治性膀胱癌、復發性或難治性骨癌、復發性或難治性腦癌、復發性或難治性乳癌、復發性或難治性結腸直腸癌、復發性或難治性食道癌、復發性或難治性眼癌、復發性或難治性頭頸癌、復發性或難治性腎癌、復發性或難治性肺癌、復發性或難治性黑色素瘤、復發性或難治性卵巢癌、復發性或難治性胰臟癌或復發性或難治性前列腺癌。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療復發性或難治性膀胱癌、復發性或難治性骨癌、復發性或難治性腦癌、復發性或難治性乳癌、復發性或難治性結腸直腸癌、復發性或難治性食道癌、復發性或難治性眼癌、復發性或難治性頭頸癌、復發性或難治性腎癌、復發性或難治性肺癌、復發性或難治性黑色素瘤、復發性或難治性卵巢癌、復發性或難治性胰臟癌或復發性或難治性前列腺癌。

【0362】在一些實施例中，癌症為未經治療(treatment-naïve)之癌症。在此類情況下，未經治療之癌症為尚未經療法治療之癌症。在一些情況下，未經治療之癌症係實體腫瘤，諸如膀胱癌、骨癌、腦癌、乳癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰臟癌或前列腺癌。在一些實施例中，本文描述一種治療有需要個體之未經治療之實體腫瘤之方法，其包含向個體投與本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。

【0363】在一些實施例中，癌症為惡性血液病。在一些情況下，惡性血液病包含白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些情況下，惡性血液病為T細胞惡性病。在其他情況下，惡性血液病係B細胞惡性病。例示性惡性血液病包括但不限於慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴球性淋巴瘤(SLL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、多發性骨髓瘤、結外邊緣區B細胞淋巴瘤、結邊緣區B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、非伯基特高級B細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤(PMBL)、免疫胚細胞大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴球性白血病、淋巴漿細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞瘤、縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤或淋巴瘤樣肉芽腫。

【0364】在一些情況下，惡性血液病係轉移癌。在一些情況下，轉移癌係轉移性T細胞惡性病或轉移性B細胞惡性病。

【0365】在一些情況下，惡性血液病係復發性或難治性癌症。在一

些情況下，復發性或難治性癌症係復發性或難治性T細胞惡性病或復發性或難治性B細胞惡性病。

【0366】 在一些情況下，向有需要之個體投與本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)以用於治療惡性血液病。在一些情況下，個體患有T細胞惡性病。在一些情況下，個體患有B細胞惡性病。在一些情況下，個體患有慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴球性淋巴瘤(SLL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症、多發性骨髓瘤、結外邊緣區B細胞淋巴瘤、結邊緣區B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、非伯基特高級B細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤(PMBL)、免疫胚細胞大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴球性白血病、淋巴漿細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞瘤、縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤或淋巴瘤樣肉芽腫。

【0367】 在一些情況下，向有需要之個體投與本文所述之IL-2結合物以用於治療惡性血液病。在一些情況下，個體患有T細胞惡性病。在一些情況下，個體患有B細胞惡性病。在一些情況下，個體患有慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴球性淋巴瘤(SLL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症、多發性骨髓瘤、結外邊緣區B細胞淋巴瘤、結邊緣區B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、非伯基特高級B細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤(PMBL)、免疫胚細胞大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴球性白血病、淋巴漿細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、漿

細胞骨髓瘤、漿細胞瘤、縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤或淋巴瘤樣肉芽腫。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療CLL。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療SLL。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療FL。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療DLBCL。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療MCL。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療多發性骨髓瘤。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療伯基特氏淋巴瘤。

【0368】 在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療轉移性惡性血液病。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療轉移性T細胞惡性病。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療轉移性B細胞惡性病。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴球性淋巴瘤(SLL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症、多發性骨髓瘤、結外邊緣區B細胞淋巴瘤、結邊緣區B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、非伯基特高級B細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤(PMBL)、免疫胚細胞大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴球性白血病、淋巴漿細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞瘤、縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤或轉移性淋巴瘤樣肉芽腫。

【0369】 在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療復發性或難治性惡性血液病。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療

復發性或難治性T細胞惡性病。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療復發性或難治性B細胞惡性病。在一些情況下，向個體投與IL-2結合物以用於治療復發性或難治性慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴球性淋巴瘤(SLL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症、多發性骨髓瘤、結外邊緣區B細胞淋巴瘤、結邊緣區B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、非伯基特高級B細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤(PMBL)、免疫胚細胞大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴球性白血病、淋巴漿細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞瘤、縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤或淋巴瘤樣肉芽腫。

額外治療劑

【0370】 在一些實施例中，向個體進一步投與額外治療劑。在一些情況下，額外治療劑與細胞介素結合物(例如IL-2結合物)同時投與。在其他情況下，依序投與額外治療劑及IL-2結合物，例如在額外治療劑之前投與細胞介素結合物(例如IL-2結合物)或在投與額外治療劑之後投與細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。

【0371】 在一些情況下，額外治療劑包含化學治療劑、免疫治療劑、靶向療法、放射療法或其組合。說明性額外治療劑包括但不限於烷基化劑，諸如六甲蜜胺(altretamine)、白消安(busulfan)、卡鉑(carboplatin)、卡莫司汀(carmustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、順鉑(cisplatin)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、達卡巴嗪(dacarbazine)、洛莫司汀(lomustine)、美法侖(melphalan)、奧沙利鉑(oxalaplatin)、替莫唑

胺(temozolomide)或噻替派(thiotepa)；抗代謝物，諸如5-氟尿嘧啶(5-FU)、6-巯基嘌呤(6-MP)、卡培他濱(capecitabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、氟尿苷(floxuridine)、氟達拉賓(fludarabine)、吉西他濱(gemcitabine)、羥基脲(hydroxyurea)、甲胺喋呤(methotrexate)或培美曲塞(pemetrexed)；蒽環黴素(anthracycline)，諸如道諾黴素(daunorubicin)、小紅莓(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)或艾達黴素(idarubicin)；拓樸異構酶I抑制劑，諸如拓朴替康(topotecan)或伊立替康(irinotecan) (CPT-11)；拓樸異構酶II抑制劑，諸如依託泊苷(etoposide) (VP-16)、替尼泊苷(teniposide)或米托蒽醌(mitoxantrone)；有絲分裂抑制劑，諸如多烯紫杉醇(docetaxel)、雌氮芥(estramustine)、伊沙匹隆(ixabepilone)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、長春鹼(vinblastine)、長春新鹼(vincristine)或長春瑞賓(vinorelbine)；或皮質類固醇，諸如潑尼松(prednisone)、甲基潑尼松龍(methylprednisolone)或地塞米松(dexamethasone)。

【0372】在一些情況下，額外治療劑包含一線療法。如本文所用，「一線療法」包含用於患有癌症之個體之初步治療。在一些情況下，癌症為原發癌。在其他情況下，癌症為轉移性或復發性癌症。在一些情況下，一線療法包含化學療法。在其他情況下，一線治療包含放射療法。熟練技術人員將容易理解，不同一線治療可適用於不同類型之癌症。

【0373】在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與選自以下之額外治療劑一起投與：烷基化劑，諸如六甲蜜胺、白消安、卡鉑、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、順鉑、環磷醯胺、達卡巴嗪、洛莫司汀、美法侖、奧沙利鉑、替莫唑胺或噻替派；抗代謝物，諸如5-氟尿嘧啶(5-FU)、

6-巰基嘌呤(6-MP)、卡培他濱、阿糖胞苷、氟尿苷、氟達拉賓、吉西他濱、羥基脲、甲胺喋呤或培美曲塞；蒽環黴素，諸如道諾黴素、小紅莓、表柔比星或艾達黴素；拓樸異構酶I抑制劑，諸如拓朴替康或伊立替康(CPT-11)；拓樸異構酶II抑制劑，諸如依託泊苷(VP-16)、替尼泊苷或米托蒽醌；有絲分裂抑制劑，諸如多烯紫杉醇、雌氮芥、伊沙匹隆、太平洋紫杉醇、長春鹼、長春新鹼或長春瑞賓；或皮質類固醇，諸如潑尼松、甲基潑尼松龍或地塞米松。

【0374】 在一些情況下，本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與酶聚ADP核糖聚合酶(PARP)之抑制劑一起投與。例示性PARP抑制劑包括但不限於：奧拉帕尼(olaparib) (AZD-2281，Lynparza®，來自Astra Zeneca)、瑞卡帕尼(rucaparib) (PF-01367338，Rubraca®，來自Clovis Oncology)、尼拉帕尼(niraparib) (MK-4827，Zejula®，來自Tesaro)、拉唑帕尼(talazoparib) (BMN-673，來自BioMarin Pharmaceutical Inc.)、維利帕尼(veliparib) (ABT-888，來自AbbVie)、CK-102 (以前之CEP 9722，來自Teva Pharmaceutical Industries Ltd.)、E7016 (來自Eisai)、依尼帕瑞(iniparib) (BSI 201，來自Sanofi)及帕米帕里(pamiparib) (BGB-290，來自BeiGene)。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與PARP抑制劑組合投與，該PARP抑制劑諸如奧拉帕尼、瑞卡帕尼、尼拉帕尼、拉唑帕尼、維利帕尼、CK-102、E7016、依尼帕瑞或帕米帕里。

【0375】 在一些情況下，本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與免疫檢查點抑制劑一起投與。例示性檢查點抑制劑包括：

【0376】 PD-L1抑制劑，諸如Genentech之MPDL3280A

(RG7446)、來自BioXcell之抗小鼠PD-L1抗體純系10F.9G2 (目錄號BE0101)、來自Bristol-Meyer's Squibb之抗PD-L1單株抗體MDX-1105 (BMS-936559)及BMS-935559、MSB0010718C、小鼠抗PD-L1純系29E.2A3、AstraZeneca之MEDI4736、阿特珠單抗(atezolizumab) (亦稱為Tecentriq®)、巴伐珠單抗(bavelizumab) (亦稱為Imfinzi®)及阿維魯單抗(avelumab) (亦稱為Bavencio®)；

【0377】PD-L2抑制劑，諸如GlaxoSmithKline之AMP-224 (Amplimmune)及rHIgM12B7；

【0378】PD-1抑制劑，諸如來自BioXcell之抗小鼠PD-1抗體純系J43 (目錄號BE0033-2)、來自BioXcell之抗小鼠PD-1抗體純系RMP1-14 (目錄號BE0146)、小鼠抗PD-1抗體純系EH12、Merck之MK-3475抗小鼠PD-1抗體(克珠達(Keytruda)、派立珠單抗(pembrolizumab)、拉立珠單抗(lambrolizumab)、AnaptysBio之稱為ANB011的抗PD-1抗體、抗體MDX-1 106 (ONO-4538)、Bristol-Myers Squibb之人類IgG4單株抗體納武單抗(nivolumab) (Opdivo®、BMS-936558、MDX1106)、AstraZeneca之AMP-514及AMP-224、來自Regeneron之測米匹單抗(cemiplimab)及來自CureTech Ltd之皮立珠單抗(Pidilizumab) (CT-011)；

【0379】CTLA-4抑制劑，諸如Bristol Meyers Squibb之抗CTLA-4抗體伊匹單抗(ipilimumab) (亦稱為Yervoy®、MDX-010、BMS-734016及MDX-101)、來自Millipore之抗CTLA4抗體純系9H10、Pfizer之曲美單抗(tremelimumab) (CP-675,206、替西單抗(ticilimumab))及來自Abcam之抗CTLA4抗體純系BNI3；

【0380】LAG3抑制劑，諸如來自eBioscience之抗Lag-3抗體純系

eBioC9B7W (C9B7W)、來自LifeSpan Biosciences之抗Lag3抗體LS-B2237、來自Immutep之IMP321 (ImmuFact)、抗Lag3抗體BMS-986016、及LAG-3嵌合抗體A9H12；

【0381】 B7-H3抑制劑，諸如MGA271；

【0382】 KIR抑制劑，諸如利瑞路單抗(Lirilumab) (IPH2101)；

【0383】 CD137抑制劑，諸如烏瑞魯單抗(urelumab) (BMS-663513，Bristol-Myers Squibb)、PF-05082566 (抗4-1BB，PF-2566，Pfizer)或XmAb-5592 (Xencor)；

【0384】 PS抑制劑，諸如巴維昔單抗(Bavituximab)；

【0385】 及以下之抑制劑，諸如抗體或其片段(例如單株抗體、人類、人類化或嵌合抗體)、RNAi分子或小分子：TIM3、CD52、CD30、CD20、CD33、CD27、OX40、GITR、ICOS、BTLA (CD272)、CD160、2B4、LAIR1、TIGHT、LIGHT、DR3、CD226、CD2或SLAM。

【0386】 在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與派立珠單抗、納武單抗、曲美單抗或伊匹單抗組合投與。

【0387】 在一些情況下，本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與抗體一起投與，該抗體諸如阿倫珠單抗(alemtuzumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、替伊莫單抗(ibritumomab tiuxetan)、貝倫妥單抗維多汀(brentuximab vedotin)、曲妥珠單抗-美坦新偶聯物(ado-trastuzumab emtansine)或博納吐單抗(blinatumomab)。

【0388】 在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與選自受體促效劑之額外治療劑一起投與。在一些情況下，受體促效劑包含鐸樣

受體(TLR)配位體。在一些情況下，TLR配位體包含TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8或TLR9。在一些情況下，TLR配位體包含合成配位體，諸如Pam3Cys、CFA、MALP2、Pam2Cys、FSL-1、Hib-OMPC、聚I:C、聚A:U、AGP、MPL A、RC-529、MDF2β、CFA或鞭毛蛋白。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與一或多種選自以下之TLR促效劑一起投與：TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8及TLR9。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與一或多種選自以下之TLR促效劑一起投與：Pam3Cys、CFA、MALP2、Pam2Cys、FSL-1、Hib-OMPC、聚I:C、聚A:U、AGP、MPL A、RC-529、MDF2β、CFA及鞭毛蛋白。

【0389】在一些實施例中，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與授受性T細胞傳送(ACT)療法結合使用。在一個實施例中，ACT涉及鑑別個體中具有例如抗腫瘤活性之自體T淋巴細胞，活體外擴增自體T淋巴細胞及隨後將經擴增之T淋巴細胞再輸注至個體中。在另一實施例中，ACT包含使用具有例如抗腫瘤活性之同種異體T淋巴細胞，活體外擴增T淋巴細胞及隨後將經擴增之同種異體T淋巴細胞輸注至有需要之個體中。在一些情況下，本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與作為ACT療法之一部分的自體T淋巴細胞結合使用。在其他情況下，本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與作為ACT療法之一部分的同種異體T淋巴細胞結合使用。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與ACT療法同時向有需要之個體投與。在其他情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與ACT療法依序向有需要之個體投與。

【0390】 在一些實施例中，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)用於離體活化及/或擴增自體及/或同種異體T細胞傳送。在此類情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)用於活化及/或擴增包含自體及/或同種異體T細胞之樣品，且在向有需要之個體投與樣品之前視情況自樣品移除細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。

【0391】 在一些實施例中，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與疫苗一起投與。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與溶瘤病毒組合利用。在此類情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)充當調節免疫反應之刺激劑。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與作為輔助療法之一部分的溶瘤病毒一起使用。例示性溶瘤病毒包括T-Vec (Amgen)、G47Δ (Todo 等人)、JX-594 (Sillajen)、CG0070 (Cold Genesys)及瑞賴森(Reolysin) (Oncolytics Biotech)。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與諸如T-Vec、G47Δ、JX-594、CG0070或瑞賴森之溶瘤病毒組合使用。

【0392】 在一些實施例中，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與放射療法組合投與。

【0393】 在一些實施例中，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與手術組合投與。

病原性感染

【0394】 在一些實施例中，本文描述一種治療有需要個體之病原性感染之方法，其包含向個體投與治療有效量之本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。在一些情況下，IL-2結合物包含經分離及純化之IL-2多肽及結合部分，其中相對於野生型IL-2多肽，IL-2結合物具有降低之與

IL-2受體α (IL-2Rα)次單元之親和力。在一些情況下，IL-2結合物包含經分離及純化之IL-2多肽；及在選自以下之胺基酸位置結合至經分離及純化之IL-2多肽的結合部分：K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E60、E61、E62、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105及Y107，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些情況下，IL-2結合物較佳與IL-2Rβ及IL-2Rβγ次單元相互作用以形成IL-2/IL-2Rβγ複合物，其刺激及/或增強CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞之擴增。在額外情況下，IL-2結合物有助於藉由CD8+ T細胞識別病原性儲庫。在一些實施例中，包含殘基F42 (其中殘基對應於SEQ ID NO: 1之位置42)處之突變的IL-2結合物包含結合部分，其包含分子量為約2,000-50,000 Da的PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽的較長活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分

子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0395】 在一些實施例中，病原性感染係病毒感染，其中用抗病毒療法治療時，病毒儲庫(例如休眠CD4+ T細胞)持續存在於經治療宿主中。在此類情況下，本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)誘導藉由CD8+ T細胞(或細胞毒性T細胞)識別病毒儲庫。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)用作單一療法以重導向CD8+ T細胞至感染休眠細胞，以消除該等感染休眠細胞。在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與額外療法組合使用以重導向CD8+ T細胞至感染休眠細胞，以消除該等感染休眠細胞。例示性額外療法包含抗病毒治療，諸如阿昔洛韋(acyclovir)、溴夫定(brivudine)、多可沙諾(docosanol)、泛昔洛韋(famciclovir)、膦甲酸(foscarnet)、碘苷(idoxuridine)、噴昔洛韋(penciclovir)、曲氟尿苷(trifluridine)、發昔洛韋(valacyclovir)及普瑞利偉(pritelivir)。

【0396】 在一些實施例中，病毒係DNA病毒或RNA病毒。DNA病毒包括單股(ss) DNA病毒、雙股(ds) DNA病毒或含有ss與ds DNA區之DNA病毒。RNA病毒包括單股(ss) RNA病毒或雙股(ds) RNA病毒。在一些情況下，ssRNA病毒進一步分類為正義RNA病毒或反義RNA病毒。

【0397】 例示性dsDNA病毒包括來自以下科之病毒：肌尾噬菌體科(Myoviridae)、短尾病毒科(Podoviridae)、長尾病毒科(Siphoviridae)、異

疱疹病毒科(Alloherpesviridae)、疱疹病毒科(Herpesviridae)、軟體動物疱疹病毒科(Malacoherpesviridae)、脂毛噬菌體科(Lipothrixviridae)、小桿狀噬菌體科(Rudiviridae)、腺病毒科(Adenoviridae)、瓶狀病毒科(Ampullaviridae)、囊泡病毒科(Ascoviridae)、艾斯法病毒科(Asfaviridae)、桿狀病毒科(Baculoviridae)、雙尾病毒科(Bicaudaviridae)、克氏病毒科(Clavaviridae)、被脂病毒科(Corticoviridae)、微小紡錘形噬菌體科(Fuselloviridae)、格氏病毒科(Globuloviridae)、滴狀病毒科(Guttaviridae)、唾液腺肥大病毒科(Hytrosaviridae)、虹彩病毒科(Iridoviridae)、馬賽病毒科(Marseilleviridae)、擬菌病毒科(Mimiviridae)、線極病毒科(Nimaviridae)、潘多拉病毒科(Pandoraviridae)、乳頭瘤病毒科(Papillomaviridae)、藻類DNA病毒科(Phycodnaviridae)、芽生噬菌體科(Plasmaviridae)、多分DNA病毒(Polydnaviruses)、多瘤病毒科(Polyomaviridae)、痘病毒科(Poxviridae)、弗氏病毒科(Sphaerolipoviridae)及複層噬菌體科(Tectiviridae)。

【0398】 例示性ssDNA病毒包括來自以下科之病毒：指環病毒科(Anelloviridae)、巴氏病毒科(Bacillariodnaviridae)、雙DNA病毒科(Bidnaviridae)、環病毒科(Circoviridae)、雙生病毒科(Geminiviridae)、絲狀噬菌體科(Inoviridae)、微小噬菌體科(Microviridae)、矮化病毒科(Nanoviridae)、細小病毒科(Parvoviridae)及圈形病毒科(Spiraviridae)。

【0399】 含有ss及ds DNA區之例示性DNA病毒包括來自普氏病毒(pleolipoviruses)群之病毒。在一些情況下，普氏病毒包括鹽盒菌屬西班牙多形性病毒1 (*Haloarcula hispanica pleomorphic virus 1*)、鹽幾何菌

屬多形性病毒1 (*Halogeometricum pleomorphic virus 1*)、鹽紅菌屬多形性病毒1 (*Halorubrum pleomorphic virus 1*)、鹽紅菌屬多形性病毒2、鹽紅菌屬多形性病毒3及鹽紅菌屬多形性病毒6。

【0400】 例示性dsRNA病毒包括來自以下科之病毒：雙股核醣酸病毒科(Birnaviridae)、金色病毒科(Chrysoviridae)、囊狀噬菌體科(Cystoviridae)、內源病毒科(Endornaviridae)、低毒性病毒科(Hypoviridae)、麥氏病毒科(Megavirnaviridae)、分體病毒科(Partitiviridae)、小雙節RNA病毒科(Picobirnaviridae)、里奧病毒科(Reoviridae)、輪狀病毒(Rotavirus)及整體病毒科(Totiviridae)。

【0401】 例示性正義ssRNA病毒包括來自以下科之病毒：甲型線形病毒科(Alphaflexiviridae)、甲型特氏病毒科(Alphatetraviridae)、阿氏病毒科(Alvernaviridae)、動脈炎病毒科(Arteriviridae)、星狀病毒科(Astroviridae)、桿菌狀核糖核酸病毒科(Barnaviridae)、乙型線形病毒科(Betaflexiviridae)、雀麥花葉病毒科(Bromoviridae)、杯狀病毒科(Caliciviridae)、卡氏病毒科(Carmotetraviridae)、長線形病毒科(Closteroviridae)、冠狀病毒科(Coronaviridae)、二順反子病毒科(Dicistroviridae)、黃病毒科(Flaviviridae)、丙型線形病毒科(Gammaflexiviridae)、傳染性軟化病毒科(Iflaviridae)、光滑病毒科(Leviviridae)、黃症病毒科(Luteoviridae)、海洋RNA病毒科(Marnaviridae)、梅氏病毒科(Mesoniviridae)、裸露RNA病毒科(Narnaviridae)、野田病毒科(Nodaviridae)、派氏病毒科(Permutotetraviridae)、小RNA病毒科(Picornaviridae)、馬鈴薯Y病毒科(Potyviridae)、桿狀套病毒科(Roniviridae)、反轉錄病毒屬

(Retroviridae)、植物小RNA病毒科(Secoviridae)、披膜病毒科(Togaviridae)、番茄叢矮病毒科(Tombusviridae)、蕪菁發黃鑲嵌病毒科(Tymoviridae)及帚狀病毒科(Virgaviridae)。

【0402】例示性反義ssRNA病毒包括來自以下科之病毒：沙粒病毒科(Arenaviridae)、博爾納病毒科(Bornaviridae)、布尼亞病毒科(Bunyaviridae)、絲狀病毒科(Filoviridae)、尼式病毒科(Nyamiviridae)、蛇形病毒科(Ophioviridae)、正黏病毒科(Orthomyxoviridae)、副黏病毒科(Paramyxoviridae)及彈狀病毒科(Rhabdoviridae)。

【0403】在一些實施例中，病原性感染由以下引起：阿貝爾森白血病病毒(Abelson leukemia virus)、阿貝爾森鼠類白血病病毒、阿貝爾森氏病毒、急性喉氣管支氣管炎病毒、阿德萊德河病毒(Adelaide River virus)、腺相關病毒群、腺病毒、非洲馬瘟病毒(African horse sickness virus)、非洲豬瘟病毒(African swine fever virus)、AIDS病毒、阿留申貂病細小病毒(Aleutian mink disease parvovirus)、α逆轉錄病毒屬(Alpharetrovirus)、α病毒(Alphavirus)、ALV相關病毒、大卡里孛病毒(Amapari virus)、口蹄疫病毒(Aphthovirus)、水產里奧病毒(Aquareovirus)、蟲媒病毒(Arbovirus)、蟲媒病毒C、蟲媒病毒A群、蟲媒病毒B群、沙粒狀病毒群(Arenavirus group)、阿根廷出血熱病毒(Argentine hemorrhagic fever virus)、阿根廷出血熱病毒、動脈炎病毒(Arterivirus)、星狀病毒(Astrovirus)、侏猴疱疹病毒群(Ateline herpesvirus group)、奧耶斯基氏病病毒(Aujezky's disease virus)、奧拉病毒(Aura virus)、奧斯達克病病毒(Ausduk disease virus)、澳大利亞蝙蝠狂犬病毒(Australian bat lyssavirus)、禽腺病毒(Aviadenovirus)、禽骨

髓成紅血球增多症病毒、禽感染性支氣管炎病毒、禽白血病病毒、禽白血病性病毒、禽淋巴瘤病病毒、禽骨髓胚細胞過多症病毒、禽副黏病毒、禽肺炎腦炎病毒、禽網狀內皮細胞增生病病毒、禽肉瘤病毒、禽C型反轉錄病毒群、禽肝病毒(Avihepadnavirus)、禽痘病毒(Avipoxvirus)、B病毒、B19病毒、巴巴克病毒(Babanki virus)、狒狒疱疹病毒、桿狀病毒、巴馬森林病毒(Barmah Forest virus)、比巴魯病毒(Bebaru virus)、貝里馬病毒(Berrimah virus)、β逆轉錄病毒(Betaretrovirus)、雙RNA病毒(Birnavirus)、貝特納病毒(Bittner virus)、BK病毒、黑港渠病毒(Black Creek Canal virus)、藍舌病病毒、玻利維亞出血熱病毒(Bolivian hemorrhagic fever virus)、博馬病病毒(Boma disease virus)、綿羊邊界病病毒、博納病毒(borna virus)、牛α疱疹病毒1、牛α疱疹病毒2、牛冠狀病毒、牛暫時發熱病毒、牛免疫缺陷病毒、牛白血病病毒、牛白血病性病毒、牛乳頭炎病毒、牛乳突狀瘤病毒、牛丘疹口腔炎病毒、牛細小病毒、牛融合病毒、牛C型腫瘤病毒、牛病毒性腹瀉病毒、病毒(Buggy Creek virus)、子彈形病毒群、布尼安維拉病毒超群(Bunyamwera virus supergroup)、布尼亞病毒(Bunyavirus)、伯基特氏淋巴瘤病毒、勃旺巴發熱(Bwamba Fever)、CA病毒、杯狀病毒(Calicivirus)、加州腦炎病毒(California encephalitis virus)、駱駝痘病毒(camelpox virus)、金絲雀痘病毒(canarypox virus)、犬科動物疱疹病毒(canid herpesvirus)、犬冠狀病毒(canine coronavirus)、犬瘟熱病毒(canine distemper virus)、犬疱疹病毒(canine herpesvirus)、犬微小病毒(canine minute virus)、犬細小病毒(canine parvovirus)、卡尼奧德爾加蒂圖病毒(Cano Delgadito virus)、山羊關節炎病毒、山羊腦炎病毒、山羊疱疹病毒、羊痘病毒(Capripox

virus)、心病毒、豚鼠疱疹病毒1 (caviid herpesvirus 1)、猴疱疹病毒1 (Cercopithecid herpesvirus 1)、獼猴疱疹病毒1 (cercopithecine herpesvirus 1)、獼猴疱疹病毒2、金迪普拉病毒(Chandipura virus)、張格羅拉病毒(Changuinola virus)、河鯰病毒(channel catfish virus)、沙勒維爾病毒(Charleville virus)、水痘病毒(chickenpox virus)、屈公病毒(Chikungunya virus)、黑猩猩疱疹病毒(chimpanzee herpesvirus)、鰱魚里奧病毒(chub reovirus)、大麻哈魚病毒(chum salmon virus)、科卡爾病毒(Cocal virus)、銀鮭里奧病毒(Coho salmon reovirus)、媾疹病毒(coital exanthema virus)、科羅拉多壁虱熱病毒(Colorado tick fever virus)、科羅拉多蜱傳熱症病毒屬(Coltivirus)、哥倫比亞SK病毒(Columbia SK virus)、感冒病毒、觸染性膿皰病毒(contagious eethyma virus)、觸染性膿皰型皮膚炎病毒、冠狀病毒、科里帕塔病毒(Corriparta virus)、鼻黏膜炎病毒、牛痘病毒、科沙奇病毒(coxsackie virus)、細胞質多角體病毒(CPV)、板球運動麻痺病毒、克里米亞-岡果出血熱病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)、喉炎相關病毒、隱病毒(Cryptovirus)、質型多角體病毒(Cypovirus)、巨細胞病毒、巨細胞病毒群、細胞質多角體病毒、鹿乳突狀瘤病毒、δ逆轉錄病毒屬、登革熱病毒、濃核病毒、依賴病毒、多理病毒(Dhori virus)、文憑病毒(diploma virus)、果蠅C病毒(*Drosophila* C virus)、鴨B型肝炎病毒、鴨肝炎病毒1、鴨肝炎病毒2、十二指腸病毒、杜文海格病毒(Duvenhage virus)、變形翼病毒DWV、東部馬腦炎病毒、東部馬腦脊髓炎病毒、EB病毒、伊波拉病毒、伊波拉樣病毒、回波病毒(echo virus)、埃可病毒、埃可病毒10、埃可病毒28、埃可病毒9、鼠痘病毒、EEE病毒、EIA病毒、EIA病毒、腦炎病毒、腦心肌炎

群病毒、腦心肌炎病毒、腸病毒、酶升高病毒、酶升高病毒(LDH)、傳染性出血熱病毒、流行性出血性疾病病毒、埃-巴二氏病毒(Epstein-Barr virus)、馬α疱疹病毒1 (equid alphaherpesvirus 1)、馬α疱疹病毒4、馬疱疹病毒2、馬流產病毒、馬動脈炎病毒、馬腦病病毒、馬感染性貧血病毒、馬麻疹病毒、馬鼻肺炎病毒、馬鼻病毒、艾本那戈病毒(Eubenangu virus)、歐洲麋鹿乳突狀瘤病毒、歐洲豬發熱病毒、沼澤地病毒、艾雅克病毒(Eyach virus)、貓疱疹病毒1、貓杯狀病毒、貓纖維肉瘤病毒、貓疱疹病毒、貓免疫缺陷病毒、貓感染性腹膜炎病毒、貓白血病/肉瘤病毒、貓白血病病毒、貓泛白血球減少症病毒、貓細小病毒、貓肉瘤病毒、貓融合病毒、纖絲病毒、弗朗德病毒(Flanders virus)、黃病毒、口蹄病病毒、摩根堡病毒(Fort Morgan virus)、四角漢坦病毒(Four Corners hantavirus)、家禽腺病毒1、鳥痘病毒、弗蘭德病毒(Friend virus)、γ逆轉錄病毒、GB肝炎病毒、GB病毒、德國麻疹病毒、蓋塔病毒(Getah virus)、長臂猿白血病病毒、腺發熱病毒、山羊痘病毒(goatpox virus)、金體美鮹魚病毒(golden shinner virus)、枯葉蛾病毒(Gonometa virus)、鵝細小病毒、顆粒體病毒、格羅斯氏病毒(Gross' virus)、地松鼠B型肝炎病毒、A群蟲媒病毒(group A arbovirus)、瓜納里托病毒(Guanarito virus)、天竺鼠巨細胞病毒(guinea pig cytomegalovirus)、天竺鼠C型病毒、漢坦安病毒(Hantaan virus)、漢坦病毒(Hantavirus)、硬殼蛤里奧病毒、野兔纖維瘤病毒、人類巨細胞病毒(HCMV)、血球吸附病毒2、日本血球凝集病毒、出血熱病毒、亨德拉病毒(hendra virus)、亨尼病毒(Henipaviruse)、嗜肝DNA病毒、A型肝炎病毒、B型肝炎病毒群、C型肝炎病毒、D型肝炎病毒、δ型肝炎病毒、E型肝炎病毒、F型肝炎病毒、G

型肝炎病毒、非A非B型肝炎病毒、肝炎病毒、肝炎病毒(非人類)、腦脊髓炎里奧病毒3、肝病毒、蒼鷺B型肝炎病毒、B型疱疹病毒、單純疱疹病毒、單純疱疹病毒1、單純疱疹病毒2、疱疹病毒、疱疹病毒7、蛛猴疱疹病毒、人單疱疹病毒、疱疹病毒感染、松鼠猴疱疹病毒、豬疱疹病毒、水痘疱疹病毒、J型高地病毒(Highlands J virus)、牙鮃棒狀病毒(Hirame rhabdovirus)、豬瘟病毒、人類腺病毒2、人類α疱疹病毒1、人類α疱疹病毒2、人類α疱疹病毒3、人類B型嗜淋巴細胞的病毒、人類β疱疹病毒5、人類冠狀病毒、人類巨細胞病毒群、人類泡沫病毒、人類γ疱疹病毒4、人類γ疱疹病毒6、人類A型肝炎病毒、人類疱疹病毒1群、人類疱疹病毒2群、人類疱疹病毒3群、人類疱疹病毒4群、人類疱疹病毒6、人類疱疹病毒8、人類免疫缺陷病毒、人類免疫缺陷病毒1、人類免疫缺陷病毒2、人類乳突狀瘤病毒、人類T細胞白血病病毒、人類T細胞白血病病毒I、人類T細胞白血病病毒II、人類T細胞白血病病毒III、人類T細胞淋巴瘤病毒I、人類T細胞淋巴瘤病毒II、第1型人類T細胞嗜淋巴細胞的病毒、第2型人類T細胞嗜淋巴細胞病毒、人類T嗜淋巴細胞病毒I、人類T嗜淋巴細胞病毒II、人類T嗜淋巴細胞的病毒III、姬蜂病毒(Ichnovirus)、嬰兒胃腸炎病毒、感染性牛鼻氣管炎病毒、感染性造血壞死病毒、感染性胰臟壞死病毒、流感病毒A、流感病毒B、流感病毒C、流感病毒D、流感病毒pr8、昆蟲虹彩病毒、昆蟲病毒、姬蜂病毒、日本B病毒、日本腦炎病毒、JC病毒、胡寧病毒、卡波西氏肉瘤相關之疱疹病毒、克麥羅沃病毒(Kemerovo virus)、克氏大鼠病毒(Kilham's rat virus)、克拉瑪斯病毒(Klamath virus)、科隆各病毒(Kolongo virus)、韓國出血熱病毒(Korean hemorrhagic fever virus)、庫姆巴病毒(kumba virus)、科薩努爾森林疾病

病毒(Kysanur forest disease virus)、孜拉加奇病毒(Kyzylagach virus)、拉克羅斯病毒(La Crosse virus)、乳酸去氫酶升高症病毒(lactic dehydrogenase elevating virus)、乳酸去氫酶病毒、拉各斯蝙蝠病毒(Lagos bat virus)、葉猴病毒(Langur virus)、兔細小病毒(lapine parvovirus)、拉沙熱病毒(Lassa fever virus)、拉沙病毒(Lassa virus)、潛伏大鼠病毒(latent rat virus)、LCM病毒、漏症病毒(Leaky virus)、慢病毒(Lentivirus)、野兔痘病毒(Leporipoxvirus)、白血病病毒(leukemia virus)、白血病病毒(leukovirus)、疙瘩皮膚病病毒、淋巴結病相關病毒、淋巴潛隱病毒(Lymphocryptovirus)、淋巴球性脈絡叢腦膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis virus)、淋巴增生病毒群、馬丘波病毒(Machupo virus)、瘋癢病病毒(mad itch virus)、哺乳動物B型腫瘤病毒群、哺乳動物B型反轉錄病毒、哺乳動物C型反轉錄病毒群、哺乳動物D型反轉錄病毒、乳房腫瘤病毒、馬普埃拉病毒(Mapuera virus)、馬堡病毒(Marburg virus)、類馬堡病毒(Marburg-like virus)、梅森輝瑞猴病毒(Mason Pfizer monkey virus)、哺乳動物腺病毒屬、馬雅羅病毒(Mayaro virus)、ME病毒、麻疹病毒、曼拉角病毒(Menangle virus)、門戈病毒(Mengo virus)、門戈病毒(Mengovirus)、米德爾堡病毒(Middelburg virus)、擠奶員結節病毒(milkers nodule virus)、貂腸炎病毒、小鼠之微小病毒、MLV相關病毒、MM病毒、莫科拉病毒(Mokola virus)、軟疣痘病毒(Molluscipoxvirus)、傳染性軟疣病毒(Molluscum contagiosum virus)、猴子B病毒、猴痘病毒、單股負鏈病毒(Mononegavirale)、麻疹病毒、埃爾崗蝙蝠病毒(Mount Elgon bat virus)、小鼠巨細胞病毒、小鼠腦脊髓炎病毒、小鼠肝炎病毒、小鼠K病毒、小鼠類白血病病毒、小鼠乳房

腫瘤病毒、小鼠微小病毒、小鼠肺炎病毒、小鼠脊髓灰白質炎病毒、小鼠多瘤病毒、小鼠肉瘤病毒、鼠痘病毒、莫三比克病毒(Mozambique virus)、穆坎布病毒(Mucambo virus)、黏膜疾病病毒、腮腺炎病毒、鼠β疱疹病毒1 (murid betaherpesvirus 1)、鼠巨細胞病毒2、鼠巨細胞病毒群、鼠腦脊髓炎病毒、鼠肝炎病毒、鼠類白血病病毒、鼠節結誘導病毒、鼠多瘤病毒、鼠肉瘤病毒、鼠巨細胞病毒、莫雷山谷腦炎病毒、黏液瘤病毒、黏液病毒、多形黏液病毒、腮腺炎黏液病毒(Myxovirus parotitidis)、奈洛比綿羊疾病病毒(Nairobi sheep disease virus)、內羅畢病毒(Nairovirus)、內羅必病毒(Nanirnavirus)、納里瓦病毒(Nariva virus)、恩度摩病毒(Ndumo virus)、利瑟林病毒(Neethling virus)、納爾遜月桂病毒(Nelson Bay virus)、親神經病毒、新世界沙粒狀病毒、新生兒肺炎病毒、新城雞瘟病毒、尼帕病毒、非致細胞病變病毒、諾沃克病毒(Norwalk virus)、細胞核多角體病毒(NPV)、乳頭頸病毒、奧-奈氏病毒(O'nyong'nyong virus)、奧克爾布病毒(Ockelbo virus)、致癌病毒、致癌類病毒粒子、RNA腫瘤病毒、環狀病毒、Orf病毒、奧羅普切病毒(Oropouche virus)、正肝炎DNA病毒、正黏病毒、正痘病毒、正里奧病毒屬、奧輪穀(Orungo)、綿羊乳突狀瘤病毒、綿羊卡他性發熱病毒、鳥猴疱疹病毒、巴尼亞姆病毒(Palyam virus)、乳突狀瘤病毒、棉尾兔乳突狀瘤病毒、乳多泡病毒、副流感病毒、第1型副流感病毒、第2型副流感病毒、第3型副流感病毒、第4型副流感病毒、副黏病毒、副痘病毒、副牛痘病毒、細小病毒、細小病毒B19、細小病毒群、瘟病毒、白蛉熱病毒屬、海豹犬瘟熱病毒、小脫氧糖核酸病毒、小RNA病毒、豬巨細胞病毒-鴿痘病毒、帛黎病毒(Piry virus)、皮春納病毒(Pixuna virus)、小鼠之肺炎病

毒、肺病毒、脊髓灰白質炎病毒(poliomyelitis)、脊髓灰白質炎病毒(poliovirus)、多分DNA病毒(Polydnavirus)、多面形病毒、多瘤病毒(polyoma virus)、多瘤病毒(Polyomavirus)、牛多瘤病毒、獼猴多瘤病毒、人類多瘤病毒2、鼠多瘤病毒1 (Polyomavirus maccacae1)、鼠多瘤病毒1 (Polyomavirus muris 1)、鼠多瘤病毒2、狒狒多瘤病毒1 (Polyomavirus papionis 1)、狒狒多瘤病毒2、棉尾兔多瘤病毒、猿疱疹病毒1、豬流行性下痢病毒(porcine epidemic diarrhea virus)、豬血球凝集腦脊髓炎病毒、豬細小病毒、豬傳染性胃腸炎病毒、豬C型病毒、痘病毒、痘病毒、天花痘病毒、可能性希爾病毒(Prospect Hill virus)、原病毒、偽牛痘病毒、假性狂犬病病毒、鸚鵡痘病毒、鵪鶉痘病毒、兔纖維瘤病毒、兔腎臟空泡病毒、兔乳突狀瘤病毒、狂犬病病毒、浣熊細小病毒、浣熊痘病毒、蘭尼克特病毒(Ranikhet virus)、大鼠巨細胞病毒、大鼠細小病毒、大鼠病毒、勞舍爾氏病毒(Rauscher's virus)、重組痘瘡病毒、重組病毒、里奧病毒、里奧病毒1、里奧病毒2、里奧病毒3、爬行動物C型病毒、呼吸道感染病毒、呼吸道合胞病毒、呼吸病毒、網狀內皮細胞增生病病毒、棒狀病毒、卡碧雅棒狀病毒(Rhabdovirus carpia)、猴病毒(Rhadinovirus)、鼻病毒、菌病毒(Rhizidiovirus)、東非瑞夫特河谷羊熱病病毒、賴利氏病毒(Riley's virus)、牛瘟病毒、RNA腫瘤病毒、羅斯河病毒、輪狀病毒屬、麻疹病毒、勞斯肉瘤病毒、風疹病毒、風疹病毒、風疹病毒屬、俄羅斯秋季腦炎病毒、SA11猿猴病毒、SA2病毒、薩比亞病毒(Sabia virus)、鷺山病毒、松鼠猴疱疹病毒1、唾液腺病毒、沙蠅發熱病毒群、聖德吉姆巴病毒(Sandjimba virus)、SARS病毒、SDAV (唾液淚腺炎病毒)、海豹痘病毒、勝利基森林病毒(Semliki Forest Virus)、首爾

病毒、綿羊痘病毒、休普氏纖維瘤病毒、肖普乳頭瘤病毒(Shope papilloma virus)、猿猴泡沫狀病毒、猿猴A型肝炎病毒、猿猴人類免疫缺乏病毒、猿猴免疫缺乏病毒、猿猴副流感病毒、猿猴T細胞淋巴病毒、猿猴病毒、猿猴病毒40、單純疱疹病(Simplexvirus)、辛諾柏病毒(Sin Nombre virus)、辛得比斯病毒(Sindbis virus)、天花病毒、南美出血熱病毒、麻雀痘病毒、泡沫病毒、松鼠纖維瘤病毒、松鼠猴子反轉錄病毒、SSV1病毒群、第I型STLV (猿猴T嗜淋巴細胞病毒)、第II型STLV (猿猴T嗜淋巴細胞病毒)、第III型STLV (猿猴T嗜淋巴細胞病毒)、口腔炎丘疹病毒、頜下病毒、豬α疱疹病毒1、豬疱疹病毒2、豬痘病毒、沼澤發熱病毒、豬痘病毒、瑞士小鼠類白血病病毒、TAC病毒、塔卡里伯複合病毒(Tacaribe complex virus)、塔卡里伯病毒(Tacaribe virus)、特納河痘病毒(Tanapox virus)、沙鼠痘病毒(Taterapox virus)、丁鱥里奧病毒(Tench reovirus)、蒂勒氏腦脊髓炎病毒(Theiler's encephalomyelitis virus)、蒂勒氏病毒、托高土病毒(Thogoto virus)、索托帕拉雅病毒(Thottapalayam virus)、蟲媒腦炎病毒、刁曼病毒(Tioman virus)、披衣病毒、環曲病毒屬、腫瘤病毒、圖帕伊病毒(Tupaia virus)、火雞鼻氣管炎病毒、火雞痘病毒、C型反轉錄病毒、D型腫瘤病毒、D型反轉錄病毒群、潰瘍性疾病棒狀病毒、烏納病毒(Uukuniemi virus group)、尤尤庫尼米病毒群(Uukuniemi virus group)、痘瘡病毒、空泡病毒、水痘帶狀皰狀病毒、水痘病毒、天花病毒(Varicola virus)、重型天花病毒、天花病毒(variola virus)、瓦辛伊修疾病病毒(Vasin Gishu disease virus)、VEE病毒、委內瑞拉馬腦炎病毒、委內瑞拉馬腦脊髓炎病毒、委內瑞拉出血熱病毒、水泡性口炎病毒、水泡性病毒(Vesiculovirus)、維琉斯克病毒(Vilyuisk

virus)、毒蛇反轉錄病毒、病毒性出血性敗血症病毒、維斯納-梅迪病毒(Visna Maedi virus)、維斯納病毒、田鼠痘病毒、水泡性口炎病毒(VSV)、沃勒爾病毒(Wallal virus)、沃里戈病毒(Warrego virus)、疣病毒、WEE病毒、西尼羅河病毒(West Nile virus)、西部馬腦炎病毒、西部馬腦脊髓炎病毒、瓦塔羅阿病毒(Whataroa virus)、冬季嘔吐病毒、土拔鼠B型肝炎病毒、毛猴肉瘤病毒、傷口腫瘤病毒、WRSV病毒、亞巴猴腫瘤病毒(Yaba monkey tumor virus)、亞巴病毒、亞塔痘病毒屬、黃熱病病毒或尤格波格丹諾夫奇病毒(Yug Bogdanovac virus)。

【0404】 在一些實施例中，病原性感染由反轉錄病毒引起。例示性反轉錄病毒包括但不限於人類免疫缺陷病毒(HIV)、人類T細胞白血病病毒(HTLV)、莫洛尼鼠類白血病病毒(MuLV)、鼠類乳房腫瘤病毒(MMTV)、禽類白血病及肉瘤病毒或梅森-輝瑞猴病毒。

【0405】 在一些實施例中，向患有反轉錄病毒感染或處於潛伏期期間之個體投與本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)以減少及/或消除處於休眠期之感染細胞。在一些情況下，反轉錄病毒包含人類免疫缺陷病毒(HIV)、人類T細胞白血病病毒(HTLV)、莫洛尼鼠類白血病病毒(MuLV)、鼠類乳房腫瘤病毒(MMTV)、禽類白血病及肉瘤病毒或梅森-輝瑞猴病毒。在一些情況下，細胞介素結合物重導向CD8+ T細胞以識別及消除處於休眠期之感染細胞。

【0406】 在一些情況下，細胞介素結合物係IL-2結合物。在一些情況下，向患有反轉錄病毒感染或處於潛伏期期間之個體投與IL-2結合物以減少及/或消除處於休眠期之感染細胞。在一些情況下，反轉錄病毒包含人類免疫缺陷病毒(HIV)、人類T細胞白血病病毒(HTLV)、莫洛尼鼠類白

血病病毒(MuLV)、鼠類乳房腫瘤病毒(MMTV)、禽類白血病及肉瘤病毒或梅森-輝瑞猴病毒。在一些情況下，IL-2結合物重導向CD8+ T細胞以識別及消除處於休眠期之感染細胞。在額外情況下，與抗反轉錄病毒療法組合向個體投與IL-2結合物。

在一些實施例中，反轉錄病毒係HIV。在一些情況下，向患有後天性免疫不全症候群(AIDS)或處於潛伏期期間之個體投與本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)以減少及/或消除處於休眠期之HIV感染細胞(例如CD4+ T細胞)。在一些情況下，細胞介素結合物係IL-2結合物。在一些情況下，與抗反轉錄病毒療法組合向個體投與IL-2結合物。例示性HIV抗反轉錄病毒療法包括：(a)核苷逆轉錄酶抑制劑(NRTI)，諸如阿巴卡韋(abacavir)、安卓西他賓(emtricitabine)、拉米夫定(lamivudine)、反丁烯二酸田諾弗地索普西(tenofovir disoproxil fumarate)及齊多夫定(zidovudine)；(b)非核苷逆轉錄酶抑制劑(NNRTI)，諸如依法韋侖(efavirenz)、依曲韋林(etravirine)、奈韋拉平(nevirapine)或利匹韋林(rilpivirine)；(c)蛋白酶抑制劑(PI)，諸如阿紮那韋(atazanavir)、地瑞那韋(darunavir)、夫沙那韋(fosamprenavir)、利托那韋(ritonavir)、沙奎那韋(saquinavir)及替拉那韋(tipranavir)；(d)融合抑制劑，諸如恩夫韋地(enfuvirtide)；(e) CCR5拮抗劑，諸如馬拉維若(maraviroc)；(f)整合酶抑制劑，諸如都魯拉韋(dolutegravir)及雷特格韋(raltegravir)；(g)附著後抑制劑，諸如伊利祖單抗(ibalizumab)；(h)藥物動力學增強劑，諸如考比西他(cobicistat)；及(i)混合物，諸如阿巴卡韋及拉米夫定；阿巴卡韋、都魯拉韋及拉米夫定；阿巴卡韋、拉米夫定及齊多夫定；阿紮那韋及考比西他；比替拉韋(bictegravir)、安卓西他賓及田諾弗艾拉酚胺(tenofovir

alafenamide)；地瑞那韋及考比西他；都魯拉韋及利匹韋林；依法韋侖、安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗地索普西；依法韋侖、拉米夫定及反丁烯二酸田諾弗地索普西；依法韋侖、拉米夫定及反丁烯二酸田諾弗地索普西；埃替格韋(elvitegravir)、考比西他、安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗艾拉酚胺；埃替格韋、考比西他、安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗地索普西；安卓西他賓、利匹韋林及田諾弗艾拉酚胺；安卓西他賓、利匹韋林及反丁烯二酸田諾弗地索普西；安卓西他賓及田諾弗艾拉酚胺；安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗地索普西；拉米夫定及反丁烯二酸田諾弗地索普西；拉米夫定及齊多夫定；及咯匹那韋(lopinavir)及利托那韋。

【0407】在一些情況下，與抗反轉錄病毒療法組合向個體投與IL-2結合物，該抗反轉錄病毒療法諸如核苷逆轉錄酶抑制劑(NRTI)，諸如阿巴卡韋、安卓西他賓、拉米夫定、反丁烯二酸田諾弗地索普西及齊多夫定；非核苷逆轉錄酶抑制劑(NNRTI)，諸如依法韋侖、依曲韋林、奈韋拉平或利匹韋林；蛋白酶抑制劑(PI)，諸如阿紮那韋、地瑞那韋、夫沙那韋、利托那韋、沙奎那韋及替拉那韋；融合抑制劑，諸如恩夫韋地；CCR5拮抗劑，諸如馬拉維若；整合酶抑制劑，諸如都魯拉韋及雷特格韋；附著後抑制劑，諸如伊利祖單抗；藥物動力學增強劑，諸如考比西他；或混合物，諸如阿巴卡韋及拉米夫定；阿巴卡韋、都魯拉韋及拉米夫定；阿巴卡韋、拉米夫定及齊多夫定；阿紮那韋及考比西他；比替拉韋、安卓西他賓及田諾弗艾拉酚胺；地瑞那韋及考比西他；都魯拉韋及利匹韋林；依法韋侖、安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗地索普西；依法韋侖、拉米夫定及反丁烯二酸田諾弗地索普西；依法韋侖、拉米夫定及反丁烯二酸田諾弗地索普西；埃替格韋、考比西他、安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗

艾拉酚胺；埃替格韋、考比西他、安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗地索普西；安卓西他賓、利匹韋林及田諾弗艾拉酚胺；安卓西他賓、利匹韋林及反丁烯二酸田諾弗地索普西；安卓西他賓及田諾弗艾拉酚胺；安卓西他賓及反丁烯二酸田諾弗地索普西；拉米夫定及反丁烯二酸田諾弗地索普西；拉米夫定及齊多夫定；及咯匹那韋及利托那韋。

【0408】 在一些實施例中，病毒係肝炎病毒，例如A型、B型、C型、D型或E型肝炎。在一些情況下，向患有肝炎感染或處於潛伏期期間之個體投與本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)以減少及/或消除處於休眠期之感染細胞。在一些情況下，細胞介素結合物重導向CD8+ T細胞以識別及消除處於休眠期之感染細胞。

【0409】 在一些情況下，細胞介素結合物係IL-2結合物。在一些情況下，向患有肝炎感染或處於潛伏期期間之個體投與IL-2結合物以減少及/或消除處於休眠期之感染細胞。在一些情況下，IL-2結合物重導向CD8+ T細胞以識別及消除處於休眠期之感染細胞。在一些情況下，與抗病毒療法組合向個體投與IL-2結合物。用於肝炎之例示性抗病毒療法包括利巴韋林(ribavirin)；NS3/4A蛋白酶抑制劑，諸如帕咜匹韋(paritaprevir)、西咪匹韋(simeprevir)及革佐匹韋(grazoprevir)；NS5A蛋白酶抑制劑，諸如利帕斯韋(ledipasvir)、奧比他韋(ombitasvir)、艾巴司韋(elbasvir)及達拉他韋(daclatasvir)；NS5B核苷酸/核苷及非核苷聚合酶抑制劑，諸如索非布韋(sofosbuvir)及達薩布韋(dasabuvir)；及組合，諸如利帕斯韋-索非布韋、達薩布韋-奧比他韋-帕咜匹韋-利托那韋；艾巴司韋-革佐匹韋、奧比他韋-帕咜匹韋-利托那韋、索非布韋-維帕他韋(velpatasvir)、索非布韋-維帕他韋-沃西拉韋(voxilaprevir)及格卡匹韋(glecaprevir)-匹布他韋

(pibrentasvir)；及干擾素，諸如peg干擾素α-2a、peg干擾素α-2b及干擾素α-2b。在一些情況下，與以下組合向個體投與e IL-2結合物：抗病毒療法，諸如利巴韋林；NS3/4A蛋白酶抑制劑，諸如帕吒匹韋、西咪匹韋及革佐匹韋；NS5A蛋白酶抑制劑，諸如利帕斯韋、奧比他韋、艾巴司韋及達拉他韋；NS5B核苷酸/核苷及非核苷聚合酶抑制劑，諸如索非布韋及達薩布韋；及組合，諸如利帕斯韋-索非布韋、達薩布韋-奧比他韋-帕吒匹韋-利托那韋；艾巴司韋-革佐匹韋、奧比他韋-帕吒匹韋-利托那韋、索非布韋-維帕他韋、索非布韋-維帕他韋-沃西拉韋、及格卡匹韋-匹布他韋；及干擾素，諸如peg干擾素α-2a、peg干擾素α-2b及干擾素α-2b。

自體免疫疾病或病症

【0410】在一些實施例中，本文亦描述一種治療有需要之個體之自體免疫疾病或病症之方法，其包含向個體投與治療有效量之本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。在一些情況下，IL-2結合物包含經分離及純化之IL-2多肽及結合部分，其中相對於野生型IL-2多肽，IL-2結合物具有降低之與IL-2受體β (IL-2Rβ)次單元、IL-2受體γ (IL-2Rγ)次單元或其組合之親和力。在一些情況下，IL-2結合物包含經分離及純化之IL-2多肽；及在選自以下之胺基酸殘基處結合至經分離及純化之IL-2多肽的結合部分：P2、T3、S4、S5、S6、T7、K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、G27、N29、N30、Y31、K32、K35、T37、M46、K47、K48、A50、T51、E52、K53、H55、Q57、E60、E67、N71、Q74、S75、K76、N77、F78、H79、R81、P82、R83、D84、S87、N88、N89、V91、I92、L94、E95、K97、G98、S99、E100、T101、T102、F103、M104、C105、E106、Y107、

A108、D109、E110、T111、A112、T113、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些情況下，胺基酸殘基選自K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、R81、D84、S87、N88、V91、I92、L94、E95、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133。在一些情況下，胺基酸殘基選自K8、K9、L12、E15、H16、L19、D20、Q22、M23、N26、D84、N88、E95及Q126。在一些情況下，IL-2結合物與IL-2Rαβγ複合物相互作用，但其中對IL-2Rβ及IL-2Rγ次單位之親和力降低，或將降低IL-2R γ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集。在一些情況下，相對於野生型IL-2多肽，經修飾之IL-2多肽維持對IL-2Rα之結合親和力。在此類情況下，IL-2/IL-2Rαβγ複合物刺激或增強CD4+ Treg細胞之擴增。在額外情況下，經修飾之IL-2多肽經由IL-2Rβγ複合物增加Teff及/或NK細胞之活化所需之劑量，由此經由IL-2Rαβγ複合物擴大用於Treg細胞之活化之劑量範圍(或經由IL-2Rαβγ複合物擴大用於TReg細胞之活化之IL-2之治療窗)。

【0411】在一些情況下，自體免疫疾病或病症包含斑禿、自體免疫溶血性貧血、自體免疫肝炎、皮肌炎、1型糖尿病、幼年特發性關節炎、絲球體腎炎、格雷夫氏病(Graves'disease)、格-巴二氏症候群(Guillain-Barré syndrome)、特發性血小板減少性紫斑病、重症肌無力、多發性硬化、天疱瘡／類天疱瘡、惡性貧血、結節性多動脈炎、多發性肌炎、原發性膽汁性肝硬化、牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病、休格倫氏症候群(Sjögren's syndrome)、全身性紅斑性狼瘡症、甲狀腺炎、葡萄膜炎、白

斑病或韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)。

【0412】 在一些情況下，向患有以下之個體投與細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)結合物：斑禿、自體免疫溶血性貧血、自體免疫肝炎、皮肌炎、1型糖尿病、幼年特發性關節炎、絲球體腎炎、格雷夫氏病、格-巴二氏症候群、特發性血小板減少性紫斑病、重症肌無力、多發性硬化、天疱瘡／類天疱瘡、惡性貧血、結節性多動脈炎、多發性肌炎、原發性膽汁性肝硬化、牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病、休格倫氏症候群、全身性紅斑性狼瘡症、甲狀腺炎、葡萄膜炎、白斑病或韋格納氏肉芽腫病。

【0413】 在一些情況下，向患有以下之個體投與IL-2結合物：斑禿、自體免疫溶血性貧血、自體免疫肝炎、皮肌炎、1型糖尿病、幼年特發性關節炎、絲球體腎炎、格雷夫氏病、格-巴二氏症候群、特發性血小板減少性紫斑病、重症肌無力、多發性硬化、天疱瘡／類天疱瘡、惡性貧血、結節性多動脈炎、多發性肌炎、原發性膽汁性肝硬化、牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病、休格倫氏症候群、全身性紅斑性狼瘡症、甲狀腺炎、葡萄膜炎、白斑病或韋格納氏肉芽腫病。在一些情況下，向患有1型糖尿病之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有格雷夫氏病之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有多發性硬化之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有牛皮癬之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有類風濕性關節炎之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有休格倫氏症候群之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有全身性紅斑性狼瘡症之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有葡萄膜炎之個體投與IL-2結合物。在一些情況下，向患有韋格納氏肉芽腫病之個體投與IL-2結合物。

【0414】 在一些情況下，向個體投與細胞介素結合物(例如IL-2結合物)以用於治療移植物抗宿主病(GVHD)。

【0415】 在一些實施例中，向個體進一步投與額外治療劑。在一些情況下，額外治療劑與細胞介素結合物(例如，IL-2結合物)同時投與。在其他情況下，依序投與額外治療劑及細胞介素結合物(例如IL-2結合物)，例如在額外治療劑之前投與細胞介素結合物(例如IL-2結合物)或在投與額外治療劑之後投與細胞介素結合物(例如IL-2結合物)。

【0416】 用於治療自體免疫疾病或病症之例示性額外治療劑包括但不限於皮質類固醇，諸如潑尼松(prednisone)、布地奈德(budesonide)或潑尼松龍(prednisolone)；鈣調神經磷酸酶抑制劑、諸如環孢靈(cyclosporine)或他克莫司(tacrolimus)；mTOR抑制劑，諸如西羅莫司(sirolimus)或依維莫司(everolimus)；IMDH抑制劑，諸如硫唑嘌呤(azathioprine)、來氟米特(leflunomide)或黴酚酸酯(mycophenolate)；生物製劑，諸如阿巴西普(abatacept)、阿達木單抗(adalimumab)、阿那白滯素(anakinra)、賽妥珠單抗(certolizumab)、依那西普(etanercept)、戈利木單抗(golimumab)、英利昔單抗(infliximab)、伊科奇單抗(ixekizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、利妥昔單抗(rituximab)、塞庫金單抗(secukinumab)、托西利單抗(tocilizumab)、優特克單抗(ustekinumab)或維多珠單抗(vedolizumab)；及單株抗體，諸如巴利昔單抗(basiliximab)、達利珠單抗(daclizumab)或莫羅莫那(muromonab)。

【0417】 在一些情況下，細胞介素結合物(例如IL-2結合物)與選自以下之額外治療劑一起投與：皮質類固醇，諸如潑尼松、布地奈德或潑尼松龍；鈣調神經磷酸酶抑制劑、諸如環孢靈或他克莫司；mTOR抑制劑，

諸如西羅莫司或依維莫司；IMDH抑制劑，諸如硫唑嘌呤、來氟米特或黴酚酸酯；生物製劑，諸如阿巴西普、阿達木單抗、阿那白滯素、賽妥珠單抗、依那西普、戈利木單抗、英利昔單抗、伊科奇單抗、那他珠單抗、利妥昔單抗、塞庫金單抗、托西利單抗、優特克單抗或維多珠單抗；及單株抗體，諸如巴利昔單抗、達利珠單抗或莫羅莫那。

授受細胞療法之產生

【0418】 在一些實施例中，本文揭示產生適用於治療有需要之個體之本文所述之疾病或病狀(例如增生性疾病或病狀、病原性感染及/或自體免疫疾病或病狀)的授受細胞療法組合物的方法，其包含：a)提供自有需要之個體獲得的免疫細胞；b)工程改造免疫細胞以表現經修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白或免疫細胞之活化因子，其中免疫細胞包含CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、CD8+細胞毒性T細胞、抑制T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞。在一些實施例中，免疫細胞經工程改造以額外表現嵌合抗原受體(CAR)。在一些實施例中，工程改造步驟(b)包含使獲自個體之免疫細胞與編碼經修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白或免疫細胞之活化因子的載體(例如聚核苷酸序列)接觸。在一些情況下，載體包含本文中所揭示之製品。在一些情況下，產生授受細胞療法之方法係使用本文所揭示之套組進行。在一些實施例中，藉由投與治療有效量之授受細胞療法用授受細胞療法治療個體。在一些情況下，個體經診斷患有疾病或病狀。在一些情況下，授受細胞療法可有效治療個體之疾病或病狀。在一些實施例中，疾病或病狀包含增生性疾病(例如癌症)。在一些實施例中，疾病或病狀包含病原性感染。在一些情況下，疾病或病狀包含自體免疫疾病。其為癌症，諸如本文

所述之癌症。

【0419】 在一些實施例中，本文揭示產生適用於治療有需要之個體之本文所述之疾病或病狀(例如增生性疾病或病狀、病原性感染及/或自體免疫疾病或病狀)的授受細胞療法組合物的方法，其包含：a)提供自有需要之個體獲得的免疫細胞；b)使免疫細胞與經修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白或免疫細胞之活化因子接觸，其中免疫細胞包含CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、CD8+細胞毒性T細胞、抑制T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞。在一些實施例中，免疫細胞經工程改造以額外表現嵌合抗原受體(CAR)。在一些情況下，經修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白或免疫細胞之活化因子包含本文所揭示之製品。在一些情況下，產生授受細胞療法之方法係使用本文所揭示之套組進行。在一些實施例中，藉由投與治療有效量之授受細胞療法用授受細胞療法治療個體。在一些情況下，個體經診斷患有疾病或病狀。在一些情況下，授受細胞療法可有效治療個體之疾病或病狀。在一些實施例中，疾病或病狀包含增生性疾病(例如癌症)。在一些實施例中，疾病或病狀包含病原性感染。在一些情況下，疾病或病狀包含自體免疫疾病。其為癌症，諸如本文所述之癌症。

【0420】 在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽或IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之位置42之殘基F42處的突變，且包含結合部分，其包含分子量為約2,000-50,000 Da的PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000

Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。

【0421】 在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽或IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之位置65之殘基P65處的突變，且包含結合部分，其包含分子量為約2,000-50,000 Da的PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。

【0422】 在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽或IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之位置62之殘基E62處的突變，且包含結合部分，其包含分子量為約2,000-50,000 Da的PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。

【0423】 在一些情況下，PEG之分子量可有效改良作為授受細胞療法之試劑的IL-2多肽或IL-2結合物之製造過程。在一些實施例中，PEG之

分子量改良IL-2多肽或IL-2結合物之可溶性。在一些情況下，PEG之分子量改良製造授受細胞療法之純化製程。在一些情況下，PEG之分子量改良IL-2多肽或IL-2結合物之穩定性。

【0424】 在一些實施例中，本文揭示治療有需要之個體之自體免疫疾病或病症之方法，其包含向個體投與本文所述之授受細胞療法。在一些情況下，授受細胞療法使用本文所描述之方法產生。在一些情況下，除了本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)之外，向個體投與授受細胞療法。在一些情況下，在授受細胞療法之前投與細胞介素結合物。在一些情況下，細胞介素結合物在授受細胞療法之後投與。在一些情況下，授受細胞療法可有效擴增個體之免疫細胞群體(例如CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞群體、Treg細胞群體)。

【0425】 在一些實施例中，本文揭示治療有需要之個體之病原性感染的方法，其包含向個體投與治療有效量之本文所述之授受細胞療法。在一些情況下，授受細胞療法使用本文所描述之方法產生。在一些情況下，除了本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)之外，向個體投與授受細胞療法。在一些情況下，在授受細胞療法之前投與細胞介素結合物。在一些情況下，細胞介素結合物在授受細胞療法之後投與。在一些情況下，授受細胞療法可有效擴增個體之免疫細胞群體(例如CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞群體、Treg細胞群體)。

【0426】 在一些實施例中，本文揭示治療有需要之個體之增生性疾病或病症(例如癌症)的方法，其包含向個體投與本文所述之授受細胞療法。在一些情況下，授受細胞療法使用本文所描述之方法產生。在一些情

況下，除了本文所述之細胞介素結合物(例如IL-2結合物)之外，向個體投與授受細胞療法。在一些情況下，在授受細胞療法之前投與細胞介素結合物。在一些情況下，細胞介素結合物在授受細胞療法之後投與。在一些情況下，授受細胞療法可有效擴增個體之免疫細胞群體(例如CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞群體、Treg細胞群體)。

細胞群體擴增之方法

【0427】在一些實施例中，本文額外描述擴增例如CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞群體之淋巴細胞群體之方法，或擴增Treg細胞群體之方法。在一些情況下，方法包含使細胞與本文所述之細胞介素結合物接觸及使細胞介素與細胞介素受體相互作用以形成複合物，其中複合物刺激獨特淋巴細胞群體之擴增。

【0428】在一些情況下，擴增CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體之方法包含使細胞群體與上文所述之經分離及修飾之IL-2多肽接觸，持續足以誘導與IL-2Rβ形成複合物之時間，由此刺激Teff及/或NK細胞群體之擴增。在一些情況下，擴增CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞群體之方法包含(a)使細胞群體與本文所述之IL-2結合物接觸；及(b)使IL-2與IL-2Rβ及IL-2Rγ次單元相互作用以形成IL-2/IL-2Rβγ複合物；其中IL-2結合物具有降低之與IL-2Rα次單元之親和力，且其中IL-2/IL-2Rβγ複合物刺激CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、NK細胞及/或NKT細胞之擴增。如上文所述，IL-2結合物包含經分離及純化之IL-2多肽；及在選自以下之胺基酸位置結合至經分離及純化之IL-2多肽的

結合部分：K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E60、E61、E62、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105及Y107，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些情況下，胺基酸位置選自K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、R38、T41、F42、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、R38、T41、F42、F44、Y45、E61、E62、E68、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自T37、T41、F42、F44、Y45、P65、V69、L72及Y107。在一些情況下，胺基酸位置選自R38及K64。在一些情況下，胺基酸位置選自E61、E62及E68。在一些情況下，胺基酸位置在E62。

【0429】 在一些情況下，IL-2結合物使細胞群體中之CD4+ T調節(Treg)細胞擴增小於20%、15%、10%、5%或1%。在一些情況下，IL-2結合物不使細胞群體中之CD4+ Treg細胞擴增。在一些情況下，在與經分離及修飾之IL-2多肽一起培育之後，細胞群體中Teff細胞與Treg細胞之比率係至少2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、20:1、50:1或100:1。在一些情況下，在與經分離及修飾之IL-2多肽一起培育之後，細胞群體中Teff細胞與Treg細胞之比率係約2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、20:1、50:1或100:1。

【0430】 在一些情況下，足以誘導與IL-2Rβ形成複合物之時間係至少5分鐘、10分鐘、15分鐘、20分鐘、30分鐘、1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、8小時、10小時、12小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天或7天。在一些情況下，足以誘導與IL-2Rβ形成複合物之時

間係約5分鐘、10分鐘、15分鐘、20分鐘、30分鐘、1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、8小時、10小時、12小時、18小時、24小時、2天、3天、4天、5天、6天或7天。

【0431】 在一些情況下，方法係活體內方法。

【0432】 在一些情況下，方法係活體外方法。

【0433】 在一些情況下，方法係離體方法。

細胞介素多肽之產生

【0434】 在一些情況下，含有天然胺基酸突變或非天然胺基酸突變之本文所述之細胞介素(例如介白素、IFN或TNF)多肽以重組方式產生或以化學方式合成。在一些情況下，本文所述之細胞介素(例如IL-2)多肽例如藉由宿主細胞系統或在無細胞系統中以重組方式產生。

【0435】 在一些情況下，細胞介素(例如IL-2)多肽經由宿主細胞系統以重組方式產生。在一些情況下，宿主細胞係真核細胞(例如哺乳動物細胞、昆蟲細胞、酵母細胞或植物細胞)或原核細胞(例如革蘭氏陽性細菌(gram-positive bacterium)或革蘭氏陰性細菌)。在一些情況下，真核宿主細胞為哺乳動物宿主細胞。在一些情況下，哺乳動物宿主細胞係穩定細胞株，或已將相關基因材料併入至其自身基因組中且在許多代細胞分裂之後具有表現基因材料產物之能力的細胞株。在其他情況下，哺乳動物宿主細胞係短暫細胞株，或尚未將相關基因材料併入至其自身基因組中且在許多代細胞分裂之後不具有表現基因材料產物之能力的細胞株。

【0436】 例示性哺乳動物宿主細胞包括293T細胞株、293A細胞株、293FT細胞株、293F細胞、293 H細胞、A549細胞、MDCK細胞、CHO DG44細胞、CHO-S細胞、CHO-K1細胞、Expi293F™細胞、Flp-

In™ T-REx™ 293細胞株、Flp-In™-293細胞株、Flp-In™-3T3細胞株、Flp-In™-BHK細胞株、Flp-In™-CHO細胞株、Flp-In™-CV-1細胞株、Flp-In™-Jurkat細胞株、FreeStyle™ 293-F細胞、FreeStyle™ CHO-S細胞、GripTite™ 293 MSR細胞株、GS-CHO細胞株、HepaRG™細胞、T-REx™ Jurkat細胞株、Per.C6細胞、T-REx™-293細胞株、T-REx™-CHO細胞株及T-REx™-HeLa細胞株。

【0437】 在一些實施例中，真核宿主細胞係昆蟲宿主細胞。例示性昆蟲宿主細胞包括果蠅(*Drosophila*) S2細胞、Sf9細胞、Sf21細胞、High Five™細胞及expresSF+®細胞。

【0438】 在一些實施例中，真核宿主細胞為酵母宿主細胞。例示性酵母宿主細胞包括甲醇酵母(*Pichia pastoris* yeast)菌株，諸如GS115、KM71H、SMD1168、SMD1168H及X-33，及釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae* yeast)菌株，諸如INVSc1。

【0439】 在一些實施例中，真核宿主細胞係植物宿主細胞。在一些情況下，植物細胞包含來自海藻之細胞。例示性植物細胞株包括來自萊茵衣藻(Chlamydomonas reinhardtii) 137c或細長聚球藻(Synechococcus elongatus) PPC 7942之菌株。

【0440】 在一些實施例中，宿主細胞為原核宿主細胞。例示性原核宿主細胞包括BL21、Mach1™、DH10B™、TOP10、DH5α、DH10Bac™、OmniMax™、MegaX™、DH12S™、INV110、TOP10F'、INVαF、TOP10/P3、ccdB Survival、PIR1、PIR2、Stbl2™、Stbl3™或Stbl4™。

【0441】 在一些情況下，適用於產生本文所述之IL-2多肽之聚核酸

分子或載體包括來源自真核或原核來源之任何適合的載體。例示性聚核酸分子或載體包括來自細菌(例如大腸桿菌(*E. coli*))、昆蟲、酵母(例如甲醇酵母)、海藻或哺乳動物來源之載體。細菌性載體包括例如pACYC177、pASK75、pBAD載體系列、pBADM載體系列、pET載體系列、pETM載體系列、pGEX載體系列、pHAT、pHAT2、pMal-c2、pMal-p2、pQE載體系列、pRSET A、pRSET B、pRSET C、pTrcHis2系列、pZA31-Luc、pZE21-MCS-1、pFLAG ATS、pFLAG CTS、pFLAG MAC、pFLAG Shift-12c、pTAC-MAT-1、pFLAG CTC或pTAC-MAT-2。

【0442】昆蟲載體包括例如pFastBac1、pFastBac DUAL、pFastBac ET、pFastBac HTa、pFastBac HTb、pFastBac HTc、pFastBac M30a、pFastBact M30b、pFastBac、M30c、pVL1392、pVL1393、pVL1393 M10、pVL1393 M11、pVL1393 M12、FLAG載體(諸如pPolh-FLAG1或pPolh-MAT 2)或MAT載體(諸如pPolh-MAT1或pPolh-MAT2)。

【0443】酵母載體包括例如Gateway® pDEST™ 14載體、Gateway® pDEST™ 15載體、Gateway® pDEST™ 17載體、Gateway® pDEST™ 24載體、Gateway® pYES-DEST52載體、pBAD-DEST49 Gateway®目的載體、pAO815畢赤酵母(*Pichia*)載體、pFLD1甲醇酵母載體、pGAPZA、B及C甲醇酵母載體、pPIC3.5K畢赤酵母載體、pPIC6 A、B及C畢赤酵母載體、pPIC9K畢赤酵母載體、pTEF1/Zeo、pYES2酵母載體、pYES2/CT酵母載體、pYES2/NT A、B及C酵母載體或pYES3/CT酵母載體。

【0444】海藻載體包括例如pChlamy-4載體或MCS載體。

【0445】哺乳動物載體包括例如短暫表現載體或穩定表現載體。例示性哺乳動物短暫表現載體包括p3xFLAG-CMV 8、pFLAG-Myc-CMV

19、pFLAG-Myc-CMV 23、pFLAG-CMV 2、pFLAG-CMV 6a,b,c、pFLAG-CMV 5.1、pFLAG-CMV 5a,b,c、p3xFLAG-CMV 7.1、pFLAG-CMV 20、p3xFLAG-Myc-CMV 24、pCMV-FLAG-MAT1、pCMV-FLAG-MAT2、pBICEP-CMV 3或pBICEP-CMV 4。例示性哺乳動物穩定表現載體包括pFLAG-CMV 3、p3xFLAG-CMV 9、p3xFLAG-CMV 13、pFLAG-Myc-CMV 21、p3xFLAG-Myc-CMV 25、pFLAG-CMV 4、p3xFLAG-CMV 10、p3xFLAG-CMV 14、pFLAG-Myc-CMV 22、p3xFLAG-Myc-CMV 26、pBICEP-CMV 1或pBICEP-CMV 2。

【0446】在一些情況下，無細胞系統用於產生本文所述之細胞介素(例如IL-2)多肽。在一些情況下，無細胞系統包含來自細胞之細胞質及/或細胞核組分之混合物，且適用於活體外核酸合成。在一些情況下，無細胞系統利用原核細胞組分。在其他情況下，無細胞系統利用真核細胞組分。在無細胞系統中基於例如果蠅細胞、爪蟾卵(Xenopus egg)、古菌(Archaea)或HeLa細胞達成核酸合成。例示性無細胞系統包括大腸桿菌S30提取物系統、大腸桿菌T7 S30系統或PURExpress®、XpressCF及XpressCF+。

【0447】無細胞轉譯系統不同地包含組分，諸如質體、mRNA、DNA、tRNA、合成酶、釋放因子、核糖體、伴隨蛋白、轉譯起始及延伸因子、天然及/或非天然胺基酸，及/或用於蛋白質表現之其他組分。此類組分視情況經修飾以改良產率，增加合成速率，增加蛋白質產物保真度或併入非天然胺基酸。在一些實施例中，本文中所描述之細胞介素使用US 8,778,631；US 2017/0283469；US 2018/0051065；US 2014/0315245；或US 8,778,631中所描述之無細胞轉譯系統合成。在一些實施例中，無細

胞轉譯系統包含經修飾之釋放因子或甚至自系統移除一或多個釋放因子。在一些實施例中，無細胞轉譯系統包含降低之蛋白酶濃度。在一些實施例中，無細胞轉譯系統包含具有用以編碼非天然胺基酸之再指定密碼子的經修飾之tRNA。在一些實施例中，本文所述之用於併入非天然胺基酸之合成酶用於無細胞轉譯系統中。在一些實施例中，tRNA在添加至無細胞轉譯系統之前使用酶促或化學方法預負載有非天然胺基酸。在一些實施例中，用於無細胞轉譯系統之組分獲自經修飾之生物體，諸如經修飾之細菌、酵母或其他生物體。

【0448】 在一些實施例中，經由表現宿主系統或經由無細胞系統產生呈環狀排列形式之細胞介素(例如IL-2)多肽。

包含非天然胺基酸之細胞介素多肽之產生

【0449】 本發明可使用正交或經擴增之基因密碼，其中分配存在於細胞介素(例如IL-2)多肽之核酸序列中之一或多個特定密碼子以編碼非天然胺基酸，以使得其可藉由使用正交tRNA合成酶/tRNA對以基因方式併入至細胞介素(例如IL-2)中。正交tRNA合成酶/tRNA對能夠向tRNA饋入非天然胺基酸且能夠回應於密碼子將非天然胺基酸併入至多肽鏈中。

【0450】 在一些情況下，密碼子係密碼子琥珀、赭石、蛋白石或四聯密碼子。在一些情況下，密碼子對應於將用於攜帶非天然胺基酸之正交tRNA。在一些情況下，密碼子為琥珀。在其他情況下，密碼子為正交密碼子。

【0451】 在一些情況下，密碼子為四聯密碼子，其可由正交核糖體ribo-Q1解碼。在一些情況下，四聯密碼子如Neumann等人，「Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding

ribosome」, *Nature*, **464**(7287): 441-444 (2010)中所說明。

【0452】 在一些情況下，用於本發明中之密碼子係重編碼密碼子，例如經替代密碼子置換之同義密碼子或罕見密碼子。在一些情況下，重編碼密碼子如Napolitano等人，「Emergent rules for codon choice elucidated by editing rare argine codons in Escherichia coli」, *PNAS*, **113**(38): E5588-5597 (2016)中所述。在一些情況下，重編碼密碼子如Ostrov等人，「Design, synthesis, and testing toward a 57-codon genome」, *Science* **353**(6301): 819-822 (2016)中所述。

【0453】 在一些情況下，利用非天然核酸使得將一或多個非天然胺基酸併入至細胞介素(例如IL-2)中。例示性非天然核酸包括但不限於尿嘧啶-5-基、次黃嘌呤-9-基(I)、2-胺基腺嘌呤-9-基、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤、次黃嘌呤、2-胺基腺嘌呤、腺嘌呤及鳥嘌呤之6-甲基及其他烷基衍生物、腺嘌呤及鳥嘌呤之2-丙基及其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶及2-硫胞嘧啶、5-鹵基尿嘧啶及胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶及胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶及胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-鹵基、8-胺基、8-巰基、8-硫烷基、8-羥基及其他8-取代腺嘌呤及鳥嘌呤、5-鹵基(尤其為5-溴)、5-三氟甲基及其他5-取代尿嘧啶及胞嘧啶、7-甲基鳥嘌呤及7-甲基腺嘌呤、8-氮鳥嘌呤及8-氮腺嘌呤、7-去氮鳥嘌呤及7-去氮腺嘌呤及3-去氮鳥嘌呤及3-去氮腺嘌呤。某些非天然核酸，諸如5-取代嘧啶、6-氮雜嘧啶及N-2取代嘌呤、N-6取代嘌呤、O-6取代嘌呤、2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、增加雙螺旋形成之穩定性之非天然核酸、通用核酸、疏水性核酸、混雜核酸、尺寸擴展核酸、氟化核酸、5-取代嘧啶、

6-氮雜嘧啶及N-2、N-6及O-6取代嘌呤，包括2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶及5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤、次黃嘌呤、2-胺基腺嘌呤、腺嘌呤及鳥嘌呤之6-甲基、其他烷基衍生物、腺嘌呤及鳥嘌呤之2-丙基及其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶及2-硫胞嘧啶、5-鹵基尿嘧啶、5-鹵基胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH_3)尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、嘧啶核酸之其他炔基衍生物、6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-鹵基、8-胺基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羥基及其他8-取代之腺嘌呤及鳥嘌呤、5-鹵基(尤其為5-溴)、5-三氟甲基、其他5-取代之尿嘧啶及胞嘧啶、7-甲基鳥嘌呤、7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-胺基-腺嘌呤、8-氮鳥嘌呤、8-氮腺嘌呤、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮腺嘌呤、3-去氮鳥嘌呤、3-去氮腺嘌呤、三環嘧啶、啡噁嗪胞嘧啶核苷([5,4-b][1,4]苯并噁嗪-2(3H)-酮)、啡噻嗪胞嘧啶核苷(1H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噻嗪-2(3H)-酮)、G-夾(G-clamp)、啡噁嗪胞嘧啶核苷(例如9-(2-胺基乙氧基)-H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噁嗪-2(3H)-酮)、吡唑胞嘧啶核苷(2H-嘧啶并[4,5-b]吲哚-2-酮)、吡啶并吲哚胞嘧啶核苷(H-吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-酮)、其中嘌呤或嘧啶鹼基經其他雜環置換之非天然核酸、7-去氮-腺嘌呤、7-去氮鳥苷、2-胺基吡啶、2-吡啶酮、氮雜胞嘧啶、5-溴胞嘧啶、溴尿嘧啶、5-氯胞嘧啶、氯化胞嘧啶、環胞嘧啶、胞嘧啶阿拉伯糖苷、5-氟胞嘧啶、氟嘧啶、氟尿嘧啶、5,6-二氫胞嘧啶、5-碘胞嘧啶、羥基脲、碘尿嘧啶、5-硝基胞嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-氟尿嘧啶及5-碘尿嘧啶、2-胺基-腺嘌呤、6-硫基-鳥嘌呤、2-硫基-胸腺嘧啶、4-硫基-胸腺嘧啶、5-丙炔基-尿嘧啶、4-硫基-尿嘧啶、N4-乙基胞嘧啶、7-去氮鳥嘌

吟、7-去氮-8-氮鳥嘌吟、5-羥基胞嘧啶、2'-去氧尿苷、2-胺基-2'-去氧腺苷及描述於以下中之非天然核酸：美國專利第3,687,808號；第4,845,205號；第4,910,300號；第4,948,882號；第5,093,232號；第5,130,302號；第5,134,066號；第5,175,273號；第5,367,066號；第5,432,272號；第5,457,187號；第5,459,255號；第5,484,908號；第5,502,177號；第5,525,711號；第5,552,540號；第5,587,469號；第5,594,121號；第5,596,091號；第5,614,617號；第5,645,985號；第5,681,941號；第5,750,692號；第5,763,588號；第5,830,653號及第6,005,096號；WO 99/62923；Kandimalla等人, (2001) Bioorg. Med. Chem. 9:807-813；The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Kroschwitz, J.I.編, John Wiley & Sons, 1990, 858- 859；Englisch等人, Angewandte Chemie,國際版, 1991, 30, 613；以及Sanghvi,第15章, Antisense Research and Applications, Crookeand Lebleu編, CRC Press, 1993, 273-288。額外鹼基修飾可見於例如美國專利第3,687,808號；Englisch等人, Angewandte Chemie,國際版, 1991, 30, 613；及Sanghvi,第15章, Antisense Research and Applications,第289-302頁, Crooke及Lebleu編, CRC Press, 1993中。

【0454】包含各種雜環鹼基及各種糖部分(及糖類似物)之非天然核酸為此項技術中可獲得的，且在一些情況下，核酸包括除天然存在之核酸之主要五種鹼基組分外之一或若干種雜環鹼基。舉例而言，在一些情況下，雜環鹼基包括尿嘧啶-5-基、胞嘧啶-5-基、腺嘌吟-7-基、腺嘌吟-8-基、鳥嘌吟-7-基、鳥嘌吟-8-基、4-胺基吡咯并[2.3-d]嘧啶-5-基、2-胺基-4-側氧基吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基、2-胺基-4-側氧基吡咯并[2.3-d]嘧啶-3-

基，其中嘌呤經由9位置、嘧啶經由1位置、吡咯并嘧啶經由7位置且吡唑并嘧啶經由1位置連接至核酸之糖部分。

【0455】 在一些實施例中，核苷酸類似物亦在磷酸酯部分經修飾。經修飾之磷酸酯部分包括但不限於具有兩個核苷酸之間的鍵聯處之修飾且含有例如以下之磷酸酯部分：硫代磷酸酯；對掌性硫代磷酸酯；二硫代磷酸酯；磷酸三酯；胺基烷基磷酸三酯；甲基及其他烷基膦酸酯，包括3'-伸烷基膦酸酯及對掌性膦酸酯；亞膦酸酯；胺基磷酸酯，包括3'-胺基胺基磷酸酯及胺基烷基胺基磷酸酯；硫羰基胺基磷酸酯；硫羰基烷基膦酸酯；硫羰基烷基磷酸三酯及硼烷磷酸酯。應理解，在兩個核苷酸之間的此等磷酸酯或經修飾之磷酸酯鍵聯可為經由3'-5'鍵聯或2'-5'鍵聯，且鍵聯含有反轉極性，諸如3'-5'至5'-3'或2'-5'至5'-2'。亦包括各種鹽、混合鹽及游離酸形式。大量美國專利教示如何製造及使用含有經修飾磷酸酯之核苷酸，且包括但不限於：3,687,808；4,469,863；4,476,301；5,023,243；5,177,196；5,188,897；5,264,423；5,276,019；5,278,302；5,286,717；5,321,131；5,399,676；5,405,939；5,453,496；5,455,233；5,466,677；5,476,925；5,519,126；5,536,821；5,541,306；5,550,111；5,563,253；5,571,799；5,587,361；及5,625,050。

【0456】 在一些實施例中，非天然核酸包括2',3'-二去氧基-2',3'-二去氫-核苷(PCT/US2002/006460)、5'-取代DNA及RNA衍生物(PCT/US2011/033961；Saha等人, J. Org Chem., 1995, 60, 788-789；Wang等人, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1999, 9, 885-890；及Mikhailov等人, Nucleosides & Nucleotides, 1991, 10(1-3), 339-343；Leonid等人, 1995, 14(3-5), 901-905；及Eppacher等人, Helvetica

Chimica Acta, 2004, 87, 3004-3020；PCT/JP2000/004720；PCT/JP2003/002342；PCT/JP2004/013216；PCT/JP2005/020435；PCT/JP2006/315479；PCT/JP2006/324484；PCT/JP2009/056718；PCT/JP2010/067560)或製成具有經修飾之鹼基的單磷酸酯之5'-取代單體(Wang等人, Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids, 2004, 23 (1及2), 317-337)。

【0457】 在一些實施例中，非天然核酸包括在糖環之5'位置及2'位置之修飾(PCT/US94/02993)，諸如5'-CH_2-取代之2'-O-保護核苷(Wu等人, Helvetica Chimica Acta, 2000, 83, 1127-1143及Wu等人, Bioconjugate Chem. 1999, 10, 921-924)。在一些情況下，非天然核酸包括醯胺連接之核苷二聚體(已經製備用於併入至寡核苷酸中)，其中在二聚體(5'至3')中之3'連接核苷包含2'-OCH_3及5'-(S)-CH_3 (Mesmaeker等人, Synlett, 1997, 1287-1290)。非天然核酸可包括2'-取代之5'-CH_2(或O)修飾的核苷(PCT/US92/01020)。非天然核酸可包括5'-亞甲基膦酸酯DNA及RNA單體及二聚體(Bohringer等人, Tet. Lett., 1993, 34, 2723-2726；Collingwood等人, Synlett, 1995, 7, 703-705；及Hutter等人, Helvetica Chimica Acta, 2002, 85, 2777-2806)。非天然核酸可包括具有2'-取代之5'-膦酸酯單體(US2006/0074035)及其他經修飾5'-膦酸酯單體(WO1997/35869)。非天然核酸可包括5'-修飾亞甲基膦酸酯單體(EP614907及EP629633)。非天然核酸可包括在5'及/或6'位置處包含羥基之5'或6'-膦酸酯核糖核苷之類似物(Chen等人, Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2002, 777, 1783-1786；Jung等人, Bioorg. Med. Chem., 2000, 8, 2501-2509；Gallier等人, Eur. J. Org. Chem., 2007, 925-933；及Hampton等人, J. Med. Chem., 1976,

19(8), 1029-1033)。非天然核酸可包括具有5'-磷酸酯基之5'-膦酸酯去氧核糖核苷單體及二聚體(Nawrot等人, Oligonucleotides, 2006, 16(1), 68-82)。非天然核酸可包括核苷，其具有6'-膦酸酯基，其中5'或/及6'位置未經取代或經硫基-第三丁基($SC(CH_3)_3$) (及其類似物)取代；亞甲基胺基(CH_2NH_2) (及其類似物)或氰基(CN) (及其類似物) (Fairhurst等人, Synlett, 2001, 4, 467-472；Kappler等人, J. Med. Chem., 1986, 29, 1030-1038；Kappler等人, J. Med. Chem., 1982, 25, 1179-1184；Vrudhula等人, J. Med. Chem., 1987, 30, 888-894；Hampton等人, J. Med. Chem., 1976, 19, 1371-1377；Geze等人, J. Am. Chem. Soc, 1983, 105(26), 7638-7640；及Hampton等人, J. Am. Chem. Soc, 1973, 95(13), 4404-4414)。

【0458】 在一些實施例中，非天然核酸亦包括糖部分之修飾。在一些情況下，核酸含有一或多個核苷，其中糖基已經修飾。此類糖修飾核苷可經賦予增強的核酸酶穩定性、增加的結合親和力或一些其他有益生物特性。在某些實施例中，核酸包含化學修飾核呋喃糖環部分。化學修飾之核呋喃糖環之實例包括但不限於添加取代基(包括5'及/或2'取代基；橋接兩個環原子以形成雙環核酸(BNA)；用S、N(R)或$C(R_1)(R_2)$ (R=H、C_1-C_{12}烷基或保護基)置換核糖基環氧原子；及其組合。化學修飾糖之實例可見於WO2008/101157、US2005/0130923及WO2007/134181中。

【0459】 在一些情況下，經修飾核酸包含經修飾之糖或糖類似物。因此，除核糖及去氧核糖之外，糖部分可為戊醣、去氧戊醣、己醣、去氧己醣、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、來蘇糖或糖「類似物」環戊基。糖可呈哌喃糖基或呋喃糖基形式。糖部分可為核糖、去氧核糖、阿拉伯糖或2'-

O-烷基核糖之呋喃糖苷，且糖可以[α]或[β]變旋異構組態連接至各別雜環鹼基。糖修飾包括但不限於2'-烷氧基-RNA類似物、2'-胺基-RNA類似物、2'-氟-DNA及2'-烷氧基-或胺基-RNA/DNA嵌合體。舉例而言，糖修飾可包括2'-O-甲基-尿苷或2'-O-甲基-胞嘧啶核苷。糖修飾包括2'-O-烷基-取代去氧核糖核苷及2'-O-乙二醇樣核糖核苷。已知此等糖或糖類似物及各別「核苷」(其中此類糖或類似物連接至雜環鹼基(核酸鹼基))之製備。糖修飾亦可製造且與其他修飾組合。

【0460】 糖部分之修飾包括核糖及去氧核糖之天然修飾以及非天然修飾。糖修飾包括但不限於在2'位置處之以下修飾：OH；F；O-、S-或N-烷基；O-、S-或N-烯基；O-、S-或N-炔基；或O-烷基-O-烷基，其中烷基、烯基及炔基可為經取代或未經取代之C_1至C_{10}烷基或C_2至C_{10}烯基及炔基。2'糖修飾亦包括但不限於$-O[(CH_2)_nO]_m\ CH_3$、$-O(CH_2)_nOCH_3$、$-O(CH_2)_nNH_2$、$-O(CH_2)_nCH_3$、$-O(CH_2)_nONH_2$及$-O(CH_2)_nON[(CH_2)nCH_3)]_2$，其中n及m為1至約10。

【0461】 其他在2'位置處之修飾包括但不限於：C_1至C_{10}低碳數烷基、經取代之低碳數烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基、O-芳烷基、SH、SCH_3、OCN、Cl、Br、CN、CF_3、OCF_3、$SOCH_3$、$SO_2\ CH_3$、ONO_2、NO_2、N_3、NH_2、雜環烷基、雜環烷芳基、胺基烷基胺基、聚烷基胺基、經取代之矽烷基、RNA裂解基團、報導子基團、嵌入劑、用於改良寡核苷酸之藥物動力學特性之基團，或用於改良寡核苷酸之藥力學特性之基團，及具有類似特性之其他取代基。類似修飾亦可在糖上之其他位置處作出，尤其3'末端核苷酸上之糖之3'位置或5'末端核苷酸之2'-5'連接寡核苷酸及5'位置中。經修飾糖亦包括含有在橋環氧(諸如CH_2及S)處之修

飾的經修飾糖。核苷酸糖類似物亦可具有糖模擬物(諸如環丁基部分)替代呋喃戊醣基糖。存在大量教示此類經修飾糖結構之製備且詳述及描述一系列鹼基修飾的美國專利，諸如美國專利第4,981,957號；第5,118,800號；第5,319,080號；第5,359,044號；第5,393,878號；第5,446,137號；第5,466,786號；第5,514,785號；第5,519,134號；第5,567,811號；第5,576,427號；第5,591,722號；第5,597,909號；第5,610,300號；第5,627,053號；第5,639,873號；第5,646,265號；第5,658,873號；第5,670,633號；第4,845,205號；第5,130,302號；第5,134,066號；第5,175,273號；第5,367,066號；第5,432,272號；第5,457,187號；第5,459,255號；第5,484,908號；第5,502,177號；第5,525,711號；第5,552,540號；第5,587,469號；第5,594,121號；第5,596,091號；第5,614,617號；第5,681,941號；及第5,700,920號，其中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。

【0462】 具有經修飾糖部分之核酸之實例包括但不限於包含5'-乙烯基、5'-甲基(R或S)、4'-S、2'-F、2'-OCH_3及2'-$O(CH_2)_2OCH_3$取代基之核酸。2'位置處之取代基亦可選自烯丙基、胺基、疊氮基、硫基、O-烯丙基、O-(C_1-C_{10}烷基)、OCF_3、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2$-O-$N(R_m)(R_n)$及O-CH_2-C(=O)-$N(R_m)(R_n)$，其中各R_m及R_n獨立地為H或經取代或未經取代之C_1-C_{10}烷基。

【0463】 在某些實施例中，本文所述之核酸包括一或多種雙環核酸。在某些此類實施例中，雙環核酸包含在4'與2'核糖基環原子之間的橋接。在某些實施例中，本文中所提供之核酸包括一或多種雙環核酸，其中橋接包含4'至2'雙環核酸。此類4'至2'雙環核酸之實例包括但不限於以下式

中之一者：4'-(CH_2)-O-2’ (LNA)；4'-(CH_2)-S-2'；4'-(CH_2)$_2$-O-2' (ENA)；4'-CH(CH_3)-O-2'及4'-CH(CH_2OCH_3)-O-2'及其類似物(參見美國專利第7,399,845號)；4'-C(CH_3)(CH_3)-O-2'及其類似物(參見WO2009/006478；WO2008/150729；US2004/0171570；美國專利第7,427,672號；Chattopadhyaya等人, J. Org. Chem., 209, 74, 118-134及WO2008/154401)。亦參見例如：Singh等人, Chem. Commun., 1998, 4, 455-456；Koshkin等人, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630；Wahlestedt等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638；Kumar等人, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222；Singh等人, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039；Srivastava等人, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379；Elayadi等人, Curr. Opinion Invens. Drugs, 2001, 2, 558-561；Braasch等人, Chem. Biol, 2001, 8, 1-7；Oram等人, Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243；美國專利第4,849,513號；第5,015,733號；第5,118,800號；第5,118,802號；第7,053,207號；第6,268,490號；第6,770,748號；第6,794,499號；第7,034,133號；第6,525,191號；第6,670,461號；及第7,399,845號；國際公開案第WO2004/106356號、第WO1994/14226號、第WO2005/021570號、第WO2007/090071號及第WO2007/134181號；美國專利公開案第US2004/0171570號、第US2007/0287831號和第US2008/0039618號；美國臨時申請案第60/989,574號、第61/026,995號、第61/026,998號、第61/056,564號、第61/086,231號、第61/097,787號及第61/099,844號；及國際申請案第PCT/US2008/064591號、第PCT US2008/066154號、第PCT US2008/068922號及第PCT/DK98/00393號。

【0464】 在某些實施例中，核酸包含連接之核酸。核酸可使用任何核酸間鍵連接在一起。兩個主要類別之核酸間連接基團係由存在或不存在磷原子來定義。代表性含磷核酸間鍵包括但不限於磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、胺基磷酸酯及硫代磷酸酯(P=S)。代表性不含磷核酸間連接基團包括但不限於亞甲基甲基亞胺基(-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-)、硫代二酯(-O-C(O)-S-)、硫羰基胺基甲酸酯(-O-C(O)(NH)-S-)；矽氧烷(-O-Si(H)$_2$-O-)；及N,N*-二甲基肼(-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3))。在某些實施例中，具有對掌性原子之核酸間鍵可製備為外消旋混合物、分開的對映異構體(例如烷基膦酸酯及硫代磷酸酯)。非天然核酸可含有單個修飾。非天然核酸可含有多個在部分中之一者內或在不同部分之間的修飾。

【0465】 對核酸之主鏈磷酸酯修飾包括但不限於：甲基膦酸酯、硫代磷酸酯、胺基磷酸酯(橋接或非橋接)、磷酸三酯、二硫代磷酸酯(phosphorodithioate)、二硫代磷酸酯(phosphodithioate)及硼烷磷酸酯，且可以任何組合形式使用。亦可使用其他非磷酸酯鍵。

【0466】 在一些實施例中，主鏈修飾(例如，甲基膦酸酯、硫代磷酸酯、磷醯胺酸及二硫代磷酸酯核苷酸間鍵)可對經修飾核酸賦予免疫調節活性及/或增強其活體內穩定性。

【0467】 在一些情況下，磷衍生物(或經修飾之磷酸酯基)在以下中連接至糖或糖類似物部分且可為以下：單磷酸酯、二磷酸酯、三磷酸酯、膦酸烷基酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、胺基磷酸酯或其類似物。含有經修飾之磷酸酯鍵或非磷酸酯鍵的例示性聚核苷酸可見於：Peyrottes等人, 1996, Nucleic Acids Res. 24: 1841-1848；Chaturvedi等人, 1996, Nucleic Acids Res. 24:2318-2323；及Schultz等人, (1996) Nucleic Acids

Res. 24:2966-2973；Matteucci, 1997, Oligonucleotides as Therapeutic Agents中之「Oligonucleotide Analogs: an Overview」, (Chadwick及Cardew編) John Wiley and Sons, New York, NY；Zon, 1993, Protocols for Oligonucleotides and Analogs, Synthesis and Properties中之「Oligonucleoside Phosphorothioates」, Humana Press,第165-190頁；Miller等人, 1971, JACS 93:6657-6665；Jager等人, 1988, Biochem. 27:7247-7246；Nelson等人, 1997, JOC 62:7278-7287；美國專利第5,453,496號；以及Micklefield, 2001, Curr. Med. Chem. 8: 1157-1179中。

【0468】在一些情況下，主鏈修飾包含用替代部分(諸如陰離子、中性或陽離子基團)置換磷酸二酯鍵。此類修飾之實例包括：陰離子核苷間鍵；N3'至P5'胺基磷酸酯修飾；硼烷磷酸酯DNA；促寡核苷酸；中性核苷間鍵，諸如甲基膦酸酯；醯胺連接DNA；亞甲基(甲基亞胺基)鍵；甲縮醛及硫代甲縮醛鍵；含有磺醯基之主鏈；(N-嗎啉基)寡聚物；肽核酸(PNA)；及帶正電去氧核糖核酸胍(DNG)寡聚物(Micklefield, 2001, Current Medicinal Chemistry 8: 1157-1179)。經修飾核酸可包含嵌合或混合主鏈，其包含一或多種修飾，例如磷酸酯鍵之組合，諸如磷酸二酯與硫代磷酸酯鍵之組合。

【0469】磷酸酯之替代物包括例如短鏈烷基或環烷基核苷間鍵、混合雜原子及烷基或環烷基核苷間鍵或一或多個短鏈雜原子或雜環核苷間鍵。此等物質包括具有以下之物質：(N-嗎啉基)鍵(部分由核苷之糖部分形成)；矽氧烷主鏈；硫化物、亞碸及碸主鏈；甲醯基及硫甲醯基主鏈；亞甲基甲醯基及硫甲醯基主鏈；含有烯烴之主鏈；胺基磺酸酯主鏈；亞甲

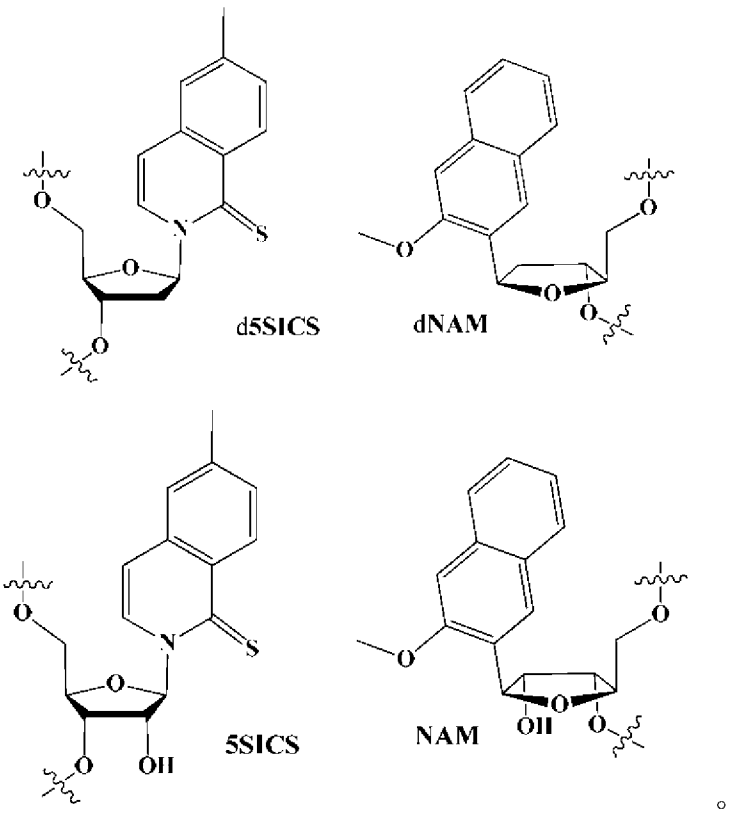
基亞胺基及亞甲基肼基主鏈；磺酸酯及磺醯胺主鏈；醯胺主鏈；及具有混合N、O、S及CH_2組成部分之其他主鏈。大量美國專利揭示如何製造及使用此等類型之磷酸酯替代物且包括但不限於：美國專利第5,034,506號；第5,166,315號；第5,185,444號；第5,214,134號；第5,216,141號；第5,235,033號；第5,264,562號；第5,264,564號；第5,405,938號；第5,434,257號；第5,466,677號；第5,470,967號；第5,489,677號；第5,541,307號；第5,561,225號；第5,596,086號；第5,602,240號；第5,610,289號；第5,602,240號；第5,608,046號；第5,610,289號；第5,618,704號；第5,623,070號；第5,663,312號；第5,633,360號；第5,677,437號；以及第5,677,439號。亦應理解，在核苷酸替代物中，核苷酸之糖及磷酸酯部分兩者均可經例如醯胺類型鍵(胺基乙基甘胺酸) (PNA)置換。美國專利第5,539,082號、第5,714,331號及第5,719,262號教示如何製造及使用PNA分子，該等美國專利中之每一者均以引用之方式併入本文中。亦參見Nielsen等人, Science, 1991, 254, 1497-1500。亦有可能將其他類型之分子(結合物)連接至核苷酸或核苷酸類似物以增強例如細胞吸收。結合物可化學連接至核苷酸或核苷酸類似物。此類結合物包括但不限於脂質部分，諸如膽固醇部分(Letsinger等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)；膽酸(Manoharan等人, Bioorg. Med. Chem. Let., 1994, 4, 1053-1060)；硫醚，例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人, Ann. KY. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309；Manoharan等人, Bioorg. Med. Chem. Let., 1993, 3, 2765-2770)；硫代膽固醇(Oberhauser等人, Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538)；脂族鏈，例如十二烷二醇或十一基殘基(Saison-Behmoaras等人, EM5OJ, 1991, 10, 1111-1118；

Kabanov等人，FEBS Lett., 1990, 259, 327-330；Svinarchuk等人，Biochimie, 1993, 75, 49-54)；磷脂，例如二-十六基-外消旋-甘油或三乙銨1-二-O-十六基-外消旋-甘油-S-H-膦酸酯(Manoharan等人，Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654；Shea等人，Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783)；多元胺或聚乙二醇鏈(Manoharan等人，Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973)；或金剛烷乙酸(Manoharan等人，Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654)；軟脂基部分(Mishra等人，Biochem. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)；或十八基胺或己基胺基-羰基-羥膽固醇部分(Crooke等人，J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937)。大量美國專利教示此類結合物之製備且包括但不限於美國專利第4,828,979號；第4,948,882號；第5,218,105號；第5,525,465號；第5,541,313號；第5,545,730號；第5,552,538號；第5,578,717, 5,580,731號；第5,580,731號；第5,591,584號；第5,109,124號；第5,118,802號；第5,138,045號；第5,414,077號；第5,486,603號；第5,512,439號；第5,578,718號；第5,608,046號；第4,587,044號；第4,605,735號；第4,667,025號；第4,762,779號；第4,789,737號；第4,824,941號；第4,835,263號；第4,876,335號；第4,904,582號；第4,958,013號；第5,082,830號；第5,112,963號；第5,214,136號；第5,082,830號；第5,112,963號；第5,214,136號；第5,245,022號；第5,254,469號；第5,258,506號；第5,262,536號；第5,272,250號；第5,292,873號；第5,317,098號；第5,371,241號，第5,391,723號；第5,416,203號，第5,451,463號；第5,510,475號；第5,512,667號；第5,514,785號；第5,565,552號；第5,567,810號；第5,574,142號；第5,585,481號；第

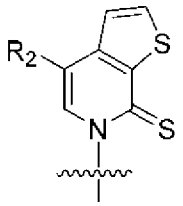
5,587,371 號 ； 第 5,595,726 號 ； 第 5,597,696 號 ； 第 5,599,923 號 ； 第 5,599,928號及第5,688,941號。

【0470】 在一些情況下，非天然核酸進一步形成非天然鹼基對。能夠在活體內條件下形成非天然DNA或RNA鹼基對(UBP)之例示性非天然核苷酸包括但不限於TPT3、dTPT3、5SICS、d5SICS、NaM、dNaM、CNMO、dCNMO及其組合。

【0471】 在一些情況下，非天然核酸進一步形成非天然鹼基對。在活體內條件下能夠形成非天然DNA或RNA鹼基對(UBP)之例示性非天然核苷酸包括但不限於5SICS、d5SICS、NAM、dNaM及其組合。可用於製備本文中所揭示之IL-2結合物之能夠形成非天然UBP的非天然核苷酸之其他實例可見於Dien等人, J Am Chem Soc., 2018, 140:16115-16123；Feldman等人, J Am Chem Soc, 2017, 139:11427-11433；Ledbetter等人, J Am Chem Soc., 2018, 140:758-765；Dhami等人, Nucleic Acids Res. 2014, 42:10235-10244；Malyshev等人, Nature, 2014, 509:385-388；Betz等人, J Am Chem Soc., 2013, 135:18637-18643；Lavergne等人, J Am Chem Soc. 2013, 135:5408-5419；以及Malyshev等人Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109:12005-12010中。在一些實施例中，非天然核苷酸包括：



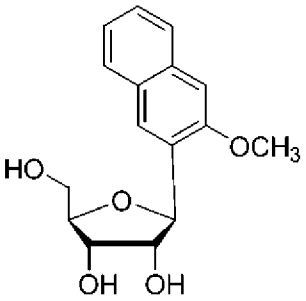
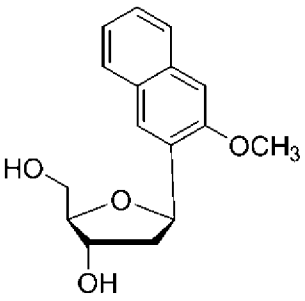
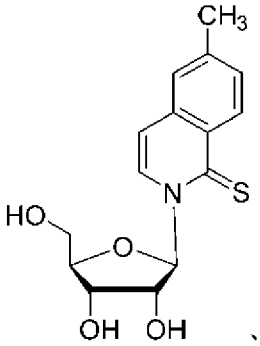
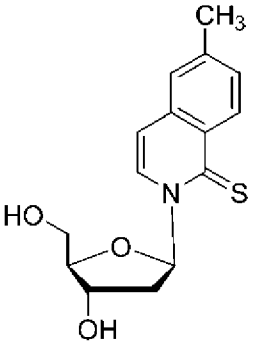
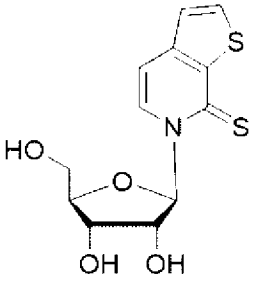
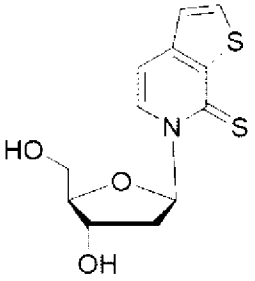
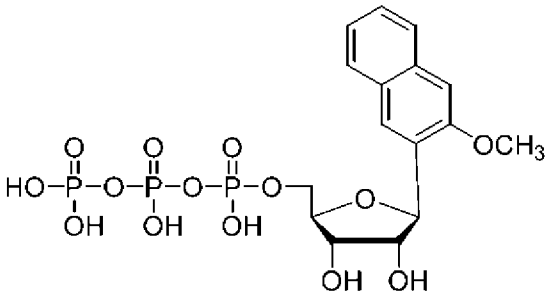
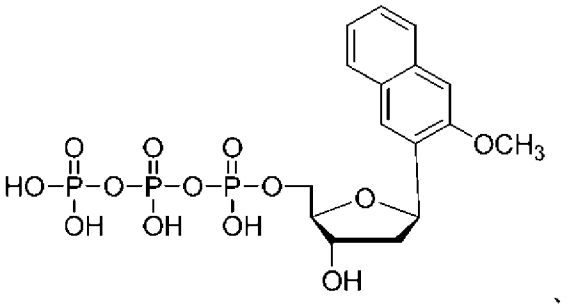
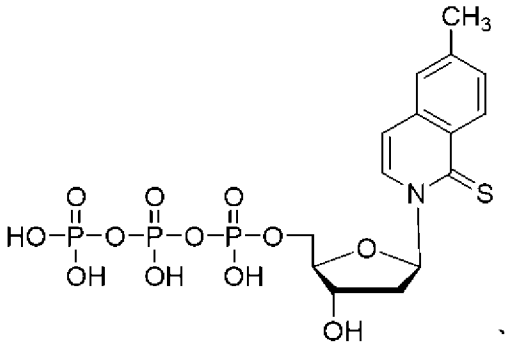
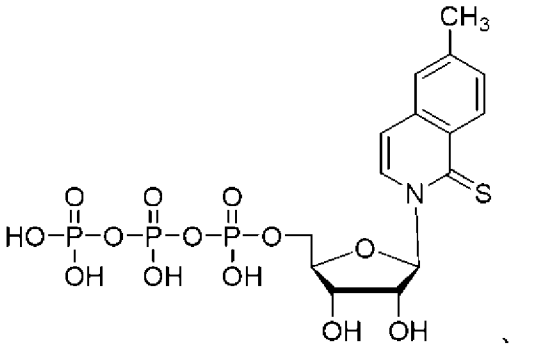
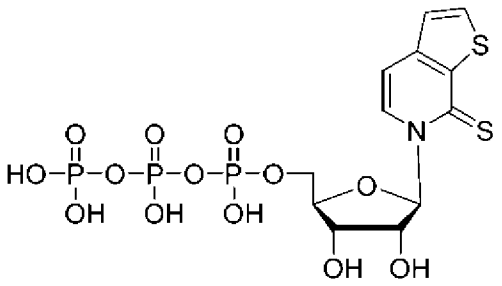
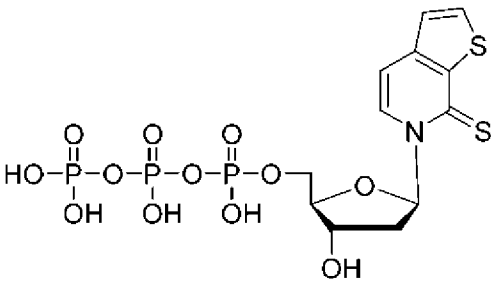
【0472】 在一些實施例中，可用於製備本文中所揭示之IL-2結合物的非天然核苷酸衍生自以下式之化合物：



其中R_2選自由以下組成之群：氫、烷基、烯基、炔基、甲氧基、甲硫醇、甲烷硒基(methaneseleno)、鹵素、氰基及疊氮基；及

波浪線指示與核糖基或2'-去氧核糖基之鍵，其中核糖基或2'-去氧核糖基部分之5'-羥基呈游離形式，或視情況鍵結至單磷酸酯、二磷酸酯或三磷酸酯基。

【0473】 在一些實施例中，可用於製備本文中所揭示之IL-2結合物

的非天然核苷酸可衍生自、、、、及。在一些實施例中，可用於製備本文所揭示之IL-2結合物之非天然核苷酸包括、、、、及或其鹽。

【0474】在一些實施例中，非天然鹼基對產生Dumas等人，

「Designing logical codon reassignment - Expanding the chemistry in biology」, *Chemical Science*, **6**: 50-69 (2015)中所述之非天然胺基酸。

【0475】將引入本文所揭示之構築體或載體之宿主細胞培養或維持於適合的培養基中以使得產生tRNA、tRNA合成酶及相關蛋白質。培養基亦包含一或多個非天然胺基酸以使得相關蛋白質併有一或多個非天然胺基酸。在一些實施例中，來自細菌、植物或海藻之核苷三磷酸轉運體(nucleoside triphosphate transporter；NTT)亦存在於宿主細胞中。在一些實施例中，本文中所揭示之IL-2結合物藉由使用表現NTT之宿主細胞來製備。在一些實施例中，用於宿主細胞中之核苷酸核苷三磷酸轉運體可選自TpNTT1、TpNTT2、TpNTT3、TpNTT4、TpNTT5、TpNTT6、TpNTT7、TpNTT8(假微型海鞭藻(T. pseudonana))、PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5、PtNTT6(三角褐指藻(P. tricornutum))、GsNTT (硫磺溫泉藻(Galdieria sulphuraria))、AtNTT1、AtNTT2 (擬南芥(Arabidopsis thaliana))、CtNTT1、CtNTT2 (沙眼披衣菌(Chlamydia trachomatis))、PamNTT1、PamNTT2 (阿莫氏原披衣菌(Protochlamydia amoebophila))、CcNTT(嗜核細胞殺手桿菌(Caedibacter caryophilus))、RpNTT1(普氏立克次體(Rickettsia prowazekii))。在一些實施例中，NTT選自PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5及PtNTT6。在一些實施例中，NTT為PtNTT1。在一些實施例中，NTT為PtNTT2。在一些實施例中，NTT為PtNTT3。在一些實施例中，NTT為PtNTT4。在一些實施例中，NTT為PtNTT5。在一些實施例中，NTT為PtNTT6。可使用之其他NTT揭示於Zhang等人, *Nature* 2017, 551(7682): 644-647；Malyshev等人*Nature* 2014 (509(7500), 385-

388；以及Zhang等人Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114:1317-1322中。

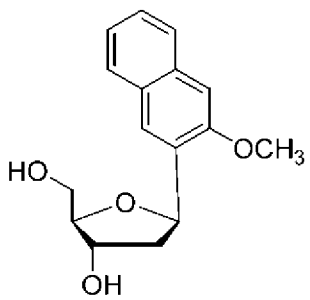
【0476】 正交tRNA合成酶/tRNA對向tRNA饋入非天然胺基酸且回應於密碼子將非天然胺基酸併入至多肽鏈中。例示性aaRS-tRNA對包括但不限於：詹氏甲烷球菌(*Methanococcus jannaschii*) (*Mj-Tyr*) aaRS/tRNA對、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌(*B. stearothermophilus*) $tRNA_{CUA}$對、大腸桿菌LeuRS (*Ec-Leu*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌$tRNA_{CUA}$對及吡咯離胺醯基-tRNA對。可根據本發明使用之其他aaRS-tRNA對包括衍生自馬氏甲烷八聯球菌(*M. mazei*)之aaRS-tRNA對，描述於以下中之aaRS-tRNA對：Feldman等人, J Am Chem Soc., 2018 140:1447-1454；及Zhang等人Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114:1317-1322。

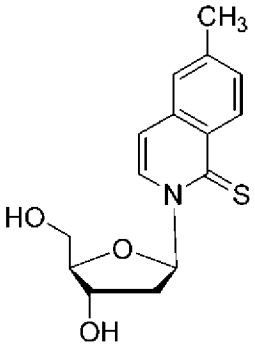
【0477】 在一些實施例中，提供在表現NTT及tRNA合成酶之細胞系統中製備本文中所揭示之IL-2結合物的方法。在本文中所描述之一些實施例中，NTT選自PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5及PtNTT6，且tRNA合成酶選自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌及馬氏甲烷八聯球菌。在一些實施例中，NTT為PtNTT1且tRNA合成酶衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌或馬氏甲烷八聯球菌。在一些實施例中，NTT為PtNTT2且tRNA合成酶衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌或馬氏甲烷八聯球菌。在一些實施例中，NTT為PtNTT3且tRNA合成酶衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌或馬氏甲烷八聯球菌。在一些實施例中，NTT為PtNTT3且tRNA合成酶衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌或馬氏甲烷八聯球菌。在一些實施例中，NTT為PtNTT4且tRNA合成酶衍生自詹氏甲烷球

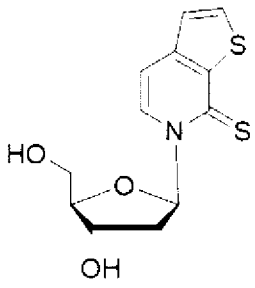
菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌或馬氏甲烷八聯球菌。在一些實施例中，NTT為PtNTT5且tRNA合成酶衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌或馬氏甲烷八聯球菌。在一些實施例中，NTT為PtNTT6且tRNA合成酶衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪芽孢桿菌或馬氏甲烷八聯球菌。

【0478】 包含一或多個非天然胺基酸之細胞介素(例如IL-2)多肽藉由將包含tRNA及tRNA合成酶且包含具有一或多個框內正交(終止)密碼子之相關核酸序列之本文所述之核酸構築體引入至宿主細胞中來製備。使宿主細胞暴露於包含一或多個非天然胺基酸之生理溶液，且接著在准許表現相關蛋白質之編碼序列的條件下維持宿主細胞。一或多個非天然胺基酸回應於密碼子併入至多肽鏈中。舉例而言，將一或多個非天然胺基酸併入至細胞介素(例如IL-2)多肽中。或者，可在蛋白質中之兩個或更多個位點處，將兩個或更多個非天然胺基酸併入至細胞介素(例如IL-2)多肽中。

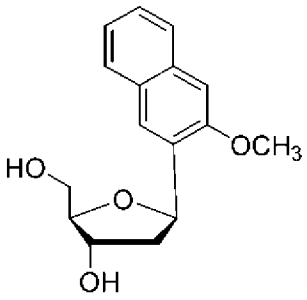
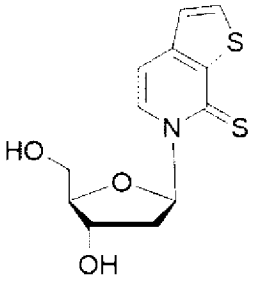
【0479】 在一些實施例中，本文所揭示之IL-2結合物可在包含以下之細胞(諸如大腸桿菌)中製備：(a)核苷三磷酸轉運體*Pt*NTT2 (包括截短變異體，其中缺失全長蛋白之前65個胺基酸殘基)，(b)包含雙股寡核苷酸之質體，該雙股寡核苷酸編碼具有所要胺基酸序列且含有包含第一非天然核苷酸及第二非天然核苷酸之非天然鹼基對之IL-2變異體，以在將併入諸如*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)之非天然胺基酸之所要位置處提供密碼子，(c)編碼衍生自馬氏甲烷八聯球菌之tRNA且包含非天然核苷酸的質體，以提供經識別反密碼子(對於IL-2變異體之密碼子)替代其天然序列，及(d)編碼巴氏甲烷八聯球菌(*M. barkeri*)衍生之吡咯離胺醯基-tRNA合成酶(*Mb* PylRS)之質體，其可為編碼tRNA之相同質體或不同質

體。在一些實施例中，細胞進一步補充有包含一或多個非天然鹼基之去氧核糖三磷酸酯。在一些實施例中，細胞進一步補充有包含一或多個非天然鹼基之核糖三磷酸酯。在一些實施例中，細胞進一步補充有一或多個非天然胺基酸，諸如*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)。在一些實施例中，編碼所要IL-2變異體之胺基酸序列的雙股寡核苷酸含有編碼具有SEQ ID NO: 4 (IL-2_C125S)之蛋白質之序列的例如位置35、42、43、62或65，或編碼具有SEQ ID NO: 3 (阿地介白素)之蛋白質之序列的位置34、41、42、61或64的密碼子AXC，其中X為非天然核苷酸。在一些實施例中，細胞進一步包含可為蛋白質表現質體之質體或編碼來自馬氏甲烷八聯球菌之正交tRNA基因的另一質體，該正交tRNA基因包含AXC匹配之反密碼子GYT而非其天然序列，其中Y為互補的非天然核苷酸且可與密碼子中之非天然核苷酸相同或不同。在一些實施例中，密碼子中之非天然核苷酸與反密碼子中之非天然核苷酸不同且與其互補。在一些實施例中，密碼子中之非天然核苷酸與反密碼子中之非天然核苷酸相同。在一些實施例中，雙股寡核苷酸中之非天然鹼基對之第一及第二非天然核苷酸可衍生自

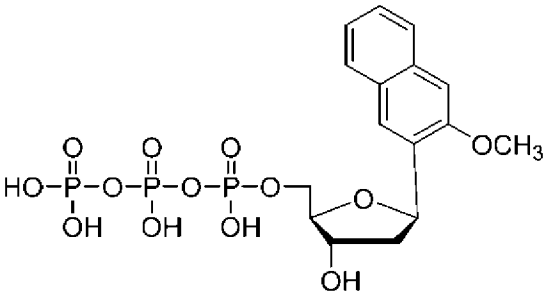
、

及

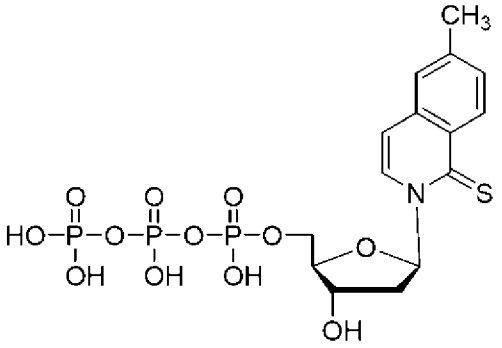
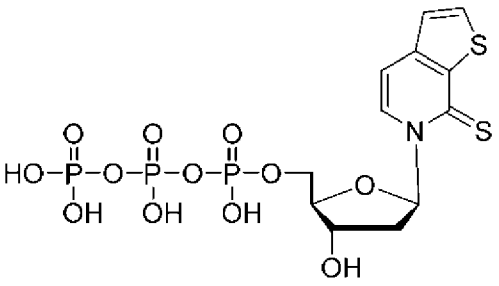
。在一些實施例中，雙股寡核苷酸中之非天然鹼基對之第一及第二非天然核苷酸可衍生自

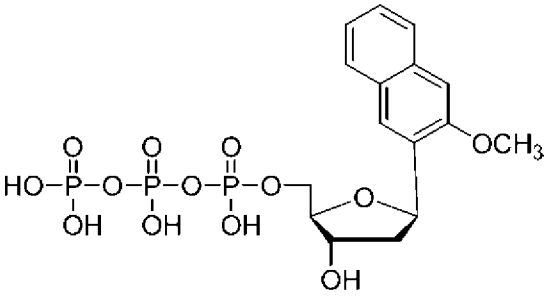
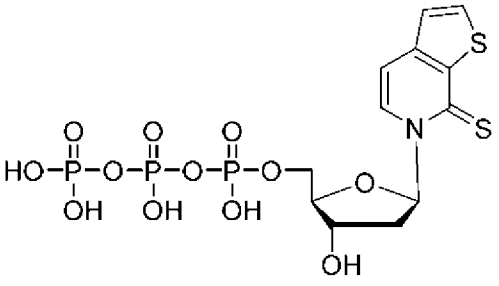
及 。在一些實施例中，第一及第二非天



然核苷酸之三磷酸酯包括 、

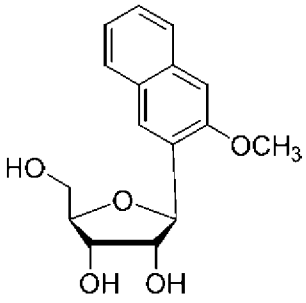
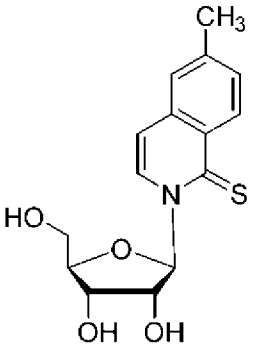
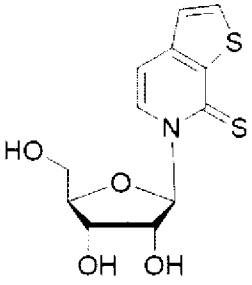
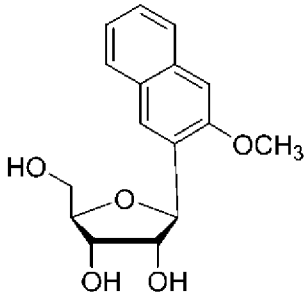
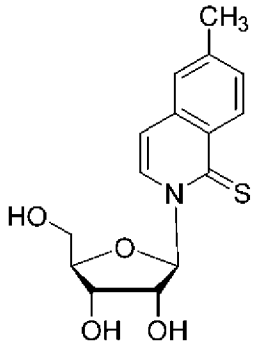
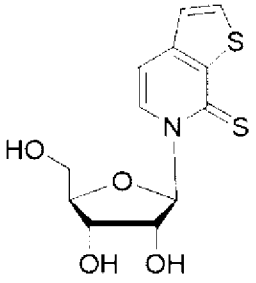
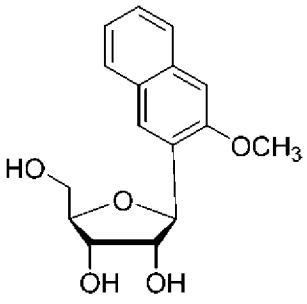



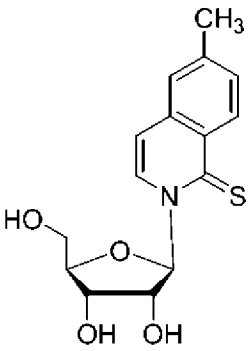
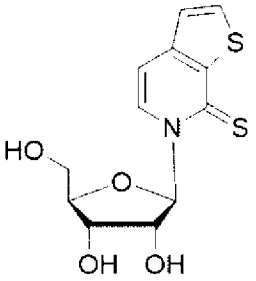
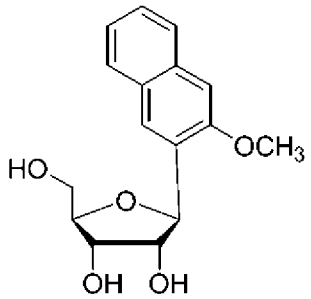
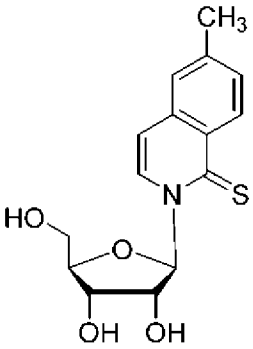
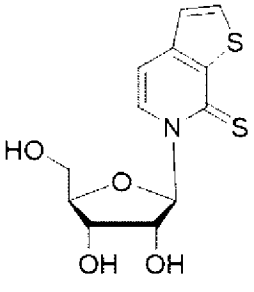
及 或其鹽。在一些實施例中，第一及第二非天然核苷酸之三磷酸酯包括

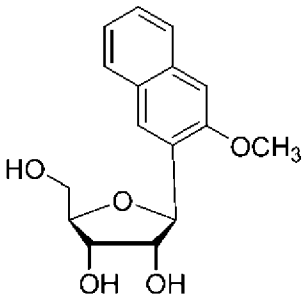
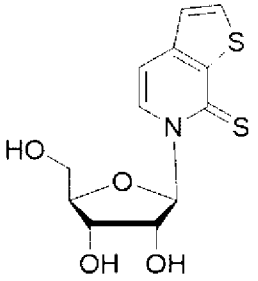
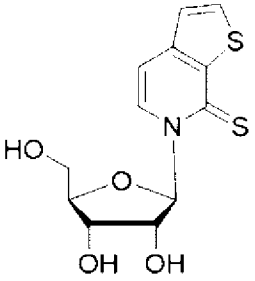
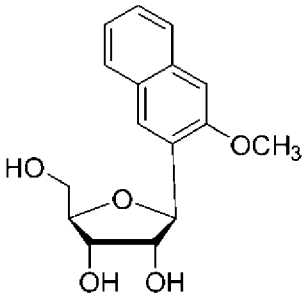



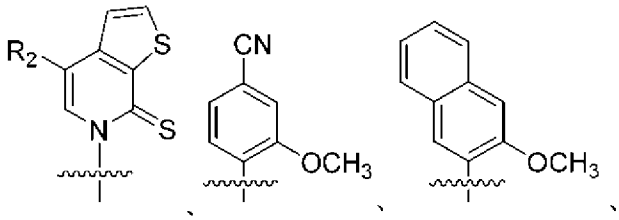
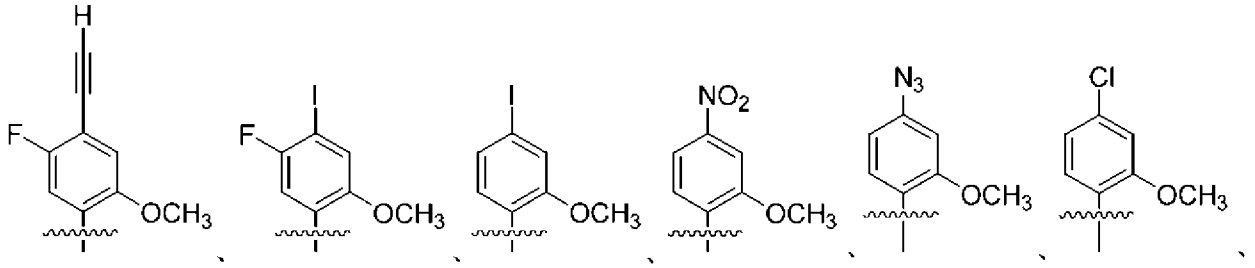
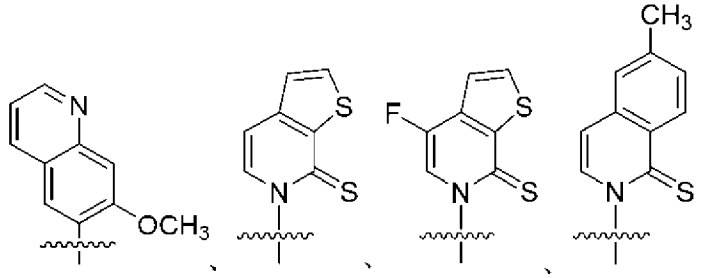
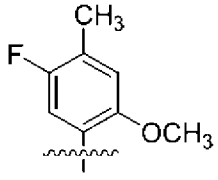
及 或其鹽。

在一些實施例中，衍生包含第一非天然核苷酸及第二非天然核苷酸之雙股寡核苷酸之mRNA可包含密碼子，其包含衍生自以下之非天然核苷酸：



及

。在一些實施例中，馬氏甲烷八聯球菌tRNA可包含反密碼子，其包含識別包含mRNA之非天然核苷酸之密碼子的非天然核苷酸。馬氏甲烷八聯球菌tRNA中之反密碼子可包含衍生自以下之非天然核苷酸：

、

及

。在一些實施例中，mRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸：

。在一些實施例中，mRNA包含

衍生自以下之非天然核苷酸：。在一些實施例中，mRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸：。在一些實施例中，tRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸：。在一些實施例中，tRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸：。在一些實施例中，tRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸：。在一些

實施例中，mRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸： 且tRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸：。在一些實施例中，mRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸： 且tRNA包含衍生自以下之非天然核苷酸：。將宿主細胞在含有適當養分之培養基中培養，且補充有：(a)包含一或多個非天然鹼基之去氧核糖核苷的三磷酸酯，該等非天然鹼基為複製編碼含有密碼子之細胞介素基因的一或多種質體所必需的；(b)包含一或多個非天然鹼基之核糖核苷的三磷酸酯，該等非天然鹼基為轉錄(i)對應於細胞介素之編碼序列且含有包含一或多個非天然鹼基之密碼子的mRNA及(ii)含有包含一或多個非天然鹼基之反密碼子的tRNA所必需的；以及(c)待併入於相關細胞介素之多肽序列中的一或多個非天然胺基酸。接著將宿主細胞維持在准許表現相關蛋白質之條件下。

【0480】在一些情況下，包含非天然鹼基之密碼子及包含非天然鹼基之反密碼子可選自以下對，其中X及Y各自包含獨立地選自由以下組成之群的鹼基：、、及，其中R_2選自由以下組成之群：氫、烷基、烯基、炔基、甲氧基、甲硫醇、甲烷硒基、鹵素、氰基及疊氮基；且在各情況下波浪線指示當X及Y包含mRNA或tRNA時與核糖基，或當X及Y包含DNA時，2'-去氧核糖基之鍵。

密碼子(mRNA)	反密碼子(tRNA)
UUX	YAA或XAA
UGX	YCA或XCA
CGX	YCG或XCG
AGX	YCU或XCU
GAX	YUC或XUC
CAX	YUG或XUG
GXU	AYC
CXU	AYG
GXG	CYC
AXG	CYU
GXC	GYC
AXC	GYU
GXA	UYC
CXC	GYG
UXC	GYA
AUX	YAU或XAU

CUX	XAG或YAG
GUX	XAC或YAC
UAX	XUA或YUA
GGX	XCC或YCC

【0481】 所表現之包含一或多個非天然胺基酸(例如Azk)之所得蛋白質可藉由一般熟習此項技術者已知之方法純化，且接著可在一般熟習此項技術者已知之條件下，使其與炔烴(諸如包含具有如本文所揭示之所要平均分子量之PEG鏈的DBCO)反應，得到本文中所揭示之IL-2結合物。其他方法為一般熟習此項技術者所已知，諸如Zhang等人, Nature 2017, 551(7682): 644-647 ； WO 2015157555 ； WO 2015021432 ； WO 2016115168；WO 2017106767；WO 2017223528；WO 2019014262；WO 2019014267；WO 2019028419；及WO2019/028425中所揭示之方法。

【0482】 或者，包含一或多個非天然胺基酸之細胞介素(例如IL-2)多肽藉由將包含tRNA及胺基醯基tRNA合成酶且包含具有一或多個框內正交(終止)密碼子之相關核酸序列之本文所述之核酸構築體引入至宿主細胞中來製備。將宿主細胞在含有適當養分之培養基中培養，補充有：(a)包含一或多個非天然鹼基之去氧核糖核苷的三磷酸酯，該等非天然鹼基為複製編碼含有新穎密碼子及反密碼子之細胞介素基因的一或多種質體所需的；(b)轉錄對應於(i)含有密碼子之細胞介素序列，及(ii)含有反密碼子之正交tRNA的mRNA所需之核糖核苷之三磷酸酯；以及(c)一或多個非天然胺基酸。接著將宿主細胞維持在准許表現相關蛋白質之條件下。一或多個非天然胺基酸回應於非天然密碼子併入至多肽鏈中。舉例而言，將一或多個非天然胺基酸併入至細胞介素(例如IL-2)多肽中。或者，可在蛋白質中之兩個或更多個位點處，將兩個或更多個非天然胺基酸併入至細胞介素

(例如IL-2)多肽中。

【0483】 一旦在宿主細胞中已產生併入有一或多個非天然胺基酸之細胞介素(例如IL-2)多肽，即可藉由多種此項技術中已知之技術將多肽自宿主細胞中提取出，該等技術包括酶促、化學及/或滲透性溶解及物理破壞。細胞介素(例如IL-2)多肽可藉由此項技術中已知之標準技術，諸如製備型離子交換層析、疏水性層析、親和性層析或一般熟習此項技術者已知之任何其他適合技術來純化。

【0484】 適合的宿主細胞可包括細菌細胞(例如大腸桿菌，BL21(DE3))，但最適合之宿主細胞係真核細胞，例如昆蟲細胞(例如果蠅，諸如黑腹果蠅(Drosophila melanogaster))、酵母細胞、線蟲(例如秀麗隱桿線蟲(Celegan))、小鼠(例如小家鼠)或哺乳動物細胞(諸如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)或COS細胞、人類293T細胞、HeLa細胞、NIH 3T3細胞及小鼠紅白血病(MEL)細胞)或人類細胞或其他真核細胞。其他適合之宿主細胞為熟習此項技術者已知。適合地，宿主細胞為哺乳動物細胞，諸如人類細胞或昆蟲細胞。在一些實施例中，適合之宿主細胞包含大腸桿菌。

【0485】 一般可用於本發明實施例中之其他適合的宿主細胞係實例部分中提及之宿主細胞。載體DNA可經由習知轉型或轉染技術引入至宿主細胞中。如本文所用，術語「轉型」及「轉染」意指多種將外來核酸分子(例如DNA)引入至宿主細胞中之熟知技術，包括磷酸鈣或氯化鈣共沈澱、DEAE-聚葡萄糖介導之轉染、脂質體轉染或電穿孔。用於轉型或轉染宿主細胞之適合方法為此項技術中所熟知。

【0486】 當產生細胞株時，一般較佳製備穩定細胞株。對於例如哺乳動物細胞之穩定轉染，已知視所用表現載體及轉染技術而定，僅小部分

之細胞可將外來DNA整合至其基因組中。為鑑別及選擇此等整合體，一般將編碼可選標記物(例如針對對抗生素之抗性)的基因與相關基因一起引入宿主細胞中。較佳可選標記物包括賦予對藥物(諸如G418、潮黴素或甲胺喋呤)之抗性的標記物。可將編碼可選標記物之核酸分子引入至宿主細胞中相同載體上，或可引入至分開的載體上。可藉由藥物選擇來鑑別經所引入之核酸分子穩定轉染之細胞(例如已併入有可選標記基因之細胞將存活，而其他細胞死亡)。

【0487】 在一個實施例中，將本文所述之構築體整合至宿主細胞之基因組中。穩定整合之優勢為實現個別細胞或純系之間的均一性。另一優勢係可進行最佳生產者之選擇。因此，需要產生穩定細胞株。在另一實施例中，將本文所述之構築體轉染至宿主細胞中。將構築體轉染至宿主細胞中之優勢為可使蛋白質產率最大化。在一個態樣中，描述一種包含本文所述之核酸構築體或載體之細胞。

【0488】 當將多個非天然胺基酸併入至細胞介素(例如IL-2)多肽中時，應瞭解，需要在所要位置將多個密碼子併入至編碼核酸序列中以使得tRNA合成酶/tRNA對可引導非天然胺基酸回應於密碼子之併入。可將至少1、2、3、4或更多個密碼子編碼核酸併入至相關核酸序列中。

【0489】 當需要將多於一個類型之非天然胺基酸併入至相關蛋白質中單個蛋白質中時，可使用第二或其他正交tRNA-tRNA合成酶對併入第二或其他非天然胺基酸；適合地，該第二或其他正交tRNA-tRNA合成酶對識別編碼相關蛋白質之核酸中之不同密碼子，以使得可在單個製造步驟中將兩種或更多個非天然胺基酸特定併入至蛋白質中之不同規定位點中。在某些實施例中，因此可使用兩個或更多個正交tRNA-tRNA合成酶對。

【0490】 一旦在宿主細胞中已產生併入有一或多個非天然胺基酸之細胞介素(例如IL-2)多肽，即可藉由多種此項技術中已知之技術將多肽自宿主細胞中提取出，該等技術包括酶促、化學及/或滲透性溶解及物理破壞。細胞介素(例如IL-2)多肽可藉由諸如製備型層析、親和純化或任何其他適合的技術之此項技術中已知之標準技術來純化。

【0491】 適合的宿主細胞可包括細菌細胞(例如大腸桿菌，BL21(DE3))，但最適合之宿主細胞係真核細胞，例如昆蟲細胞(例如果蠅，諸如黑腹果蠅(Drosophila melanogaster))、酵母細胞、線蟲(例如秀麗隱桿線蟲(Celegan))、小鼠(例如小家鼠)或哺乳動物細胞(諸如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)或COS細胞、人類293T細胞、HeLa細胞、NIH 3T3細胞及小鼠紅白血病(MEL)細胞)或人類細胞或其他真核細胞。其他適合之宿主細胞為熟習此項技術者已知。適合地，宿主細胞為哺乳動物細胞，諸如人類細胞或昆蟲細胞。

【0492】 一般可用於本發明實施例中之其他適合的宿主細胞係實例部分中提及之宿主細胞。載體DNA可經由習知轉型或轉染技術引入至宿主細胞中。如本文所用，術語「轉型」及「轉染」意指多種將外來核酸分子(例如DNA)引入至宿主細胞中之熟知技術，包括磷酸鈣或氯化鈣共沈澱、DEAE-聚葡萄糖介導之轉染、脂質體轉染或電穿孔。用於轉型或轉染宿主細胞之適合方法為此項技術中所熟知。

【0493】 當產生細胞株時，一般較佳製備穩定細胞株。對於例如哺乳動物細胞之穩定轉染，已知視所用表現載體及轉染技術而定，僅小部分之細胞可將外來DNA整合至其基因組中。為鑑別及選擇此等整合體，一般將編碼可選標記物(例如針對對抗生素之抗性)的基因與相關基因一起引

入宿主細胞中。較佳可選標記物包括賦予對藥物(諸如G418、潮黴素或甲胺喋呤)之抗性的標記物。可將編碼可選標記物之核酸分子引入至宿主細胞中相同載體上，或可引入至分開的載體上。可藉由藥物選擇來鑑別經所引入之核酸分子穩定轉染之細胞(例如已併入有可選標記基因之細胞將存活，而其他細胞死亡)。

【0494】 在一個實施例中，將本文所述之構築體整合至宿主細胞之基因組中。穩定整合之優勢為實現個別細胞或純系之間的均一性。另一優勢係可進行最佳生產者之選擇。因此，需要產生穩定細胞株。在另一實施例中，將本文所述之構築體轉染至宿主細胞中。將構築體轉染至宿主細胞中之優勢為可使蛋白質產率最大化。在一個態樣中，描述一種包含本文所述之核酸構築體或載體之細胞。

醫藥組合物及調配物

【0495】 在一些實施例中，藉由多種投與途徑向個體投與本文所述之醫藥組合物及調配物，該等途徑包括但不限於非經腸、口服、經頰、經直腸、舌下或經皮投與途徑。在一些情況下，非經腸投與包含靜脈內、皮下、肌肉內、腦內、鼻內、動脈內、關節內、皮內、玻璃體內、骨內輸注、腹膜內或鞘內投與。在一些情況下，醫藥組合物針對局部投與進行調配。在其他情況下，醫藥組合物針對全身投與進行調配。在一些實施例中，藉由靜脈內、皮下及肌肉內投與向個體投與本文所述之醫藥組合物及調配物。在一些實施例中，藉由靜脈內投與向個體投與本文所述之醫藥組合物及調配物。在一些實施例中，藉由投與向個體投與本文所述之醫藥組合物及調配物。在一些實施例中，藉由肌肉內投與向個體投與本文所述之醫藥組合物及調配物。

【0496】 在一些實施例中，醫藥調配物包括但不限於水性液體分散液、自乳化型分散液、固溶體、脂質分散液、氣霧劑、固體劑型、散劑、立即釋放調配物、控制釋放調配物、速熔調配物、錠劑、膠囊、丸劑、延遲釋放調配物、延長釋放調配物、脈衝釋放調配物、多微粒調配物(例如奈米粒子調配物)及混合立即與控制釋放調配物。

【0497】 在一些實施例中，醫藥調配物包括基於與本文所揭示之組合物的相容性，及所要劑型之釋放曲線特性選擇之載劑或載劑材料。例示性載劑材料包括例如黏合劑、懸浮劑、崩解劑、填充劑、界面活性劑、增溶劑、穩定劑、潤滑劑、潤濕劑、稀釋劑及其類似物。醫藥學上相容之載劑材料包括但不限於阿拉伯膠、明膠、膠態二氧化矽、甘油磷酸鈣、乳酸鈣、麥芽糊精、甘油、矽酸鎂、聚乙烯吡咯啶酮(PVP)、膽固醇、膽固醇酯、酪蛋白鈉、大豆卵磷脂、牛膽酸、磷脂醯膽鹼、氯化鈉、磷酸三鈣、磷酸二鉀、纖維素及纖維素結合物、硬脂醯基乳酸糖鈉、角叉菜膠、單甘油酸酯、二甘油酯、預膠凝化澱粉及其類似物。參見例如*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 第十九版 (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995)，Hoover, John E., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975，Liberman, H.A.及Lachman, L.編, *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980及*Pharmaceutical Dosage Forms and* Drug Delivery Systems, 第七版 (Lippincott Williams & Wilkins1999)。

【0498】 在一些情況下，醫藥組合物調配為免疫微脂囊，其包含直接或間接結合至脂質體之脂質雙層的複數個IL-2結合物。例示性脂質包括

但不限於脂肪酸；磷脂；固醇，諸如膽固醇；鞘脂，諸如鞘磷脂；醣神經鞘脂，諸如神經節苷脂、紅血球糖苷脂及腦苷脂；界面活性劑胺，諸如硬脂基、油基及亞油醇基胺。在一些情況下，脂質包含陽離子脂質。在一些情況下，脂質包含磷脂。例示性磷脂包括但不限於磷脂酸(「PA」)、膽鹼磷脂(「PC」)、磷脂醯甘油(「PG」)、磷脂醯乙醇胺(「PE」)、磷脂醯肌醇(「PI」)及磷脂醯絲胺酸(「PS」)、鞘磷脂(包括腦鞘磷脂)、卵磷脂、溶血卵磷脂、溶血磷脂醯乙醇胺、腦苷脂、二花生醯基膽鹼磷脂(「DAPC」)、二癸醯基-L-α-膽鹼磷脂(「DDPC」)、二反油醯基膽鹼磷脂(「DEPC」)、二月桂醯基膽鹼磷脂(「DLPC」)、二亞油基醯磷脂醯膽鹼、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(「DMPC」)、二油醯基磷脂醯膽鹼(「DOPC」)、二軟脂醯基磷脂醯膽鹼(「DPPC」)、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(「DSPC」)、1-軟脂醯基-2-油醯基-膽鹼磷脂(「POPC」)、二花生醯基磷脂醯甘油(「DAPG」)、二癸醯基-L-α-磷脂醯甘油(「DDPG」)、二反油醯基磷脂醯甘油(「DEPG」)、二月桂醯基磷脂醯甘油(「DLPG」)、二亞油醯基磷脂醯甘油、二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油(「DMPG」)、二油醯基磷脂醯甘油(「DOPG」)、二軟脂醯基磷脂醯甘油(「DPPG」)、二硬脂醯基磷脂醯甘油(「DSPG」)、1-軟脂醯基-2-油醯基-磷脂醯甘油(「POPG」)、二花生醯基磷脂醯乙醇胺(「DAPE」)、二癸醯基-L-α-磷脂醯乙醇胺(「DDPE」)、二反油醯基磷脂醯乙醇胺(「DEPE」)、二月桂醯基磷脂醯乙醇胺(「DLPE」)、二亞油醯基磷脂醯乙醇胺、二肉豆蔻醯基磷脂醯乙醇胺(「DMPE」)、二油醯基磷脂醯乙醇胺(「DOPE」)、二軟脂醯基磷脂醯乙醇胺(「DPPE」)、二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺(「DSPE」)、1-軟脂醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺(「POPE」)、二花生

醯基磷脂醯環己六醇(「DAPI」)、二癸醯基-L-α-磷脂醯環己六醇(「DDPI」)、二反油醯基磷脂醯環己六醇(「DEPI」)、二月桂醯基磷脂醯環己六醇(「DLPI」)、二亞油醯基磷脂醯環己六醇、二肉豆蔻醯基磷脂醯環己六醇(「DMPI」)、二油醯基磷脂醯環己六醇(「DOPI」)、二軟脂醯基磷脂醯環己六醇(「DPPI」)、二硬脂醯基磷脂醯環己六醇(「DSPI」)、1-軟脂醯基-2-油醯基-磷脂醯環己六醇(「POPI」)、二花生醯基磷脂醯絲胺酸(「DAPS」)、二癸醯基-L-α-磷脂醯絲胺酸(「DDPS」)、二反油醯基磷脂醯絲胺酸(「DEPS」)、二月桂醯基磷脂醯絲胺酸(「DLPS」)、二亞油醯基磷脂醯絲胺酸、二肉豆蔻醯基磷脂醯絲胺酸(「DMPS」)、二油醯基磷脂醯絲胺酸(「DOPS」)、二軟脂醯基磷脂醯絲胺酸(「DPPS」)、二硬脂醯基磷脂醯絲胺酸(「DSP」)、1-軟脂醯基-2-油醯基-磷脂醯絲胺酸(「POPS」)、二花生醯基鞘磷脂、二癸醯基鞘磷脂、二反油醯基鞘磷脂、二月桂醯基鞘磷脂、二亞油醯基鞘磷脂、二肉豆蔻醯基鞘磷脂、鞘磷脂、二油醯基鞘磷脂、二軟脂醯基鞘磷脂、二硬脂醯基鞘磷脂及1-軟脂醯基-2-油醯基-鞘磷脂。

【0499】 在一些情況下，醫藥調配物進一步包括pH調節劑或緩衝劑，其包括酸，諸如乙酸、硼酸、檸檬酸、乳酸、磷酸及鹽酸；鹼，諸如氫氧化鈉、磷酸鈉、硼酸鈉、檸檬酸鈉、乙酸鈉、乳酸鈉及參-羥基甲胺基甲烷；及緩衝劑，諸如檸檬酸鹽/右旋糖、碳酸氫鈉及氯化銨。以將組合物之pH值維持在可接受範圍內所需之量包括此類酸、鹼及緩衝劑。

【0500】 在一些情況下，醫藥調配物包括使組合物之重量莫耳滲透濃度在可接受範圍中所需之量的一或多種鹽。此類鹽包括具有鈉、鉀或銨陽離子及氯、檸檬酸根、抗壞血酸根、硼酸根、磷酸根、碳酸氫根、硫酸

根、硫代硫酸根或亞硫酸氫根陰離子之鹽，適合鹽包括氯化鈉、氯化鉀、硫代硫酸鈉、亞硫酸氫鈉及硫酸銨。

【0501】 在一些實施例中，醫藥調配物包括但不限於糖，如海藻糖、蔗糖、甘露糖醇、麥芽糖、葡萄糖；或鹽，如磷酸鉀、檸檬酸鈉、硫酸銨及/或增加多肽之可溶性及活體內穩定性的其他試劑，諸如肝素。

【0502】 在一些情況下，醫藥調配物進一步包括用於穩定化合物之稀釋劑，因為其可提供更穩定的環境。溶解於緩衝溶液(其亦可提供pH值控制或維持)中之鹽在此項技術中用作稀釋劑，其包括但不限於磷酸鹽緩衝鹽水溶液。在某些情況下，稀釋劑可增加組合物之體積以促進壓縮或形成足夠體積以用於膠囊填充之均勻摻合物。此類化合物可包括例如乳糖、澱粉、甘露糖醇、山梨糖醇、右旋糖、微晶纖維素(諸如Avicel®)、磷酸氫二鈣、二水合磷酸二鈣、磷酸三鈣、磷酸鈣、無水乳糖、噴霧乾燥乳糖、預膠凝化澱粉、可壓縮糖(諸如Di-Pac® (Amstar))、甘露糖醇、羥基丙基甲基纖維素、羥基丙基甲基纖維素乙酸酯硬脂酸酯、基於蔗糖之稀釋劑、糖粉(confectioner's sugar)、單水合硫酸二氫鈣、二水合硫酸鈣、三水合乳酸鈣、葡萄糖結合劑、水解穀類固體、直鏈澱粉、粉末狀纖維素、碳酸鈣、甘胺酸、高嶺土、甘露糖醇、氯化鈉、肌醇、膨潤土及其類似物。在一些實施例中，本文所揭示之IL-2結合物可用於包含組胺酸、山梨糖醇及聚山梨醇酯80，或產生穩定調配物且可投與有需要之個體的任何組合之醫藥調配物中。在一個實施例中，本文揭示之IL-2結合物可以在適合容器，諸如小瓶中之成品藥品形式呈現，如下：IL-2結合物(約2 mg至約10 mg)；L-組胺酸(約0.5 mg至約2 mg)；L-組胺酸鹽酸鹽(約1 mg至約2 mg)；山梨糖醇(約20 mg至約80 mg)；及聚山梨醇酯80 (約0.1 mg至約0.2

mg)；與足夠量之注射用水，得到適合用於所揭示之方法之液體調配物。

【0503】 在一些情況下，醫藥調配物包括有助於物質分裂或崩解之崩解劑(disintegration agent)或崩解劑(disintegrant)。術語「崩解」包括當與胃腸流體接觸時劑型溶解及分散兩者。崩解劑之實例包括澱粉，例如天然澱粉，諸如玉米澱粉或馬鈴薯澱粉；預膠凝化澱粉，諸如National 1551或Amijel®；或羥基乙酸澱粉鈉，諸如Promogel®或Explotab®；纖維素，諸如木材產品；甲基結晶纖維素，例如Avicel®、Avicel® PH101、Avicel® PH102、Avicel® PH105、Elcema® P100、Emcocel®、Vivacel®、Ming Tia®及Solka-Floc®；甲基纖維素、交聯羧甲纖維素或交聯纖維素，諸如交聯羧基甲基纖維素鈉(Ac-Di-Sol®)、交聯羧基甲基纖維素或交聯之交聯羧甲纖維素；交聯澱粉，諸如羥基乙酸澱粉鈉；交聯聚合物，諸如交聯聚維酮；交聯聚乙烯吡咯啶酮；海藻酸鹽，諸如海藻酸或海藻酸之鹽，諸如海藻酸鈉；黏土，諸如Veegum® HV (矽酸鎂鋁)、膠(諸如瓊脂、瓜爾膠、刺槐豆膠、加拉亞膠(Karaya)、果膠或黃蓍膠)；羥基乙酸澱粉鈉；膨潤土；天然海綿；界面活性劑；樹脂，諸如陽離子交換樹脂；柑桔渣；月桂基硫酸鈉；與澱粉組合的月桂基硫酸鈉；及其類似物。

【0504】 在一些情況下，醫藥調配物包括諸如以下之填充劑：乳糖、碳酸鈣、磷酸鈣、磷酸氫二鈣、硫酸鈣、微晶纖維素、纖維素粉末、右旋糖、葡萄糖結合劑、聚葡萄糖、澱粉、預膠凝化澱粉、蔗糖、木糖醇、乳糖醇、甘露糖醇、山梨糖醇、氯化鈉、聚乙二醇及其類似物。

【0505】 潤滑劑及滑動劑亦視情況包括於本文所述之醫藥調配物中以用於防止、減少或抑制材料之黏附或摩擦。例示性潤滑劑包括例如硬脂酸；氫氧化鈣；滑石；硬脂基反丁烯二酸鈉；烴，諸如礦物油；或氫化植

物油，諸如氫化大豆油(Sterotex®)；高級脂肪酸及其鹼金屬鹽及鹼土金屬鹽，諸如鋁、鈣、鎂、鋅、硬脂酸、硬脂酸鈉、甘油、滑石、蠟、Stearowet®、硼酸、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉、白胺酸、聚乙二醇(例如PEG-4000)或甲氧基聚乙二醇，諸如Carbowax™；油酸鈉、苯甲酸鈉、山嵛酸甘油酯、聚乙二醇、月桂基硫酸鎂或月桂基硫酸鈉；膠態二氧化矽，諸如Syloid™、Cab-O-Sil®；澱粉，諸如玉米澱粉、聚矽氧油、界面活性劑及其類似物。

【0506】 塑化劑包括用於使微膠囊化材料或膜包衣軟化以使其脆性較低之化合物。適合塑化劑包括例如聚乙二醇，諸如PEG 300、PEG 400、PEG 600、PEG 1450、PEG 3350及PEG 800；硬脂酸；丙二醇；油酸；三乙基纖維素及三醋精。塑化劑亦可充當分散劑或潤濕劑。

【0507】 增溶劑包括諸如以下之化合物：三醋精、三乙基檸檬酸酯、油酸乙酯、辛酸乙酯、月桂基硫酸鈉、多庫酯鈉(sodium doccusate)、維生素E TPGS、二甲基乙醯胺、N-甲基吡咯啶酮、N-羥基乙基吡咯啶酮、聚乙烯吡咯啶酮、羥丙基甲基纖維素、羥基丙基環糊精、乙醇、正丁醇、異丙醇、膽固醇、膽汁鹽、聚乙二醇200-600、四氫呋喃聚乙二醇醚、二乙二醇單乙醚、丙二醇及二甲基異山梨醇及其類似物。

【0508】 穩定劑包括諸如任何抗氧化劑、緩衝劑、酸、防腐劑及其類似物之化合物。例示性穩定劑包括L-精胺酸鹽酸鹽、緩血酸胺、白蛋白(人類)、檸檬酸、苯甲醇、苯酚、脫水磷酸二氫二鈉、丙二醇、間甲酚(metacresol)或間甲酚(m-cresol)、乙酸鋅、聚山梨醇酯-20或Tween® 20或胺丁三醇。

【0509】 懸浮劑包括諸如以下之化合物：聚乙烯吡咯啶酮，例如聚

乙烯吡咯啶酮K12、聚乙烯吡咯啶酮K17、聚乙烯吡咯啶酮K25或聚乙烯吡咯啶酮K30；乙烯基吡咯啶酮/乙酸乙烯酯共聚物(S630)；聚乙二醇，例如分子量可為約300至約6000，或約3350至約4000，或約7000至約5400之聚乙二醇；羧基甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、羥基甲基纖維素乙酸酯硬脂酸酯；聚山梨醇酯-80；羥基乙基纖維素；海藻酸鈉；膠，諸如黃蓍膠及阿拉伯膠、瓜爾膠、三仙膠(包括黃原膠)；糖；纖維素材料，諸如羧基甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羧基甲基纖維素鈉、羥基丙基甲基纖維素、羥基乙基纖維素；聚山梨醇酯-80；海藻酸鈉；聚乙氧基化脫水山梨糖醇單月桂酸酯；聚乙氧基化脫水山梨糖醇單月桂酸酯；聚維酮及其類似物。

【0510】 界面活性劑包括諸如以下之化合物：月桂基硫酸鈉、多庫酯鈉、Tween 60或80、三醋精、維生素E TPGS、脫水山梨糖醇單油酸酯、聚氧伸乙基脫水山梨糖醇單油酸酯、聚山梨醇酯、泊洛沙姆(polaxomer)、膽汁鹽、單硬脂酸甘油酯、環氧乙烷與環氧丙烷之共聚物(例如Pluronic® (BASF))及其類似物。額外界面活性劑包括聚氧伸乙基脂肪酸甘油酯及植物油，例如聚氧伸乙基(60)氫化蓖麻油；及聚氧伸乙基烷基醚及烷基苯基醚，例如辛苯聚醇10、辛苯聚醇40。有時，包括界面活性劑以增強物理穩定性或用於其他目的。

【0511】 黏度增強劑包括例如甲基纖維素、黃原膠、羧基甲基纖維素、羥丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素乙酸酯硬脂酸酯、羥丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯、卡波姆、聚乙烯醇、海藻酸酯、阿拉伯膠、聚葡萄胺糖及其組合。

【0512】 潤濕劑包括諸如以下之化合物：油酸、單硬脂酸甘油酯、

脫水山梨糖醇單油酸酯、脫水山梨糖醇單月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯、聚氧伸乙基脫水山梨糖醇單油酸酯、聚氧伸乙基脫水山梨糖醇單月桂酸酯、多庫酯鈉(sodium docusate)、油酸鈉、月桂基硫酸鈉、多庫酯鈉(sodium doccusate)、三醋精、Tween 80、維生素E TPGS、銨鹽及其類似物。

治療方案

【0513】在一些實施例中，投與本文所述之醫藥組合物以用於治療性應用。在一些實施例中，每天一次、每天兩次、每天三次或更多次投與醫藥組合物。每日、每天、每隔一天、一週五天、一週一次、每隔一週、每月兩週、每月三週、每月一次、每月兩次、每月三次或更多次投與醫藥組合物。投與醫藥組合物至少1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月、12個月、18個月、2年、3年或更長。

【0514】在其中患者狀態改良之情況下，在醫生判斷下持續投與組合物；或者，組合物投與劑量暫時減少或暫時中止一段時間(亦即「藥物假期」)。在一些情況下，藥物假期之長度在2天與1年之間變化，包括僅舉例而言2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、15天、20天、28天、35天、50天、70天、100天、120天、150天、180天、200天、250天、280天、300天、320天、350天或365天。在藥物假期期間之劑量減少量為10%-100%，包括僅舉例而言10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0515】在一些實施例中，向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物每週一次、每兩週一次、每三週一次、每4週一次、每5週一次、每6週

一次、每7週一次、每8週一次、每9週一次、每10週一次、每11週一次、每12週一次、每13週一次、每14週一次、每15週一次、每16週一次、每17週一次、每18週一次、每19週一次、每20週一次、每21週一次、每22週一次、每23週一次、每24週一次、每25週一次、每26週一次、每27週一次或每28週一次。在一些實施例中，每週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每兩週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每三週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每4週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每5週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每6週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每7週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每8週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每9週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每10週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每11週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每12週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每13週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每14週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每15週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每16週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每17週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每18週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每19週一次向有需要之個體投與有效

量之IL-2結合物。在一些實施例中，每20週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每21週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每22週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每23週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。在一些實施例中，每24週一次向有需要之個體投與有效量之IL-2結合物。

【0516】 在一些實施例中，與此類量相對應之給定試劑之量視諸如以下之因素而變化：特定化合物、疾病之嚴重程度、需要治療之個體或宿主之屬性(例如重量)，然而通常以此項技術中已知之方式根據圍繞病例之特定情形來確定，包括例如所投與之特定試劑、投與途徑及所治療之個體或宿主。在一些情況下，所要劑量宜以單次劑量或分次劑量呈遞，該等分次劑量同時(或在較短時間段內)投與或以適當的時間間隔投與，例如每天兩次、三次、四次或更多次子劑量。

【0517】 在一些實施例中，方法包括向有需要之個體以介於以下範圍內之劑量給與IL-2結合物：1 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約2 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約4 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約6 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約8 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約10 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約12 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約14 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約16 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約18 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約20 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約22 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約24 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約26 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約28 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約32 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約34 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約36 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約40 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約45 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約50 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約55 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約60 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約65 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約70 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約75 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約80 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約85 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約90 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約95 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約100 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約110 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg

IL-2結合物/kg個體體重、或約120 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約130 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約140 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約150 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約160 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約170 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約180 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重、或約190 μg IL-2結合物/kg個體體重至約200 μg IL-2結合物/kg個體體重。前述範圍僅為建議範圍，因為關於個別治療方案之變數的數目較大，且與此等推薦值有相當大的偏移並非不常見。此類劑量可視多個變數而改變，該等變數不限於所用化合物之活性、待治療之疾病或病狀、投與模式、個別個體之要求、所治療之疾病或病狀之嚴重程度及醫師判斷。在一些實施例中，此類治療方案之毒性及治療功效藉由標準醫藥程序在細胞培養物或實驗動物中測定，包括但不限於測定LD50 (群體50%致死的劑量)及ED50 (群體50%治療有效的劑量)。毒性與治療效果之間的劑量比為治療指數，且其可表示為LD50與ED50之間的比率。展現高治療指數之化合物為較佳的。自細胞培養分析及動物研究獲得之資料用於調配用於人類之劑量範圍。此類化合物之劑量較佳處於包括具有最小毒性之ED50的循環濃度之範圍內。劑量視所採用劑型及所用投與途徑而在此範圍內變化。

【0518】 在一些實施例中，方法包括向有需要之個體以以下劑量給與IL-2結合物：約1 μg IL-2結合物/kg個體體重或約2 μg IL-2結合物/kg個體體重、約4 μg IL-2結合物/kg個體體重、約6 μg IL-2結合物/kg個體體

重、約8 μg IL-2結合物/kg個體體重、約10 μg IL-2結合物/kg個體體重、約12 μg IL-2結合物/kg個體體重、約14 μg IL-2結合物/kg個體體重、約16 μg IL-2結合物/kg個體體重、約18 μg IL-2結合物/kg個體體重、約20 μg IL-2結合物/kg個體體重、約22 μg IL-2結合物/kg個體體重、約24 μg IL-2結合物/kg個體體重、約26 μg IL-2結合物/kg個體體重、約28 μg IL-2結合物/kg個體體重、約30 μg IL-2結合物/kg個體體重、約32 μg IL-2結合物/kg個體體重、約34 μg IL-2結合物/kg個體體重、約36 μg IL-2結合物/kg個體體重、約38 μg IL-2結合物/kg個體體重、約40 μg IL-2結合物/kg個體體重、約42 μg IL-2結合物/kg個體體重、約44 μg IL-2結合物/kg個體體重、約46 μg IL-2結合物/kg個體體重、約48 μg IL-2結合物/kg個體體重、約50 μg IL-2結合物/kg個體體重、約55 μg IL-2結合物/kg個體體重、約60 μg IL-2結合物/kg個體體重、約65 μg IL-2結合物/kg個體體重、約70 μg IL-2結合物/kg個體體重、約75 μg IL-2結合物/kg個體體重、約80 μg IL-2結合物/kg個體體重、約85 μg IL-2結合物/kg個體體重、約90 μg IL-2結合物/kg個體體重、約95 μg IL-2結合物/kg個體體重、約100 μg IL-2結合物/kg個體體重、約110 μg IL-2結合物/kg個體體重、約120 μg IL-2結合物/kg個體體重、約130 μg IL-2結合物/kg個體體重、約140 μg IL-2結合物/kg個體體重、約150 μg IL-2結合物/kg個體體重、約160 μg IL-2結合物/kg個體體重、約170 μg IL-2結合物/kg個體體重、約180 μg IL-2結合物/kg個體體重、約190 μg IL-2結合物/kg個體體重或約200 μg IL-2結合物/kg個體體重。前述範圍僅為建議範圍，因為關於個別治療方案之變數的數目較大，且與此等推薦值有相當大的偏移並非不常見。此類劑量可視多個變數而改變，該等變數不限於所用化合物之活

性、待治療之疾病或病狀、投與模式、個別個體之要求、所治療之疾病或病狀之嚴重程度及醫師判斷。在一些實施例中，此類治療方案之毒性及治療功效藉由標準醫藥程序在細胞培養物或實驗動物中測定，包括但不限於測定LD50 (群體50%致死的劑量)及ED50 (群體50%治療有效的劑量)。毒性與治療效果之間的劑量比為治療指數，且其可表示為LD50與ED50之間的比率。展現高治療指數之化合物為較佳的。自細胞培養分析及動物研究獲得之資料用於調配用於人類之劑量範圍。此類化合物之劑量較佳處於包括具有最小毒性之ED50的循環濃度之範圍內。劑量視所採用劑型及所用投與途徑而在此範圍內變化。

【0519】 一旦患者之病狀發生改良，則在必要時投與維持劑量。隨後，投與劑量或頻率或兩者可隨症狀變化，降低至保持改良之疾病、病症或病狀之水準。

【0520】 在一些實施例中，與此類量相對應之給定試劑之量視諸如以下之因素而變化：特定化合物、疾病之嚴重程度、需要治療之個體或宿主之屬性(例如重量)，然而通常以此項技術中已知之方式根據圍繞病例之特定情形來確定，包括例如所投與之特定試劑、投與途徑及所治療之個體或宿主。在一些情況下，所要劑量宜以單次劑量或分次劑量呈遞，該等分次劑量同時(或在較短時間段內)投與或以適當的時間間隔投與，例如每天兩次、三次、四次或更多次子劑量。

【0521】 前述範圍僅為建議範圍，因為關於個別治療方案之變數的數目較大，且與此等推薦值有相當大的偏移並非不常見。此類劑量可視多個變數而改變，該等變數不限於所用化合物之活性、待治療之疾病或病狀、投與模式、個別個體之要求、所治療之疾病或病狀之嚴重程度及醫師

判斷。

【0522】 在一些實施例中，此類治療方案之毒性及治療功效藉由標準醫藥程序在細胞培養物或實驗動物中測定，包括但不限於測定LD50 (群體50%致死的劑量)及ED50 (群體50%治療有效的劑量)。毒性與治療效果之間的劑量比為治療指數，且其可表示為LD50與ED50之間的比率。展現高治療指數之化合物為較佳的。自細胞培養分析及動物研究獲得之資料用於調配用於人類之劑量範圍。此類化合物之劑量較佳處於包括具有最小毒性之ED50的循環濃度之範圍內。劑量視所採用劑型及所用投與途徑而在此範圍內變化。

套組/製品

【0523】 在某些實施例中，本文揭示與一或多種本文所述之方法及組合物一起使用之套組及製品。此類套組包括載劑、封裝或經分隔以收容一或多個容器(諸如小瓶、管及其類似物)之容器，一或多個容器中之每一者包含待用於本文所述方法之分開的元件中之一者。適合容器包括例如瓶子、小瓶、注射器及試管。在一個實施例中，容器由多種材料(諸如玻璃或塑膠)形成。

【0524】 在一些實施例中，套組包含適用於產生授受細胞療法之製品。在一些實施例中，套組包含本文所揭示之細胞介素(例如IL-2)多肽或細胞介素(例如IL-2)結合物中之一或多者，及視情況存在之一或多種本文所描述之醫藥賦形劑以促進細胞介素(例如IL-2)多肽或細胞介素(例如IL-2)結合物之遞送。此類套組可視情況包括一或多種附屬組分，其包含T細胞受體信號傳導或調節之誘導劑(例如檢查點抗體、CD3/CD28抗體、主要組織相容複合體(MHC)及其類似物)，或替代性細胞介素或細胞介素受

體促效劑。此類套組進一步視情況包括與其在本文所描述之方法中之用途相關的識別描述或標籤或說明書。在一些實施例中，套組包含一或多種編碼以下的聚核酸序列：本文所揭示之IL-2結合物、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子，及/或其醫藥組合物。

【0525】 ***增生性及感染性疾病套組及製品***

【0526】 在一些實施例中，本文揭示包含經分離及修飾之介白素2(IL-2)多肽之套組，該多肽包含在多肽上之位置處的至少一個非天然胺基酸，該位置降低經修飾之IL-2多肽與介白素2受體α (IL-2Rα)之間的結合，但保持與介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)信號傳導複合物之顯著結合，以形成IL-2/IL-2Rβγ複合物，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，與IL-2Rα結合降低包含相對於野生型IL-2多肽約30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%之結合親和力降低。在一些實施例中，與IL-2Rα結合降低包含相對於野生型IL-2多肽3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多之降低。

【0527】 在一些實施例中，本文揭示包含經分離及修飾之介白素2(IL-2)多肽的套組，該多肽包含至少一個非天然胺基酸，其中經分離及修飾之IL-2多肽展現對IL-2βγ信號傳導複合物之第一受體信號傳導效能及對IL-2αβγ信號傳導複合物之第二受體信號傳導效能，且其中第一受體信號傳導效能與第二受體信號傳導效能之間的差異小於10倍。在一些實施例中，受體信號傳導效能差異小於5倍、小於4倍、小於3倍、小於2倍或小於1倍。

【0528】 在一些實施例中，本文揭示包含編碼在多肽上之位置處包含至少一個非天然胺基酸的經修飾之介白素2 (IL-2)多肽之聚核苷酸序列的套組，該位置降低經修飾之IL-2多肽與介白素2受體α (IL-2Rα)之間的結合，但保持與介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)信號傳導複合物之顯著結合，以形成IL-2/IL-2Rβγ複合物，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0529】 在一些實施例中，本文揭示包含編碼包含至少一個非天然胺基酸的經修飾之介白素2 (IL-2)多肽之聚核苷酸序列的套組，其中經分離及修飾之IL-2多肽展現對IL-2βγ信號傳導複合物之第一受體信號傳導效能及對IL-2αβγ信號傳導複合物之第二受體信號傳導效能，且其中第一受體信號傳導效能與第二受體信號傳導效能之間的差異小於10倍。在一些實施例中，受體信號傳導效能差異小於5倍、小於4倍、小於3倍、小於2倍或小於1倍。

【0530】 ***自體免疫套組及製品***

【0531】 在一些實施例中，本文揭示包含經分離及修飾之介白素2 (IL-2)多肽之套組，該多肽包含在多肽上之位置處的至少一個非天然胺基酸，該位置降低對介白素2受體βγ (IL-2Rβγ)之受體信號傳導效能或降低IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集，但保持介白素2 αβγ受體(IL-2Rαβγ)之顯著活化，其中受體信號傳導效能降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rβγ之間的受體信號傳導效能相比，且其中募集係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rγ次單元之募集相比。

【0532】 在一些實施例中，本文揭示包含經分離及修飾之介白素2 (IL-2)多肽之套組，該多肽包含在多肽上之位置處的至少一個非天然胺基

酸，增加IL-2Rα次單元向IL-2多肽之募集，引起介白素2 αβγ受體(IL-2Rαβγ)之活化，其中募集增加係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rα次單元之募集相比。

【0533】 在一些實施例中，與IL-2Rβγ受體信號傳導效能降低之經修飾之IL-2多肽能夠擴增CD4+ T調節(Treg)細胞。在一些實施例中，結合部分減少或阻斷IL-2與IL-2Rβγ的受體信號傳導效能，或降低IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集。在一些實施例中，經修飾IL-2/IL-2Rαβγ複合物之CD4+ Treg細胞增殖等於或大於野生型IL-2多肽的細胞增殖。在一些實施例中，經修飾之IL-2/IL-2Rαβγ複合物誘導CD4+ Treg細胞增殖至足以調節動物模型中之疾病病程之群體。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽展現對IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能及對IL-2Rαβγ之第二受體信號傳導效能，其中與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能係至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍、500倍、1000倍或更低。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽之第一受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽對IL-2Rβγ之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽之第二受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽對IL-2Rαβγ之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽進一步提供IL-2Rα次單元向IL-2多肽之募集增加，引起介白素2 αβγ受體(IL-2Rαβγ)之活化，其中募集增加係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rα次單元之募集相比。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽進一步提供IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集降低，其中募集降低係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rβ次單元及/或IL-2Rγ次單元之募集相比。

【0534】在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸在以上經修飾之IL-2多肽中之位置選自K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E60、E61、E62、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105及Y107，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置35、37、38、41、42、43、44、45、61、62、64、65、68、69、71、72、104、105及107。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、P65、E68及L72，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置37、38、41、42、43、44、45、61、62、65、68及72。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K35、K64、V69、N71、M104、C105及Y107，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置35、64、69、71、104、105及107。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自T37、R38、T41、Y45、E61、E68及L72，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置37、38、41、45、61、68及72。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自F42、K43、F44、E62及P65，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置42、43、44、62及65。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自P2、T3、S4、S5、S6、T7、K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、G27、N29、N30、Y31、K32、K35、T37、M46、K47、K48、A50、T51、E52、K53、H55、Q57、E60、E67、N71、Q74、S75、K76、N77、F78、H79、R81、P82、R83、D84、S87、N88、N89、V91、I92、L94、E95、K97、G98、S99、E100、T101、T102、F103、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111、A112、T113、

E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、R81、D84、S87、N88、V91、I92、L94、E95、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自P2、T3、S4、S5、S6、T7、G27、N29、N30、Y31、K32、K35、T37、M46、K47、K48、A50、T51、E52、K53、H55、Q57、E60、E67、N71、Q74、S75、K76、N77、F78、H79、P82、R83、N89、K97、G98、S99、E100、T101、T102、F103、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111、A112及T113，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K8、K9、L12、E15、H16、L19、D20、Q22、M23、N26、D84、N88、E95及Q126，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K8、K9及H16，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自Q22、N26、N88及Q126，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自E15、D20、D84及E95，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自L12、L19及M23，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自Q22及N26，其中胺基酸殘基之編號對

應於SEQ ID NO: 1。

【0535】 *一般套組及製品*

【0536】 在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸：係離胺酸類似物；包含芳族側鏈；包含疊氮基；包含炔基；或包含醛或酮基團。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸不包含芳族側鏈。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK；其化學結構在圖3C中展示為化合物90)、N6-(炔丙氧基)-羰基)-L-離胺酸(PraK；其化學結構在圖3C中展示為化合物112)、BCN-L-離胺酸、降冰片烯離胺酸、TCO-離胺酸、甲基四嗪離胺酸、烯丙基氧基羰基離胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、2-胺基-8-側氧基辛酸、對乙醯基-L-苯丙胺酸、對疊氮基甲基-L-苯丙胺酸(pAMF)、對碘-L-苯丙胺酸、間乙醯基苯丙胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、對炔丙基氧基苯丙氨酸、對炔丙基-苯丙胺酸、3-甲基-苯丙胺酸、左旋多巴(L-Dopa)、氟化苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、對疊氮基-L-苯丙胺酸、對醯基-L-苯丙胺酸、對苯甲醯基-L-苯丙胺酸、對溴苯基丙胺酸、對胺基-L-苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、O-烯丙基酪胺酸、O-甲基-L-酪胺酸、O-4-烯丙基-L-酪胺酸、4-丙基-L-酪胺酸、膦醯基酪胺酸、參O-乙醯基-GlcNAcp-絲胺酸、L-磷絲胺酸、膦醯基絲胺酸、L-3-(2-萘基)丙胺酸、2-胺基-3-((2-((3-(苯甲氧基)-3-側氧基丙基)胺基)乙基)硒烷基)丙酸、2-胺基-3-(苯基硒烷基)丙酸或硒半胱胺酸。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK；其化學結構在圖3C中展示為化合物90)或N6-(炔丙氧基)-羰基)-L-離胺酸(PraK；其化學結構在圖3C中展示為化合物112)。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰

基)-L-離胺酸(AzK；其化學結構在圖3C中展示為化合物90)。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含N6-(炔丙氧基)-羰基)-L-離胺酸(PraK；其化學結構在圖3C中展示為化合物112)。

【0537】 在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含炔烴，其允許與包含水溶性聚合物之結合部分反應，該水溶性聚合物包含聚乙二醇(PEG)、聚(丙二醇) (PPG)、乙二醇及丙二醇之共聚物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯烴醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(POZ)、聚(N-丙烯醯嗎啉)或其組合。在一些實施例中，水溶性聚合物包含PEG分子。

【0538】 在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含結合部分。在一些實施例中，結合部分包含水溶性聚合物、脂質、蛋白質及/或肽。在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚乙二醇(PEG)、聚(丙二醇) (PPG)、乙二醇及丙二醇之共聚物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯烴醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(POZ)、聚(N-丙烯醯嗎啉)或其組合。在一些實施例中，水溶性聚合物包含PEG分子。

【0539】 在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，結合部分包含與小於結合部分之PEG的活體內血漿半衰期相比，與經修飾之IL-2多肽的更長活體內血漿半衰期對應的PEG分子。在一些情況下，結合部分包含與大於結合部分之PEG的活體內血漿半衰期相比，與經修飾之IL-2多肽的更短活體內血漿半衰期對應的PEG分子。

【0540】 在一些實施例中，PEG之分子量對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾IL-2/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0541】 在一些實施例中，PEG分子為直鏈PEG。在一些實施例中，其中PEG分子係分支鏈PEG。在一些實施例中，PEG包含約2,000-50,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，PEG之分子量包含約5,000 Da、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些情況下，PEG為5,000 Da。在一些情況下，PEG為10,000 Da。在一些情況下，PEG為15,000 Da。在一些情況下，PEG為20,000 Da。在一些情況下，PEG為25,000 Da。在一些情況下，PEG為30,000 Da。在一些情況下，PEG為35,000 Da。在一些情況下，PEG為40,000 Da。在一些情況下，PEG為45,000 Da。在一些情況下，PEG為50,000 Da。

【0542】 本文所提供之製品含有封裝材料。醫藥封裝材料之實例包括但不限於泡殼包裝、瓶子、管、袋、容器、瓶子及適於所選調配物及預期投與及治療模式之任何封裝材料。

【0543】 舉例而言，一或多個容器包括一或多種包含以下之經修飾之IL-2多肽：K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E60、E61、E62、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105或Y107，

其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之35、37、38、41、42、43、44、45、61、62、64、65、68、69、71、72、104、105及107。在一些實施例中，包含T37，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置35、37、38、41、42、43、44、45、61、62、64、65、68、69、71、72、104、105及107的經修飾之IL-2多肽包含分子量為約2,000-50,000 Da的PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0544】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置38之殘基R38處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0545】在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置41之殘基T41處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000

Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0546】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置42之殘基F42處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在

一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0547】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置43之殘基K43處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經

修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0548】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置44之殘基F44處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修

飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0549】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置45之殘基Y45處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾

之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0550】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置60之殘基E60處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修

飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0551】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置61之殘基E61處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0552】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置62之殘基

E62處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0553】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置64之殘基K64處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量

包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0554】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置65之殘基P65處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含

40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0555】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置68之殘基E68處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體

內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0556】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置69之殘基V69處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分

子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0557】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置71之殘基N71處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持

結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0558】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置72之殘基L72處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生

型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0559】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置104之殘基M104處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0560】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置105之殘基C105處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含

分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0561】 在一些實施例中，在對應於SEQ ID NO: 1之位置107之殘基Y107處包含突變的經修飾之IL-2多肽包含結合部分，該結合部分包含分子量為約2,000-50,000 Da之PEG。在一些實施例中，分子量包含5,000 Da。在一些實施例中，分子量包含10,000 Da。在一些實施例中，分子量包含15,000 Da。在一些實施例中，分子量包含20,000 Da。在一些實施例

中，分子量包含25,000 Da。在一些實施例中，分子量包含30,000 Da。在一些實施例中，分子量包含35,000 Da。在一些實施例中，分子量包含40,000 Da。在一些實施例中，分子量包含45,000 Da。在一些實施例中，分子量包含50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量至少部分確定經修飾之IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些情況下，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些情況下，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響，或影響很小。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。

【0562】 套組通常包括列出內容物之標籤及/或使用說明書，及具有使用說明書之包裝插頁。通常亦將包括一組指令。

【0563】 在一個實施例中，標籤在容器上或與容器關聯。在一個實施例中，當形成標籤之字母、數字或其他字符附著、模製或蝕刻於容器自身中時，標籤在容器上；當標籤存在於亦保持容器之收容器或載體內時，例如呈包裝插頁形式，標籤與容器關聯。在一個實施例中，標籤用於指示待用於特定治療性應用之內容物。標籤亦指示內容物之使用說明，諸如在本文所描述之方法中。

【0564】 在某些實施例中，醫藥組合物呈現於含有一或多個含有本文所提供化合物之單位劑型的包裝或分配器裝置中。包裝例如含有金屬或塑膠箔，諸如泡殼包裝。在一個實施例中，包裝或分配器裝置附有投與說明書。在一個實施例中，封裝或分配器亦附有與容器關聯之注意事項，其呈管製醫藥品之製造、使用或銷售之政府機構指定的形式，該注意事項反映該機構批准該藥物用於人類或獸醫學投與的形式。此類注意事項例如為美國食品藥物管理局批准用於藥物之標籤或經批准之產品插頁。在一個實施例中，亦製備於相容醫藥載劑中調配之含有本文所提供之化合物之組合物，將其置於適當的容器中且標記以用於治療所指示之病狀。

實施例

【0565】 在某些實施例中，本文揭示細胞介素結合物及在治療一或多種適應症中之用途。在一些實施例中，本文描述亦包括介白素2 (IL-2)結合物及在治療一或多種適應症中之用途。在一些情況下，一或多種適應症包含癌症、病原性感染或自體免疫疾病。在一些情況下，本文描述調節IL-2與IL-2受體之間的相互作用以刺激或擴增特異性T細胞、自然殺手(NK)細胞及/或自然殺手T (NKT)細胞群體之方法。在一些實施例中，IL-2結合物包含結合部分(例如PEG)，其促進活體內血漿半衰期增加或降低而不影響藥物動力學，其包括所要細胞介素-受體相互作用及免疫細胞擴增。在額外情況下，本文進一步描述包含一或多種本文所述之介白素結合物(例如IL-2結合物)的醫藥組合物及套組，該一或多種介白素結合物可適用作產生授受細胞療法以治療一或多種本文所述之適應症的試劑。

【0566】 本文所揭示之態樣提供在多肽上之位置處包含至少一個非天然胺基酸之經分離及修飾之介白素2 (IL-2)多肽，該位置降低經修飾之

IL-2多肽與介白素2受體α (IL-2Rα)之間的結合，但保持與介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)信號傳導複合物之顯著結合，以形成IL-2/IL-2Rβγ複合物，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，受體信號傳導效能差異小於5倍、小於4倍、小於3倍、小於2倍或小於1倍。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E60、E61、E62、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105、Y107，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置35、37、38、41、42、43、44、45、61、62、64、65、68、69、71、72、104、105及107。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、P65、E68及L72，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置37、38、41、42、43、44、45、61、62、65、68及72。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K35、K64、V69、N71、M104、C105及Y107，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置35、64、69、71、104、105及107。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自T37、R38、T41、Y45、E61、E68及L72，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置37、38、41、45、61、68及72。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自F42、K43、F44、E62及P65，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置42、43、44、62及65。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸：係離胺酸類似物；包含芳族側鏈；包含疊氮基；包含炔基；或包含醛或酮基團。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸不包含芳族側鏈。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離

胺酸(AzK；其化學結構在圖3C中展示為化合物90)、N6-(炔丙氧基)-羰基)-L-離胺酸(PraK)、BCN-L-離胺酸、降冰片烯離胺酸、TCO-離胺酸、甲基四嗪離胺酸、烯丙基氧基羰基離胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、2-胺基-8-側氧基辛酸、對乙醯基-L-苯丙胺酸、對疊氮基甲基-L-苯丙胺酸(pMF)、對碘-L-苯丙胺酸、間乙醯基苯丙胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、對炔丙基氧基苯丙氨酸、對炔丙基-苯丙胺酸、3-甲基-苯丙胺酸、左旋多巴、氟化苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、對疊氮基-L-苯丙胺酸、對醯基-L-苯丙胺酸、對苯甲醯基-L-苯丙胺酸、對溴苯基丙胺酸、對胺基-L-苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、O-烯丙基酪胺酸、O-甲基-L-酪胺酸、O-4-烯丙基-L-酪胺酸、4-丙基-L-酪胺酸、膦醯基酪胺酸、參O-乙醯基-GlcNcp-絲胺酸、L-磷絲胺酸、膦醯基絲胺酸、L-3-(2-萘基)丙胺酸、2-胺基-3-((2-((3-(苯甲氧基)-3-側氧基丙基)胺基)乙基)硒烷基)丙酸、2-胺基-3-(苯基硒烷基)丙酸或硒半胱胺酸。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸藉由正交tRNA合成酶/tRNA對併入至經修飾之IL-2多肽中。在一些實施例中，正交合成酶/tRNA對之正交tRNA包含至少一個非天然核鹼基。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽經由至少一個非天然胺基酸共價連接至結合部分。在一些實施例中，結合部分包含水溶性聚合物、脂質、蛋白質及/或肽。在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚乙二醇(PEG)、聚(丙二醇) (PPG)、乙二醇及丙二醇之共聚物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯烴醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(POZ)、聚(N-丙烯醯嗎啉)或其組合。在一些實施例中，水溶性聚合物包含PEG分子。在一些實施例中，PEG分子為直鏈PEG。在一些實施例中，

PEG分子係分支鏈PEG。在一些實施例中，PEG包含約2,000-50,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，PEG之分子量包含約5,000 Da、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，分子量至少部分地確定IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些實施例中，水溶性聚合物包含多醣。在一些實施例中，多醣包含聚葡萄糖、聚唾液酸(PSA)、玻尿酸(HA)、直鏈澱粉、肝素、硫酸乙醯肝素(HS)、糊精或羥乙基澱粉(HES)。在一些實施例中，脂質包含脂肪酸。在一些實施例中，脂肪酸包含約6至約26個碳原子、約6至約24個碳原子、約6至約22個碳原子、約6至約20個碳原子、約6至約18個碳原子、約20至約26個碳原子、約12至約26個碳原子、約12至約24個碳原子、約12至約22個碳原子、約12至約20個碳原子或約12至約18個碳原子。在一些實施例中，脂肪酸為飽和脂肪酸。在一些實施例中，蛋白質包含白蛋白、運鐵蛋白或甲狀腺素運載蛋白。在一些實施例中，結合部分包含TLR促效劑。在一些實施例中，蛋白質包含抗體或其結合片段。在一些實施例中，抗體或其結合片段包含抗體之Fc部分。在一些實施例中，肽包含XTEN肽、富甘胺酸高胺基酸聚合物(HAP)、PAS多肽、彈性蛋白樣多肽(ELP)、CTP肽或明膠樣蛋白質(GLK)聚合物。在一些實施例中，結合部分經由連接子間接結合至經修飾之IL-2之至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，連接子包含同型雙官能連接子、異型雙官能連接子、零長度連接子、可裂解或不可裂解二肽連接子、順丁烯二醯亞胺基、間隔子或其組合。在一些實施例中，相對於野生型IL-2多肽，結合親和力降低係與IL-2Rα之結合親和力降低約30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。在一些實施例中，相對於

野生型IL-2多肽，與IL-2Rα之結合親和力降低約3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更大。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽為：全長IL-2多肽之功能活性片段；重組IL-2多肽；或重組人類IL-2多肽。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含N端缺失、C端缺失或其組合。在一些實施例中，N端缺失包含自N端缺失前1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25或30個殘基，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，C端缺失包含自C端缺失最後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20或更多個殘基，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，功能活性片段包含IL-2區10-133、20-133、30-133、10-130、20-130、30-130、10-125、20-125、30-125、1-130或1-125，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 1約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些實施例中，與IL-2Rα之結合親和力降低之經修飾之IL-2多肽能夠擴增CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、CD8+ T細胞、自然殺手(NK)細胞、自然殺手T (NKT)細胞群體或其組合。在一些實施例中，結合部分或非天然胺基酸減少或阻斷IL-2與IL-2Rα之結合。在一些實施例中，相對於野生型IL-2多肽，CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體藉由經修飾之IL-2多肽經由IL-2Rβγ複合物之活化保持該細胞群體之顯著活化效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能高於野生型IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能低於野生

型IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽展現對IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能及對IL-2Rαβγ之第二受體信號傳導效能，且其中與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能係至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍、500倍或更高。其中經修飾之IL-2多肽之第一受體信號傳導效能高於野生型IL-2多肽對IL-2Rβγ之受體信號傳導效能，且經修飾之IL-2多肽之第二受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽對IL-2Rαβγ之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽之第一受體信號傳導效能比野生型IL-2多肽之受體信號傳導效能低至少1倍。

【0567】 本文所揭示之態樣提供包含至少一個非天然胺基酸之經分離及修飾之介白素2 (IL-2)多肽，其中經分離及修飾之IL-2多肽展現對IL-2βγ信號傳導複合物之第一受體信號傳導效能及對IL-2αβγ信號傳導複合物之第二受體信號傳導效能，且其中第一受體信號傳導效能與第二受體信號傳導效能之間的差異小於10倍。在一些實施例中，受體信號傳導效能差異小於5倍、小於4倍、小於3倍、小於2倍或小於1倍。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E60、E61、E62、K64、P65、E68、V69、N71、L72、M104、C105、Y107，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置35、37、38、41、42、43、44、45、61、62、64、65、68、69、71、72、104、105及107。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、P65、E68及L72，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置37、38、41、

42、43、44、45、61、62、65、68及72。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K35、K64、V69、N71、M104、C105及Y107，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置35、64、69、71、104、105及107。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自T37、R38、T41、Y45、E61、E68及L72，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置37、38、41、45、61、68及72。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自F42、K43、F44、E62及P65，其中殘基位置對應於如SEQ ID NO: 1中所述之位置42、43、44、62及65。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸：係離胺酸類似物；包含芳族側鏈；包含疊氮基；包含炔基；或包含醛或酮基團。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸不包含芳族側鏈。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK；其化學結構在圖3C中展示為化合物90)、N6-(炔丙氧基)-羰基)-L-離胺酸(PraK)、BCN-L-離胺酸、降冰片烯離胺酸、TCO-離胺酸、甲基四嗪離胺酸、烯丙基氧基羰基離胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、2-胺基-8-側氧基辛酸、對乙醯基-L-苯丙胺酸、對疊氮基甲基-L-苯丙胺酸(pAMF)、對碘-L-苯丙胺酸、間乙醯基苯丙胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、對炔丙基氧基苯丙氨酸、對炔丙基-苯丙胺酸、3-甲基-苯丙胺酸、左旋多巴、氟化苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、對疊氮基-L-苯丙胺酸、對醯基-L-苯丙胺酸、對苯甲醯基-L-苯丙胺酸、對溴苯基丙胺酸、對胺基-L-苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、O-烯丙基酪胺酸、O-甲基-L-酪胺酸、O-4-烯丙基-L-酪胺酸、4-丙基-L-酪胺酸、膦醯基酪胺酸、參O-乙醯基-GlcNAcp-絲胺酸、L-磷絲胺酸、膦醯基絲胺酸、L-3-(2-萘基)丙胺酸、2-胺基-3-((2-((3-(苯甲氧基)-3-側氧基

丙基)胺基)乙基)硒烷基)丙酸、2-胺基-3-(苯基硒烷基)丙酸或硒半胱胺酸。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸藉由正交tRNA合成酶/tRNA對併入至經修飾之IL-2多肽中。在一些實施例中，正交合成酶/tRNA對之正交tRNA包含至少一個非天然核鹼基。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽經由至少一個非天然胺基酸共價連接至結合部分。在一些實施例中，結合部分包含水溶性聚合物、脂質、蛋白質及/或肽。在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚乙二醇(PEG)、聚(丙二醇) (PPG)、乙二醇及丙二醇之共聚物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯烴醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(POZ)、聚(N-丙烯醯嗎啉)或其組合。在一些實施例中，水溶性聚合物包含PEG分子。在一些實施例中，PEG分子為直鏈PEG。在一些實施例中，PEG分子係分支鏈PEG。在一些實施例中，PEG包含約2,000-50,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，PEG之分子量包含約5,000 Da、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，分子量至少部分地確定IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些實施例中，水溶性聚合物包含多醣。在一些實施例中，多醣包含聚葡萄糖、聚唾液酸(PSA)、玻尿酸(HA)、直鏈澱粉、肝素、硫酸乙醯肝素(HS)、糊精或羥乙基澱粉(HES)。在一些實施例中，脂質包含脂肪酸。在一些實施例中，脂肪酸包含約6至約26個碳原子、約6至約24個碳原子、約6至約22個碳原子、約6至約20個碳原子、約6至約18個碳原子、約20至約26個碳原子、約12至約26個碳原子、約12至約24個碳原子、約12至約22個碳原子、約12至約20個碳原子或約12至約18個碳原子。在一

些實施例中，脂肪酸為飽和脂肪酸。在一些實施例中，蛋白質包含白蛋白、運鐵蛋白或甲狀腺素運載蛋白。在一些實施例中，結合部分包含TLR促效劑。在一些實施例中，蛋白質包含抗體或其結合片段。在一些實施例中，抗體或其結合片段包含抗體之Fc部分。在一些實施例中，肽包含XTEN肽、富甘胺酸高胺基酸聚合物(HAP)、PAS多肽、彈性蛋白樣多肽(ELP)、CTP肽或明膠樣蛋白質(GLK)聚合物。在一些實施例中，結合部分經由連接子間接結合至經修飾之IL-2之至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，連接子包含同型雙官能連接子、異型雙官能連接子、零長度連接子、可裂解或不可裂解二肽連接子、順丁烯二醯亞胺基、間隔子或其組合。在一些實施例中，相對於野生型IL-2多肽，結合親和力降低係與IL-2Rα之結合親和力降低約30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。在一些實施例中，相對於野生型IL-2多肽，與IL-2Rα之結合親和力降低約3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更大。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽為：全長IL-2多肽之功能活性片段；重組IL-2多肽；或重組人類IL-2多肽。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含N端缺失、C端缺失或其組合。在一些實施例中，N端缺失包含自N端缺失前1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25或30個殘基，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，C端缺失包含自C端缺失最後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20或更多個殘基，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，功能活性片段包含IL-2區10-133、20-133、30-133、10-130、20-130、30-130、10-125、20-125、30-125、1-130或1-125，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位

置。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 1約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些實施例中，與IL-2Rα之結合親和力降低之經修飾之IL-2多肽能夠擴增CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、CD8+ T細胞、自然殺手(NK)細胞、自然殺手T (NKT)細胞群體或其組合。在一些實施例中，結合部分或非天然胺基酸減少或阻斷IL-2與IL-2Rα之結合。在一些實施例中，相對於野生型IL-2多肽，CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體藉由經修飾之IL-2多肽經由IL-2Rβγ複合物之活化保持該細胞群體之顯著活化效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能高於野生型IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽對IL-2Rβγ複合物之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽展現對IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能及對IL-2Rαβγ之第二受體信號傳導效能，且其中與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能係至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍、500倍或更高。其中經修飾之IL-2多肽之第一受體信號傳導效能高於野生型IL-2多肽對IL-2Rβγ之受體信號傳導效能，且經修飾之IL-2多肽之第二受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽對IL-2Rαβγ之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽之第一受體信號傳導效能比野生型IL-2多肽之受體信號傳導效能低至少1倍。

【0568】 本文所揭示之態樣提供包含共價連接至結合部分之非天然胺基酸的介白素2 (IL-2)結合物，其中非天然胺基酸位於區35-107中，且

其中區35-107對應於SEQ ID NO: 1之殘基K35-Y107。在一些實施例中，非天然胺基酸位於區42中，且其中區42對應於殘基F42。在一些實施例中，結合部分包含分子量為2,000-50,000道爾頓(Da)之水溶性聚合物。在一些實施例中，結合部分包含分子量為5,000 Da、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da之水溶性聚合物。在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚乙二醇(PEG)、聚(丙二醇) (PPG)、乙二醇及丙二醇之共聚物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯烴醇)、聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(POZ)、聚(N-丙烯醯嗎啉)或其組合。在一些實施例中，分子量至少部分地確定IL-2結合物之活體內血漿半衰期。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置61之殘基E61處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。

【0569】 本文所揭示之態樣提供介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白對介白素2 α受體(IL-2Rα)的結合親和力小於野生型人類IL-2 (hIL-2)的結合親和力，且其中該結合蛋白包含至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，該結合蛋白為經修飾之IL-2多肽或其功能活性片段，其中經修飾之IL-2多肽包含至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸位於區35-107中，且其中區35-107對應於SEQ ID NO: 1之殘基K35-Y107。

【0570】 本文所揭示之態樣提供包含經修飾之IL-2多肽(其包含非天然胺基酸)及IL-2Rβγ之IL-2/IL-2Rβγ複合物，其中經修飾之IL-2多肽對IL-2Rα具有降低之結合親和力，且其中結合親和力降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合親和力相比。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽進一步包含共價連接至非天然胺基酸之結合部分。

【0571】 本文所揭示之態樣提供選擇性擴增細胞群體中之CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、CD8+ T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子，其中該活化因子包含經修飾之介白素2 (IL-2)多肽，其包含至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，當該活化因子與該細胞群體接觸時，該活化因子使CD4+ T調節(Treg)細胞擴增小於20%、15%、10%、5%、1%或0.1%。在一些實施例中，該活化因子不擴增該細胞群體中之Treg細胞。在一些實施例中，該細胞群體為活體內細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為活體外細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為離體細胞群體。

【0572】 本文所揭示之態樣提供醫藥組合物，其包含：本文所述之

經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2結合物、本文所述之IL-2Rβγ結合蛋白或本文所述之CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子；及醫藥學上可接受之賦形劑。在一些實施例中，醫藥組合物經調配用於全身遞送。在一些實施例中，醫藥組合物經調配用於非經腸投與。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置42對應之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，其中IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置42對應之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約10,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置42對應之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約15,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置42對應之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約20,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置42對應之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約25,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置42對應之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約30,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置65對應之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置65對應之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含

約10,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置65對應之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約15,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置65對應之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約20,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置65對應之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約25,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置65對應之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約30,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置62對應之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置62對應之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約10,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置62對應之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約15,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置62對應之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約20,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置62對應之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約25,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，IL-2多肽或IL-2結合物包含與SEQ ID NO: 1之殘基位置62對應之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部

分，該PEG之分子量包含約30,000道爾頓(Da)。

【0573】本文所揭示之態樣提供治療有需要之個體之疾病或病狀的方法，其包含向個體投與治療有效量之本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2結合物、本文所述之IL-2Rβγ結合蛋白、本文所述之CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子，或本文所述之醫藥組合物。在一些實施例中，疾病或病狀為癌症。在一些實施例中，癌症為實體腫瘤癌症。在一些實施例中，實體腫瘤癌症為膀胱癌、骨癌、腦癌、乳癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰臟癌或前列腺癌。在一些實施例中，癌症為惡性血液病。在一些實施例中，惡性血液病為慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴球性淋巴瘤(SLL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症、多發性骨髓瘤、結外邊緣區B細胞淋巴瘤、結邊緣區B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、非伯基特高級B細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤(PMBL)、免疫胚細胞大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴球性白血病、淋巴漿細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞瘤、縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤或淋巴瘤樣肉芽腫。在一些實施例中，疾病或病狀包含病原性感染。在一些實施例中，病原性感染包含反轉錄病毒、病毒、去氧核糖核酸(DNA)病毒或核糖核酸(RNA)病毒或其組合。在一些實施例中，RNA病毒包含反義單股(ss) RNA病毒、正義ssRNA病毒或雙股(ds) RNA病毒。在一些實施例中，DNA病毒包含單股(ss) DNA病毒或雙股(ds) DNA病毒。在一些實施例中，疾病或病狀包含

自體免疫疾病。在一些實施例中，疾病或病狀包含斑禿、自體免疫溶血性貧血、自體免疫肝炎、皮肌炎、1型糖尿病、幼年特發性關節炎、絲球體腎炎、格雷夫氏疾病、格-巴二氏症候群、特發性血小板減少性紫斑病、重症肌無力、多發性硬化、天疱瘡／類天疱瘡、惡性貧血、結節性多動脈炎、多發性肌炎、原發性膽汁性肝硬化、牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病、休格倫氏症候群、全身性紅斑性狼瘡症、甲狀腺炎、葡萄膜炎、白斑病或韋格納氏肉芽腫病或其組合。在一些實施例中，方法進一步包含投與額外治療劑。在一些實施例中，同時投與經分離及修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或醫藥組合物，及額外治療劑。在一些實施例中，依序投與經分離及修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或醫藥組合物，及額外治療劑。在一些實施例中，在額外治療劑之前投與經分離及修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或醫藥組合物。在一些實施例中，在投與額外治療劑之後投與經分離及修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或醫藥組合物。

【0574】 本文所揭示之態樣提供一種擴增CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞群體之方法，其包含：使細胞群體與本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽、本文所

述之任一者之IL-2結合物、本文所述之IL-2結合物、本文所述之IL-2Rβγ結合蛋白、本文所述之CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、CD8+ T細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或本文所述之醫藥組合物接觸，持續足以誘導與IL-2Rβγ形成複合物之時間，由此刺激Teff、CD8+ T細胞及/或NK細胞群體之擴增。在一些實施例中，相較於與野生型IL-2多肽接觸之CD3+細胞群體中之CD4+ Treg細胞之擴增，經分離及修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或醫藥組合物使CD3+細胞群體中CD4+ T調節(Treg)細胞擴增小於20%、15%、10%、5%或1%。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或醫藥組合物不擴增細胞群體中之CD4+ Treg細胞。在一些實施例中，在與經分離及修飾之IL-2多肽、IL-2結合物、IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子或醫藥組合物一起培育之後，細胞群體中之Teff細胞與Treg細胞之比率為約或至少2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、20:1、50:1或100:1。在一些實施例中，方法為活體內方法。在一些實施例中，方法為活體外方法。在一些實施例中，方法為離體方法。在一些實施例中，個體為人類。

【0575】 本文所揭示之態樣提供包含以下中之一或多者的套組：本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2結合物、本文所述之IL-2Rβγ結合蛋白、本文所述之CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細

胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子及/或本文所述之醫藥組合物。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，

PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置62之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置62之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與

經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000

Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。

【0576】 本文所揭示之態樣提供一種套組，其包含一或多種編碼以下的聚核酸序列：本文所述之IL-2多肽、本文所述之IL-2結合物、本文所述之IL-2Rβγ結合蛋白、CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞之活化因子，及/或本文所述之醫藥組合物。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與

IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置62之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da，例如5 kD或5 kDa)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對

應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置62之殘基E62處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活

體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rα的所要結合降低或與IL-2Rβγ信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rα之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。

【0577】 本文所揭示之態樣提供包含免疫細胞及本文所述之經分離

及修飾之IL-2多肽，及/或本文所述之IL-2結合物的細胞培養系統。在一些實施例中，免疫細胞包含CD4+輔助細胞、CD8+效應原生及記憶T細胞、CD8+細胞、自然殺手(NK)細胞或自然殺手T (NKT)細胞。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽或IL-2結合物可有效增強免疫細胞之擴增。

【0578】 本文所揭示之態樣提供用於製造授受細胞療法、本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽及/或本文所述之IL-2結合物的試劑。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置61之殘基E61處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量可有效地改良經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之可溶性。在一些實施例中，PEG之分子量可有效增加經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之穩定性。在一些實施例中，PEG之分子量可有效地提高經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之授受細胞療法之製造效率。

【0579】 本文所揭示之態樣提供在位置處包含至少一個非天然胺基酸之經分離及修飾之介白素2 (IL-2)多肽，該位置降低對介白素2受體βγ (IL-2Rβγ)之受體信號傳導效能或降低IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集，但保持介白素2 αβγ受體(IL-2Rαβγ)之顯著活化，其中受體信號傳導效能降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rβγ之間的受體信號傳導效能相比，且其中募集係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rγ次單元之募集相比。

【0580】 本文所揭示之態樣提供在位置處包含至少一個非天然胺基酸之經分離及修飾之介白素2 (IL-2)多肽，該位置增加IL-2Rα次單元向IL-2多肽之募集，引起介白素2 αβγ受體(IL-2Rαβγ)之活化，其中募集增加係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rα次單元之募集相比。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自A108、D109、E110、T111、A112、T113、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、R81、D84、S87、N88、V91、I92、L94、E95、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自P2、T3、S4、S5、S6、T7、K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、G27、N29、N30、Y31、K32、K35、T37、M46、K47、K48、A50、T51、E52、K53、H55、Q57、E60、E67、N71、Q74、S75、K76、N77、F78、H79、R81、P82、

R83、D84、S87、N88、N89、V91、I92、L94、E95、K97、G98、S99、E100、T101、T102、F103、M104、C105、E106、Y107，在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K8、K9、Q11、L12、E15、H16、L18、L19、D20、Q22、M23、N26、R81、D84、S87、N88、V91、I92、L94、E95、E116、N119、R120、T123、A125、Q126、S127、S130、T131、L132及T133，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自P2、T3、S4、S5、S6、T7、G27、N29、N30、Y31、K32、K35、T37、M46、K47、K48、A50、T51、E52、K53、H55、Q57、E60、E67、N71、Q74、S75、K76、N77、F78、H79、P82、R83、N89、K97、G98、S99、E100、T101、T102、F103、M104、C105、E106、Y107、A108、D109、E110、T111、A112及T113，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K8、K9、L12、E15、H16、L19、D20、Q22、M23、N26、D84、N88、E95及Q126，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自K8、K9及H16，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自Q22、N26、N88及Q126，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自E15、D20、D84及E95，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自L12、L19及M23，其中胺基酸殘基之編號對應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸之位置選自Q22及N26，其中胺基酸殘基之編號對

應於SEQ ID NO: 1。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸：係離胺酸類似物；係半胱胺酸類似物或組胺酸類似物；包含芳族側鏈；包含疊氮基；包含炔基；或包含醛或酮基團。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸不包含芳族側鏈。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸包含N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK；其化學結構在圖3C中展示為化合物90)、N6-(炔丙氧基)-羰基-L-離胺酸(PraK)、BCN-L-離胺酸、降冰片烯離胺酸、TCO-離胺酸、甲基四嗪離胺酸、烯丙基氧基羰基離胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、2-胺基-8-側氧基辛酸、對乙醯基-L-苯丙胺酸、對疊氮基甲基-L-苯丙胺酸(AMF)、對碘-L-苯丙胺酸、間乙醯基苯丙胺酸、2-胺基-8-側氧基壬酸、對炔丙基氧基苯丙氨酸、對炔丙基-苯丙胺酸、3-甲基-苯丙胺酸、左旋多巴、氟化苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、對疊氮基-L-苯丙胺酸、對醯基-L-苯丙胺酸、對苯甲醯基-L-苯丙胺酸、對溴苯基丙胺酸、對胺基-L-苯丙胺酸、異丙基-L-苯丙胺酸、O-烯丙基酪胺酸、O-甲基-L-酪胺酸、O-4-烯丙基-L-酪胺酸、4-丙基-L-酪胺酸、膦醯基酪胺酸、參O-乙醯基-GlcNA, cp-絲胺酸、L-磷絲胺酸、膦醯基絲胺酸、L-3-(2-萘基)丙胺酸、2-胺基-3-((2-((3-(苯甲氧基)-3-側氧基丙基)胺基)乙基)硒烷基)丙酸、2-胺基-3-(苯基硒烷基)丙酸或硒半胱胺酸。在一些實施例中，至少一個非天然胺基酸藉由正交tRNA併入至經修飾之IL-2多肽中。在一些實施例中，本文揭示之正交tRNA包含至少一個非天然核鹼基。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽經由至少一個非天然胺基酸共價連接至結合部分。在一些實施例中，結合部分包含水溶性聚合物、脂質、蛋白質或肽。在一些實施例中，水溶性聚合物包含聚乙二醇(PEG)、聚(丙二醇)(PPG)、乙二醇及丙二醇之共聚物、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯烴醇)、

聚(乙烯吡咯啶酮)、聚(羥烷基甲基丙烯醯胺)、聚(羥烷基甲基丙烯酸酯)、聚(醣)、聚(α-羥基酸)、聚(乙烯醇)、聚磷氮烯、聚噁唑啉(POZ)、聚(N-丙烯醯嗎啉)或其組合。在一些實施例中，水溶性聚合物包含PEG分子。在一些實施例中，PEG分子為直鏈PEG。在一些實施例中，PEG分子係分支鏈PEG。在一些實施例中，PEG包含約2,000-50,000道爾頓(Da)。在一些實施例中，PEG之分子量包含約5,000 Da、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，非天然胺基酸在SEQ ID NO: 1之殘基位置42中包含F42。在一些實施例中，非天然胺基酸在SEQ: 1之殘基位置65中包含P65。在一些實施例中，非天然胺基酸在SEQ ID NO: 1之殘基位置62中包含E62。在一些實施例中，在本文中分子量至少部分地確定IL-2多肽之活體內血漿半衰期。在一些實施例中，與更小PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更長的活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，與更大PEG之活體內血漿半衰期相比，PEG與經修飾之IL-2多肽之更短活體內血漿半衰期對應。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽對IL-2βγ或IL-2αβγ信號傳導複合物之受體信號傳導效能無影響。在一些實施例中，PEG之分子量對經修飾之IL-2多肽與IL-2Rβγ的所要結合降低或與IL-2Rβγα信號傳導複合物的所要維持結合無影響，或影響很小，其中與IL-2Rβγ之結合降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rβγα之間的結合相比。在一些實施例中，PEG之分子量不影響經修飾之IL-2多肽/IL-2Rβγ複合物之形成。在一些實施例中，水溶性聚合物包含多醣。在一些實施例中，多醣包含聚葡萄糖、聚唾液酸(PSA)、玻尿酸(HA)、直鏈澱粉、肝素、硫酸乙醯肝素(HS)、糊精或羥乙基澱粉(HES)。

在一些實施例中，脂質包含脂肪酸。在一些實施例中，脂肪酸包含約6至約26個碳原子、約6至約24個碳原子、約6至約22個碳原子、約6至約20個碳原子、約6至約18個碳原子、約20至約26個碳原子、約12至約26個碳原子、約12至約24個碳原子、約12至約22個碳原子、約12至約20個碳原子或約12至約18個碳原子。在一些實施例中，脂肪酸為飽和脂肪酸。在一些實施例中，蛋白質包含白蛋白、運鐵蛋白或甲狀腺素運載蛋白。在一些實施例中，蛋白質包含抗體或其結合片段。在一些實施例中，在本文中，抗體或其結合片段包含抗體之Fc部分。在一些實施例中，肽包含XTEN肽、富甘胺酸高胺基酸聚合物(HAP)、PAS多肽、彈性蛋白樣多肽(ELP)、CTP肽或明膠樣蛋白質(GLK)聚合物。在一些實施例中，結合部分經由連接子間接結合至經修飾之IL-2之至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，連接子包含同型雙官能連接子、異型雙官能連接子、零長度連接子、可裂解或不可裂解二肽連接子、順丁烯二醯亞胺基、間隔子或其組合。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能降低，且相對於野生型IL-2多肽，與IL-2Rβγ之受體信號傳導效能之降低為約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、30倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、1000倍或更多。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽為：全長IL-2多肽之功能活性片段；重組IL-2多肽；或重組人類IL-2多肽。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含N端缺失、C端缺失或其組合。在一些實施例中，N端缺失包含自N端缺失前1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25或30個殘基，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，C端缺失包含自C端缺失最後1、2、3、4、5、6、7、8、9、

10、11、12、13、14、15、20或更多個殘基，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，功能活性片段包含IL-2區10-133、20-133、30-133、10-130、20-130、30-130、10-125、20-125、30-125、1-130或1-125，其中殘基位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽包含與SEQ ID NO: 1約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性。在一些實施例中，與IL-2Rβγ受體信號傳導效能降低之經修飾之IL-2多肽能夠擴增CD4+ T調節(Treg)細胞。在一些實施例中，結合部分減少或阻斷IL-2與IL-2Rβγ的受體信號傳導效能，或降低IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集。在一些實施例中，經修飾IL-2/IL-2Rαβγ複合物之CD4+ Treg細胞增殖等於或大於野生型IL-2多肽的細胞增殖。在一些實施例中，經修飾之IL-2/IL-2Rαβγ複合物誘導CD4+ Treg細胞增殖至足以調節動物模型中之疾病病程之群體。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽展現對IL-2Rβγ之第一受體信號傳導效能及對IL-2Rαβγ之第二受體信號傳導效能，其中與第二受體信號傳導效能相比，第一受體信號傳導效能係至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍、500倍、1000倍或更低。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽之第一受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽對IL-2Rβγ之受體信號傳導效能。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽之第二受體信號傳導效能低於野生型IL-2多肽對IL-2Rαβγ之受體信號傳導效能。在一些實施例中，其中經修飾之IL-2多肽進一步提供IL-2Rα次單元向IL-2多肽之募集增加，引起介白素2αβγ受體(IL-2Rαβγ)之活化，其中募集增加係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rα次單元之募集相比。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽進一步

提供IL-2Rγ次單元向IL-2/IL-2Rβ複合物之募集降低，其中募集降低係與藉由野生型IL-2多肽進行之IL-2Rβ次單元及/或IL-2Rγ次單元之募集相比。

【0581】 本文所揭示之態樣提供介白素2 αβγ受體(IL-2Rαβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白之介白素2 βγ受體(IL-2Rβγ)的受體信號傳導效能小於野生型人類IL-2 (hIL-2)之信號傳導效能，且其中該結合蛋白包含至少一個非天然胺基酸。

【0582】 本文所揭示之態樣提供介白素2 αβγ受體(IL-2Rαβγ)結合蛋白，其中該結合蛋白向IL-2/IL-2Rβ複合物募集IL-2Rγ次單元小於野生型人類IL-2 (hIL-2)之募集，且其中該結合蛋白包含至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，該結合蛋白為經修飾之IL-2多肽或其功能活性片段，其中經修飾之IL-2多肽包含至少一個非天然胺基酸。

【0583】 本文所揭示之態樣提供包含經修飾之IL-2多肽之IL-2/IL-2Rαβγ複合物，該經修飾之IL-2多肽包含非天然胺基酸及IL-2Rαβγ，其中經修飾之IL-2多肽具有降低之針對IL-2Rβγ之受體信號傳導效能，且其中受體信號傳導效能降低係與野生型IL-2多肽與IL-2Rβγ之間的結合親和力相比。在一些實施例中，相對於與野生型IL-2多肽接觸之CD3+細胞群體中之CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞之擴增，該活化因子與該CD3+細胞群體接觸時，該活化因子在CD3+細胞群體中擴增CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞小於20%、15%、10%、5%、1%或0.1%。在一些實施例中，該活化因子不擴增CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞。在一些實施例中，該細胞群體為活體內細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為活體外細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為離體細胞群體。

【0584】本文所揭示之態樣提供包含經修飾之IL-2多肽之IL-2/IL-2Rαβγ複合物，該經修飾之IL-2多肽包含非天然胺基酸及IL-2Rαβγ，其中該經修飾之IL-2多肽向IL-2/IL-2Rβ複合物募集IL-2Rγ次單元小於野生型IL-2多肽之募集。在一些實施例中，經修飾之IL-2多肽進一步包含共價連接至非天然胺基酸之結合部分。在一些實施例中，相對於與野生型IL-2多肽接觸之CD3+細胞群體中之CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞之擴增，該活化因子與該CD3+細胞群體接觸時，該活化因子在CD3+細胞群體中擴增CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞小於20%、15%、10%、5%、1%或0.1%。在一些實施例中，該活化因子不擴增CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞。在一些實施例中，該細胞群體為活體內細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為活體外細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為離體細胞群體。

【0585】本文所揭示之態樣提供選擇性擴增細胞群體中之CD4+ Treg細胞的CD4+ Treg細胞活化因子，其中該活化因子包含經修飾之IL-2多肽，其包含至少一個非天然胺基酸。在一些實施例中，相對於與野生型IL-2多肽接觸之CD3+細胞群體中之CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞之擴增，該活化因子與該CD3+細胞群體接觸時，該活化因子在CD3+細胞群體中擴增CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞小於20%、15%、10%、5%、1%或0.1%。在一些實施例中，該活化因子不擴增CD8+效應T細胞及/或自然殺手細胞。在一些實施例中，該細胞群體為活體內細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為活體外細胞群體。在一些實施例中，該細胞群體為離體細胞群體。

【0586】本文所揭示之態樣提供醫藥組合物，其包含：本文所述之

經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2Rαβγ結合蛋白或本文所述之$CD4^+$ Treg；及醫藥學上可接受之賦形劑。在一些實施例中，醫藥組合物經調配用於全身遞送。在一些實施例中，醫藥組合物經調配用於非經腸投與。在一些實施例中，自體免疫疾病或病症包含斑禿、自體免疫溶血性貧血、自體免疫肝炎、皮肌炎、1型糖尿病、幼年特發性關節炎、絲球體腎炎、格雷夫氏疾病、格-巴二氏症候群、特發性血小板減少性紫斑病、重症肌無力、多發性硬化、天疱瘡/類天疱瘡、惡性貧血、結節性多動脈炎、多發性肌炎、原發性膽汁性肝硬化、牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病、休格倫氏症候群、全身性紅斑性狼瘡症、甲狀腺炎、葡萄膜炎、白斑病或韋格納氏肉芽腫病。在一些實施例中，方法進一步包含投與額外治療劑。在一些實施例中，同時投與IL-2結合物及額外治療劑。在一些實施例中，依序投與IL-2結合物及額外治療劑。在一些實施例中，在額外治療劑之前投與IL-2結合物。在一些實施例中，在投與額外治療劑之後投與IL-2結合物。在一些實施例中，個體為人類。

【0587】 本文所揭示之態樣提供治療有需要個體之自體免疫疾病或病症之方法，其包含向個體投與治療有效量之本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2Rαβγ結合蛋白、本文所述之$CD4^+$ Treg細胞或本文所述之醫藥組合物。在一些實施例中，自體免疫疾病或病症包含斑禿、自體免疫溶血性貧血、自體免疫肝炎、皮肌炎、1型糖尿病、幼年特發性關節炎、絲球體腎炎、格雷夫氏疾病、格-巴二氏症候群、特發性血小板減少性紫斑病、重症肌無力、多發性硬化、天疱瘡／類天疱瘡、惡性貧血、結節性多動脈炎、多發性肌炎、原發性膽汁性肝硬化、牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病、休格倫氏症候群、全身性紅斑性狼瘡症、甲狀腺

炎、葡萄膜炎、白斑病或韋格納氏肉芽腫病。在一些實施例中，方法進一步包含投與額外治療劑。在一些實施例中，同時投與IL-2結合物及額外治療劑。在一些實施例中，依序投與IL-2結合物及額外治療劑。在一些實施例中，在額外治療劑之前投與IL-2結合物。在一些實施例中，在投與額外治療劑之後投與IL-2結合物。在一些實施例中，個體為人類。

【0588】 本文所揭示之態樣提供擴增CD4+調節T (Treg)細胞群體之方法，其包含：使細胞與本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2Rαβγ結合蛋白、本文所述之$CD4^+$ Treg細胞或本文所述之醫藥組合物接觸，持續足以誘導與IL-2Rαβγ形成複合物之時間，由此刺激Treg細胞群體之擴增。在一些實施例中，方法為活體內方法。在一些實施例中，方法為活體外方法。在一些實施例中，方法為離體方法。

【0589】 本文所揭示之態樣提供包含本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2Rαβγ結合蛋白、本文所述之$CD4^+$ Treg細胞或本文所述之醫藥組合物之套組。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置61之殘基E61處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合

部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量可有效地改良經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之可溶性。在一些實施例中，PEG之分子量可有效增加經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之穩定性。在一些實施例中，PEG之分子量可有效地提高經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之授受細胞療法之製造效率。

【0590】 本文所揭示之態樣提供用於製造授受細胞療法之試劑，該授受細胞療法包含本文所述之經分離及修飾之IL-2多肽、本文所述之IL-2Rαβγ結合蛋白、本文所述之$CD4^+$ Treg細胞或本文所述之醫藥組合物。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置65之殘基P65處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置61之殘基E61處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，經分離及修飾之IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基位置42之殘基F42處的突變及包含PEG之結合部分，該PEG之分子量包含約5,000道爾頓(Da)、10,000 Da、15,000 Da、20,000 Da、25,000 Da、30,000 Da、35,000 Da、40,000 Da、45,000 Da或50,000 Da。在一些實施例中，PEG之分子量可有效地改良經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2

結合物之可溶性。在一些實施例中，PEG之分子量可有效增加經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之穩定性。在一些實施例中，PEG之分子量可有效地提高經分離及修飾之IL-2多肽及/或IL-2結合物之授受細胞療法之製造效率。

某些術語

【0591】 除非另外定義，否則本文中所使用之所有技術及科學術語具有與熟習所主張之主題所屬技術者通常所理解相同之含義。應理解，詳細描述僅為例示性及解釋性的，且並不限制所主張之任何主題。在本申請案中，除非另外特定陳述，否則單數之使用包括複數。必須注意的是，除非上下文另外明確指示，否則如本說明書中所用，單數形式「一(a)」、「一(an)」及「該」包括複數個指示物。在本申請案中，除非另外陳述，否則使用「或」意謂「及/或」。此外，術語「包括(including)」以及其他形式(諸如「包括(include)」、「包括(includes)」及「包括(included)」)之使用不具限制性。

【0592】 儘管本發明之各種特徵可描述於單個實施例之上下文中，但該等特徵亦可分開或以任何適合組合形式提供。相反，儘管為了清楚起見，本發明在本文中可在分開的實施例之上下文中描述，但本發明亦可以單一實施例形式實施。

【0593】 本說明書中提及「一些實施例」、「一實施例」、「一個實施例」或「其他實施例」意謂結合實施例所描述之特定特性、結構或特徵包括於本發明之至少一些實施例中，但不一定包括於所有實施例中。

【0594】 如本文所用，範圍及量可表示為「約」特定值或範圍。約亦包括精確量。因此，「約5 μL」意謂「約5 μL」以及「5 μL」。一般而

言，術語「約」包括預期將在實驗誤差內(諸如在15%、10%或5%內)之量。

【0595】 本文所用之章節標題僅出於組織目的且不應被理解為限制所描述之主題。

【0596】 如本文所用，術語「一或多個個體(individual(s))」、「一或多個個體(subject(s))」及「一或多個患者」意謂任何哺乳動物。在一些實施例中，哺乳動物為人類。在一些實施例中，哺乳動物為非人類。該等術語中無一者需要或受限於特徵在於健康照護工作者(例如醫生、註冊護士、從業護士、醫師助理、勤雜工或臨終關懷工作者)之監督(例如持續或間歇性監督)的情境。

【0597】 如本文所用，關於結合親和力之術語「顯著的」或「顯著地」意謂足以影響細胞介素(例如IL-2多肽)與目標受體之結合的細胞介素(例如IL-2多肽)之結合親和力的變化。在一些情況下，術語係指至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更大之變化。在一些情況下，術語意謂至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、50倍、100倍、500倍、1000倍或更大之變化。

【0598】 在一些情況下，關於一或多個細胞群體經由細胞介素信號傳導複合物活化之術語「顯著的」或「顯著地」意謂足以活化細胞群體之變化。在一些情況下，活化細胞群體之變化量測為受體信號傳導效能。在此類情況下，可提供EC50值。在其他情況下，可提供ED50值。在額外情況下，可提供細胞介素之濃度或劑量。

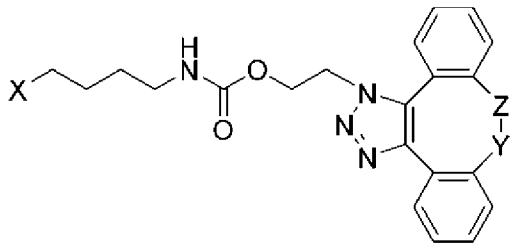
【0599】 如本文所用，術語「效能」係指產生目標作用所需之細胞介素(例如IL-2多肽)之量。在一些情況下，術語「效能」係指活化目標細

胞介素受體(例如IL-2受體)所需之細胞介素(例如IL-2多肽)之量。在其他情況下，術語「效能」係指活化目標細胞群體所需之細胞介素(例如IL-2多肽)之量。在一些情況下，效能量測為有效劑量50 (ED50)，或產生50%最大作用所需之劑量。在其他情況下，效能量測為有效濃度50 (EC50)，或在50%群體中產生目標作用所需之劑量。

編號之實施例

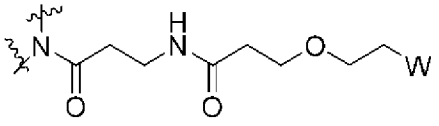
【0600】 本發明提供以下非限制性編號實施例：

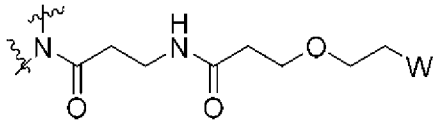
實施例1。一種包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列的IL-2結合物，其中該IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(I)之結構置換：

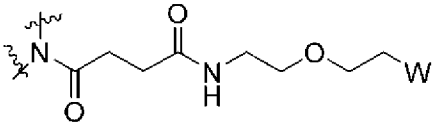


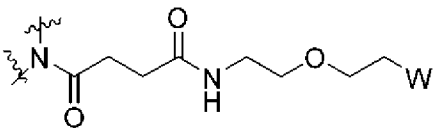
式(I)；

其中：

Z為CH_2且Y為  ；

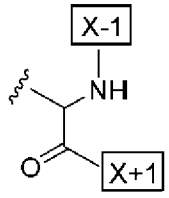
Y為CH_2且Z為  ；

Z為CH_2且Y為  ；或

Y為CH_2且Z為  ；

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

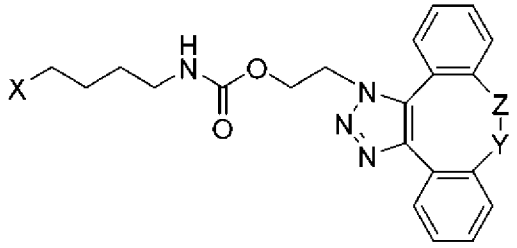
X具有以下結構：



；

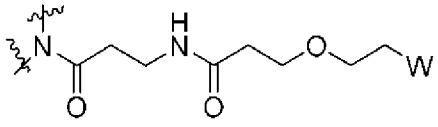
或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例2。一種包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列的IL-2結合物，其中該IL-2結合物中之至少一個胺基酸殘基經式(I)之結構置換：

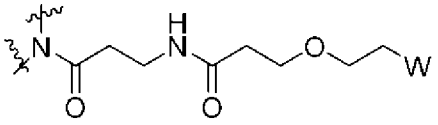


式(I)；

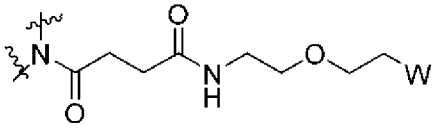
其中：

Z為CH_2且Y為 

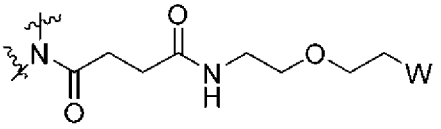
；

Y為CH_2且Z為 

；

Z為CH_2且Y為 

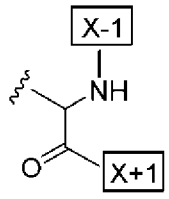
；或

Y為CH_2且Z為 

；

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；

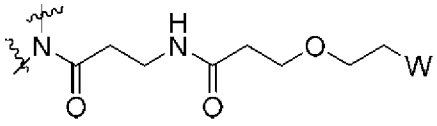
X具有以下結構：



；及

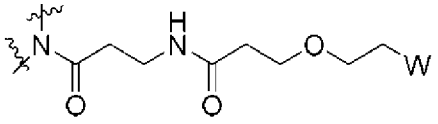
其中IL-2結合物之胺基酸序列中式(I)結構之位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例3。如實施例1或2之IL-2結合物，其中Z為CH_2且Y為



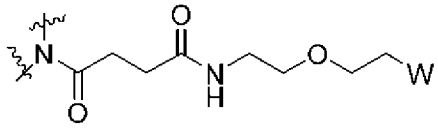
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例4。如實施例1或2之IL-2結合物，其中Y為CH_2且Z為



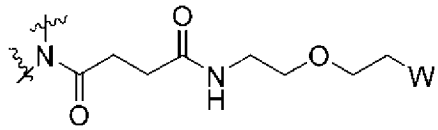
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例5。如實施例1或2之IL-2結合物，其中Z為CH_2且Y為



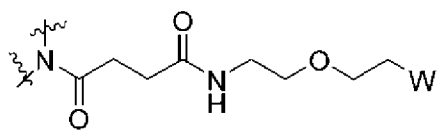
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例6。如實施例1或2之IL-2結合物，其中Z為CH_2且Y為



；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例7。如實施例1或2之IL-2結合物，其中Y為CH_2且Z為



；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合

物。

實施例8。如實施例1或2之IL-2結合物，其中PEG基團具有選自5 kDa、10 kDa、20 kDa及30 kDa之平均分子量；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

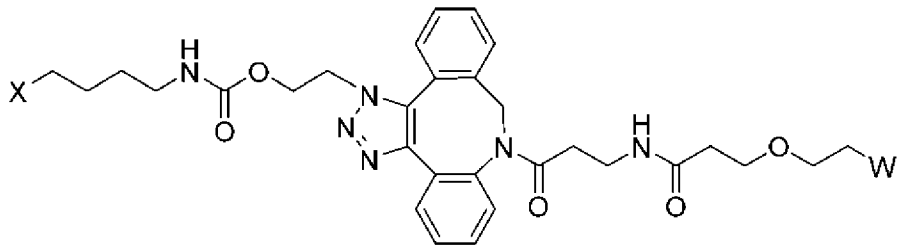
實施例9。如實施例8之IL-2結合物，其中PEG基團具有5 kDa之平均分子量；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例10。如實施例8之IL-2結合物，其中PEG基團具有30 kDa之平均分子量；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

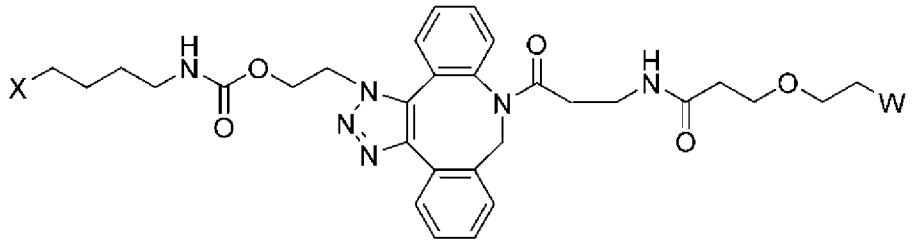
實施例11。如實施例1或2之IL-2結合物，其中IL-2結合物之胺基酸序列中式(I)結構之位置選自K35、F42、F44、K43、E62、P65、R38、T41、E68、Y45、V69及L72，其中IL-2結合物之胺基酸序列中式(I)結構之位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例12。如實施例11之IL-2結合物，其中IL-2結合物之胺基酸序列中式(I)結構之位置選自F42、E62及P65，其中IL-2結合物之胺基酸序列中式(I)結構之位置為參考SEQ ID NO: 1中之位置；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例13。一種包含SEQ ID NO: 15-19中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG]具有式(II)或式(III)或式(II)及式(III)之混合物之結構：



式(II)；

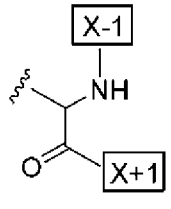


式(III)；

其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：

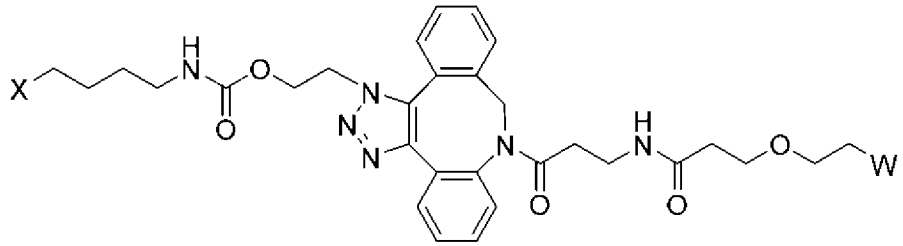


；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例14。如實施例13之IL-2結合物，其中[AzK_PEG]為式(II)與式(III)之混合物；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例15。如實施例13之IL-2結合物，其中[AzK_PEG]具有式(II)之結構：



式(II)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例16。如實施例15之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID

NO: 15之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例17。如實施例16之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例18。如實施例17之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例19。如實施例17之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例20。如實施例17之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例21。如實施例15之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例22。如實施例21之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例23。如實施例22之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例24。如實施例23之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例25。如實施例23之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例26。如實施例15之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例27。如實施例26之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例28。如實施例27之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例29。如實施例27之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例30。如實施例27之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例31。如實施例15之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例32。如實施例31之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例33。如實施例32之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例34。如實施例33之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例35。如實施例33之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30

kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例36。如實施例15之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 19之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

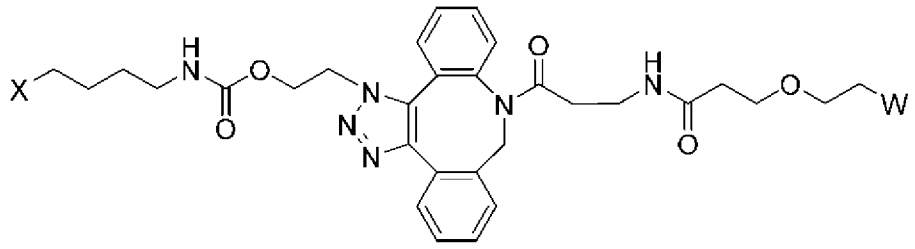
實施例37。如實施例36之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例38。如實施例37之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例39。如實施例38之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例40。如實施例38之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例41。如實施例13之IL-2結合物，其中[AzK_PEG]具有式(III)之結構：



式(III)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例42。如實施例41之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 15之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例43。如實施例42之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5

kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例44。如實施例43之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例45。如實施例44之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例46。如實施例44之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例47。如實施例41之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例48。如實施例47之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例49。如實施例48之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例50。如實施例49之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例51。如實施例49之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例52。如實施例41之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例53。如實施例52之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例54。如實施例53之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例55。如實施例54之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例56。如實施例54之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例57。如實施例41之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例58。如實施例57之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例59。如實施例58之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例60。如實施例59之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例61。如實施例59之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例62。如實施例41之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID

NO: 19之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例63。如實施例62之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例64。如實施例63之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例65。如實施例64之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例66。如實施例64之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例67。根據實施例1至66中任一項之IL-2結合物，其中W為直鏈或分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例68。根據實施例1至66中任一項之IL-2結合物，其中W為直鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例69。根據實施例1至66中任一項之IL-2結合物，其中W為分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

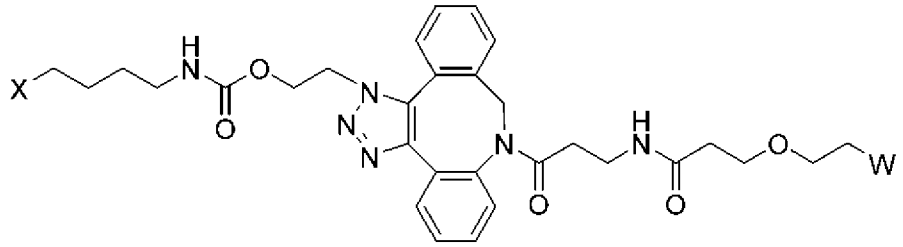
實施例70。根據實施例1至66中任一項之IL-2結合物，其中W為甲氧基PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例71。根據實施例70之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

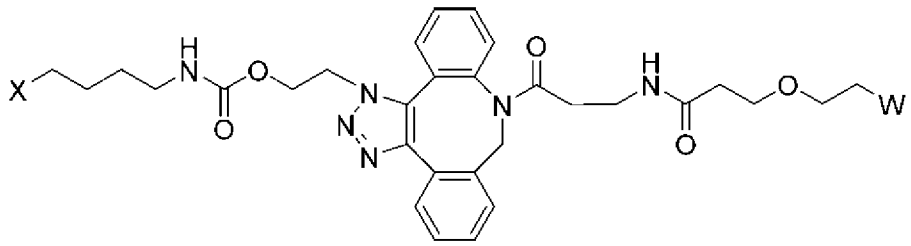
實施例72。根據實施例71之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為直鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例73。根據實施例71之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例74。一種包含SEQ ID NO: 20-24中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG5kD]具有式(II)或式(III)或式(II)及式(III)之混合物之結構：



式(II)；

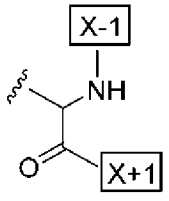


式(III)；

其中：

W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例75。如實施例74之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 20之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例76。如實施例74之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID

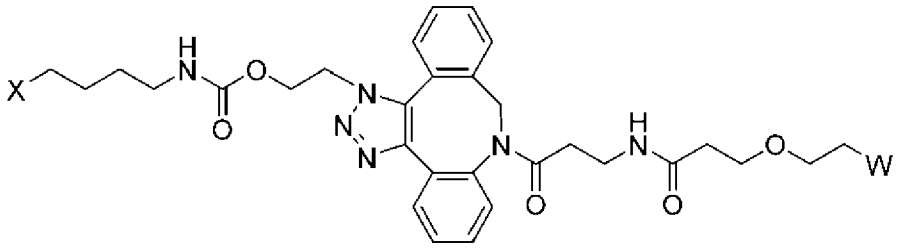
NO: 21之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例77。如實施例74之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例78。如實施例74之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例79。如實施例74之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例80。如實施例74之IL-2結合物，其中[AzK_PEG5kD]具有式(II)之結構



式(II)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例81。如實施例80之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 20之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例82。如實施例80之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

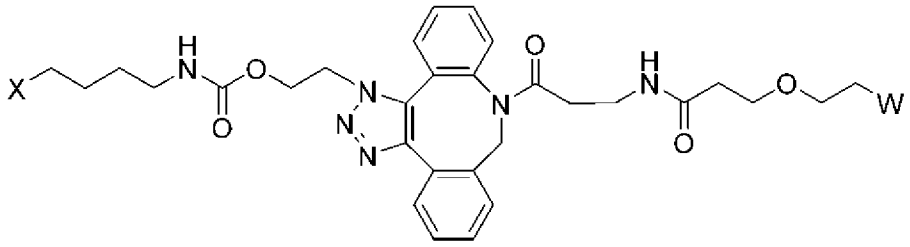
實施例83。如實施例80之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例84。如實施例80之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例85。如實施例80之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID

NO: 24之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例86。如實施例74之IL-2結合物，其中[AzK_PEG5kD]具有式(III)之結構



式(III)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例87。如實施例86之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 20之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

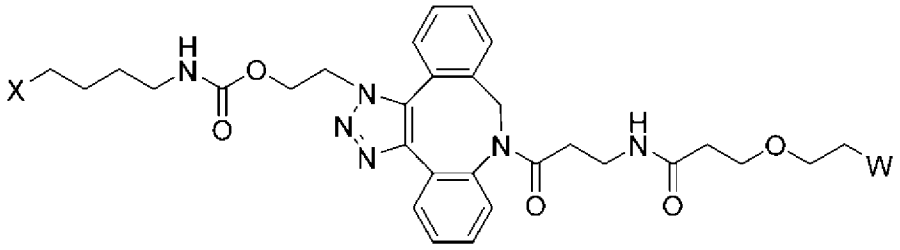
實施例88。如實施例86之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例89。如實施例86之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

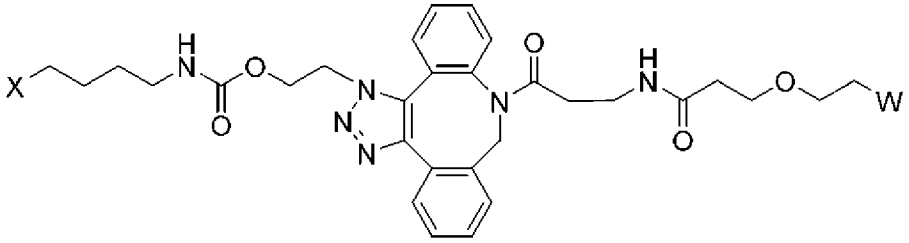
實施例90。如實施例86之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例91。如實施例86之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例92。一種包含SEQ ID NO: 25-29中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG30kD]具有式(II)或式(III)之結構，或為式(II)及式(III)之結構之混合物：



式(II)；

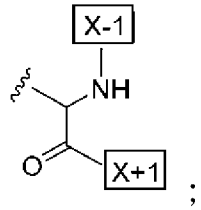


式(III)；

其中：

W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例93。如實施例92之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

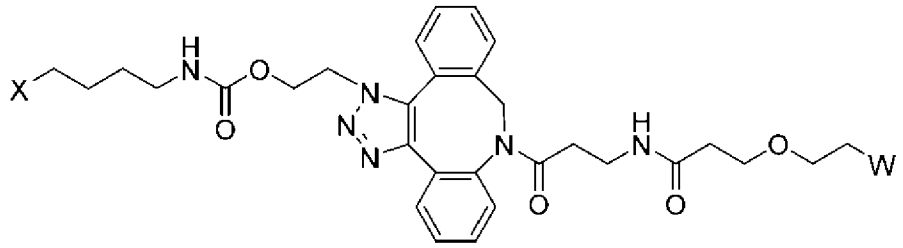
實施例94。如實施例92之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 26之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例95。如實施例92之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例96。如實施例92之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 28之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例97。如實施例92之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例98。如實施例92之IL-2結合物，其中[AzK_PEG30kD]具有式(II)之結構



式(II)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例99。如實施例98之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

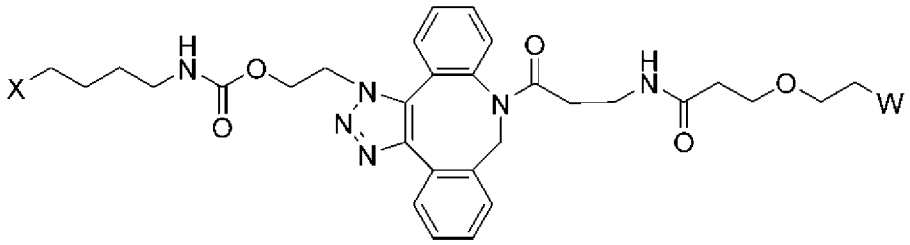
實施例100。如實施例98之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 26之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例101。如實施例98之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例102。如實施例98之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 28之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例103。如實施例98之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例104。如實施例92之IL-2結合物，其中[AzK_PEG30kD]具有式(III)之結構



式(III)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例105。如實施例104之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例106。如實施例104之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 26之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

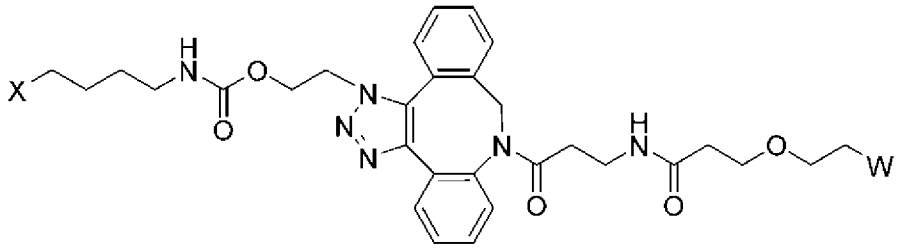
實施例107。如實施例104之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例108。如實施例104之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 28之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

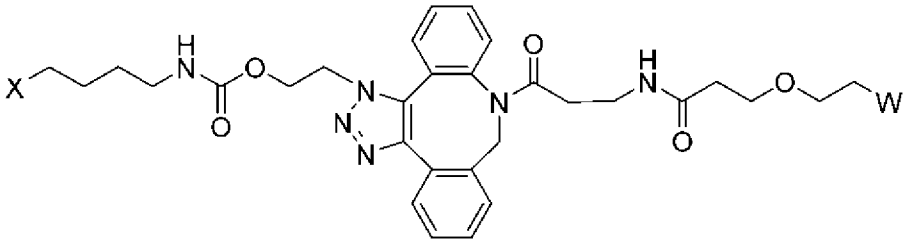
實施例109。如實施例104之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例110。一種包含SEQ ID NO: 15-19中之任一者之胺基酸序列

的IL-2結合物，其中[AzK_PEG]為式(II)及式(III)之結構之混合物：



式(II)；

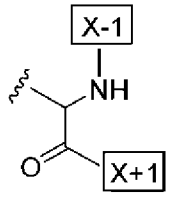


式(III)；

其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例111。根據實施例110之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率為約1:1。

實施例112。根據實施例110之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率大於1:1。

實施例113。根據實施例110之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率小於1:1。

實施例114。根據實施例110至113中任一項之IL-2結合物，其中W為

直鏈或分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例115。根據實施例110至113中任一項之IL-2結合物，其中W為直鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例116。根據實施例110至113中任一項之IL-2結合物，其中W為分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

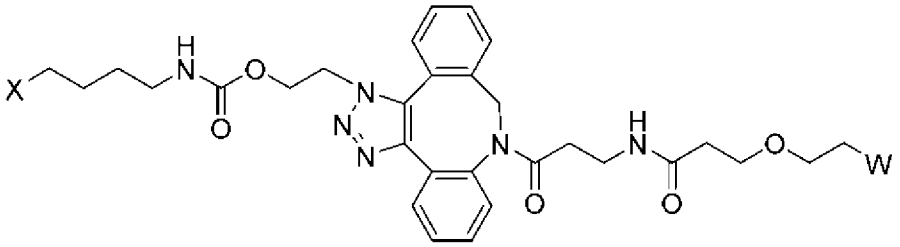
實施例117。根據實施例110至113中任一項之IL-2結合物，其中W為甲氧基PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例118。根據實施例117之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

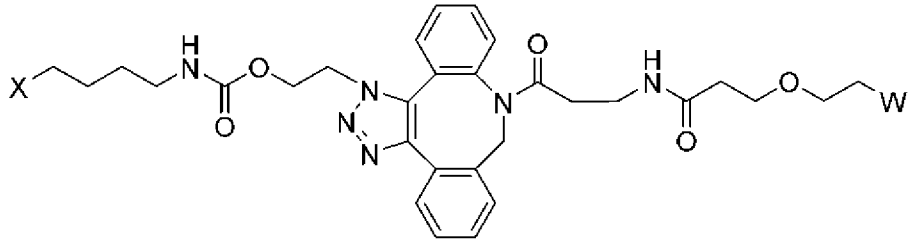
實施例119。根據實施例118之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為直鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例120。根據實施例118之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例121。一種包含SEQ ID NO: 20-24中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG5kD]為式(II)及式(III)之結構之混合物：



式(II)；

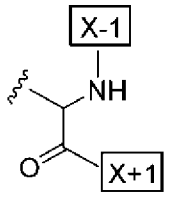


式(III)；

其中：

W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



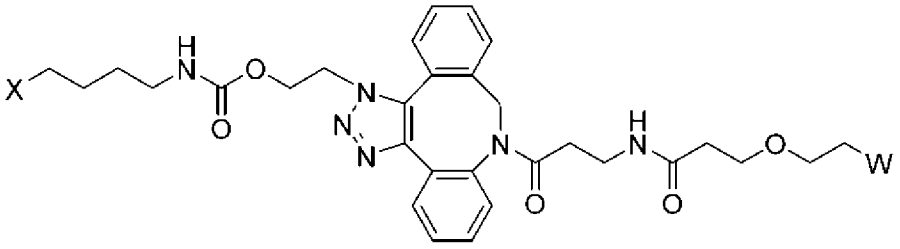
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例122。根據實施例121之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG5kD]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率為約1:1。

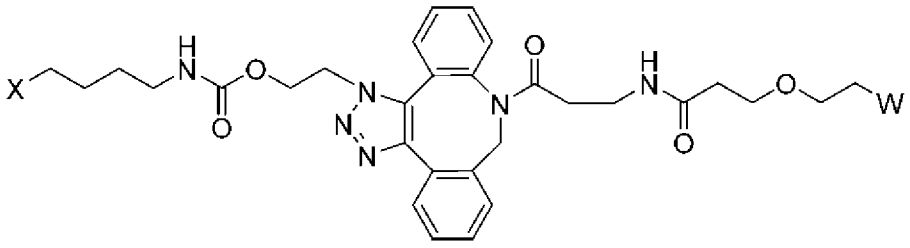
實施例123。根據實施例121之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG5kD]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率大於1:1。

實施例124。根據實施例121之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG5kD]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率小於1:1。

實施例125。一種包含SEQ ID NO: 25-29中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_PEG30kD]為式(II)及式(III)之結構之混合物：



式(II)；

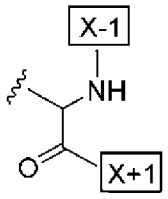


式(III)；

其中：

W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



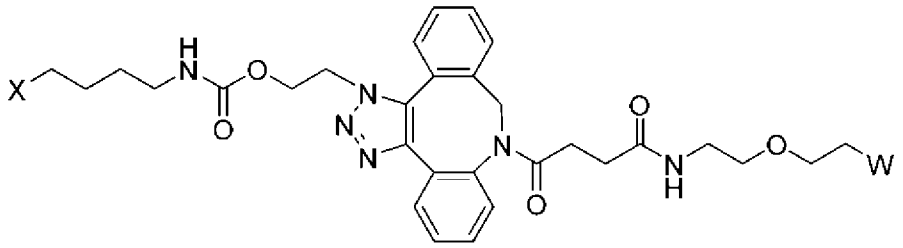
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例126。根據實施例125之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG30kD]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率為約1:1。

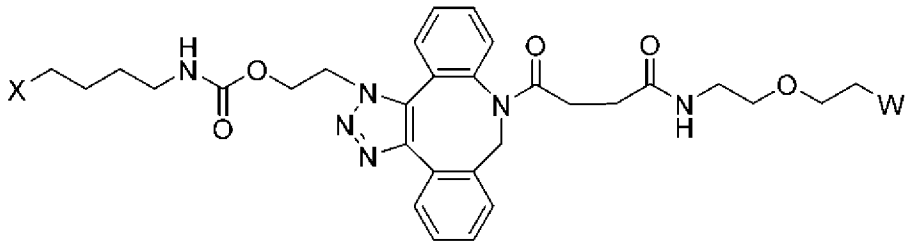
實施例127。根據實施例125之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG30kD]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率大於1:1。

實施例128。根據實施例125之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_PEG30kD]之總量的式(II)結構之量與式(III)結構之量之比率小於1:1。

實施例129。一種包含SEQ ID NO: 40-44中任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)或式(V)或式(IV)及式(V)之混合物之結構：



式(IV)；

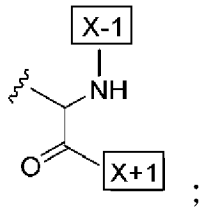


式(V)；

其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：

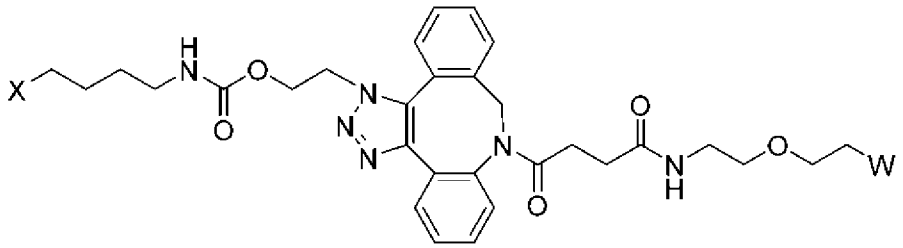


；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例130。如實施例129之IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG]為式(IV)與式(V)之混合物；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例131。如實施例129之IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG]具有式(IV)之結構：



式(IV)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例132。如實施例131之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例133。如實施例132之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例134。如實施例133之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例135。如實施例133之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例136。如實施例133之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例137。如實施例131之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例138。如實施例137之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例139。如實施例138之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合

物。

實施例140。如實施例139之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例141。如實施例139之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例142。如實施例129之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例143。如實施例142之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例144。如實施例143之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例145。如實施例144之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例146。如實施例144之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例147。如實施例129之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例148。如實施例147之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫

藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例149。如實施例148之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例150。如實施例149之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例151。如實施例149之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例152。如實施例129之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

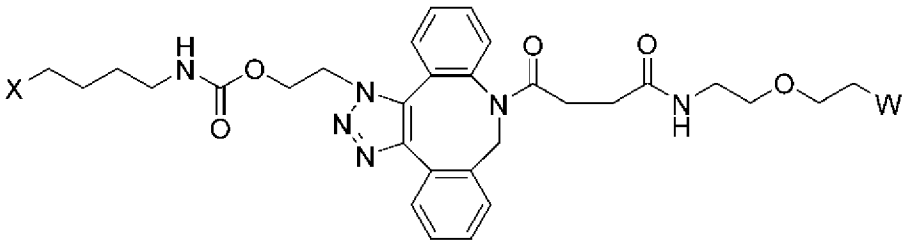
實施例153。如實施例152之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例154。如實施例153之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例155。如實施例154之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例156。如實施例155之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例157。如實施例129之IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG]具有式(V)之結構



式(V)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例158。如實施例157之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例159。如實施例158之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例160。如實施例159之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例161。如實施例160之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例162。如實施例160之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例163。如實施例157之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例164。如實施例163之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫

藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例165。如實施例164之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例166。如實施例165之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例167。如實施例165之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例168。如實施例157之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例169。如實施例168之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例170。如實施例169之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例171。如實施例170之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例172。如實施例170之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例173。如實施例157之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合

物。

實施例174。如實施例173之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例175。如實施例174之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例176。如實施例175之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例177。如實施例175之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例178。如實施例157之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例179。如實施例178之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例180。如實施例179之IL-2結合物，其中W為平均分子量選自5 kDa及30 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例181。如實施例180之IL-2結合物，其中W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例182。如實施例180之IL-2結合物，其中W為平均分子量為30

kDa之PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例183。根據實施例129至182中任一項之IL-2結合物，其中W為直鏈或分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例184。根據實施例129至182中任一項之IL-2結合物，其中W為直鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例185。根據實施例129至182中任一項之IL-2結合物，其中W為分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

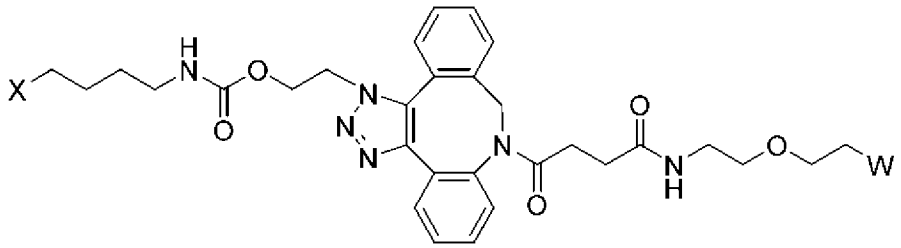
實施例186。根據實施例129至182中任一項之IL-2結合物，其中W為甲氧基PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例187。根據實施例186之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

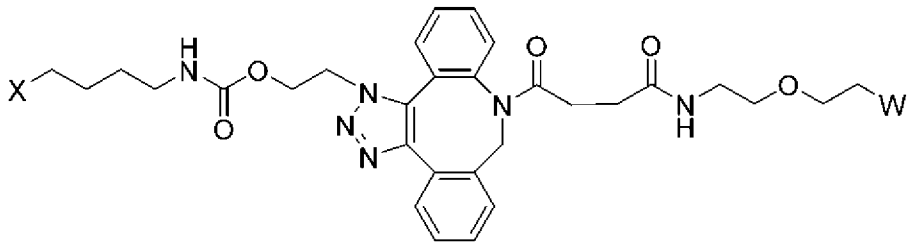
實施例188。根據實施例187之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為直鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例189。根據實施例187之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例190。一種包含SEQ ID NO: 45-49中任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG5kD]具有式(IV)或式(V)或式(IV)及式(V)之混合物之結構：



式(IV)；

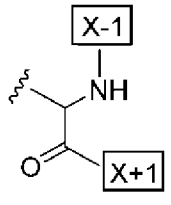


式(V)；

其中：

W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例191。如實施例190之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 45之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

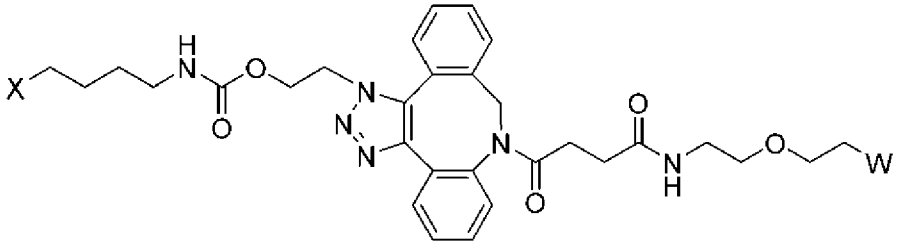
實施例192。如實施例190之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例193。如實施例190之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例194。如實施例190之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例195。如實施例190之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 49之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例196。如實施例190之IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG5kD]具有式(IV)之結構



式(IV)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例197。如實施例196之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 45之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例198。如實施例196之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

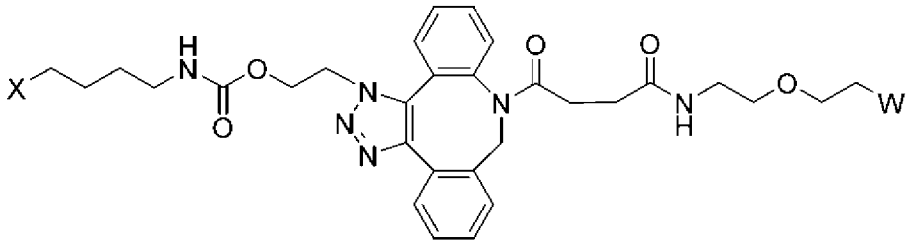
實施例199。如實施例196之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例200。如實施例196之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例201。如實施例196之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ

ID NO: 49之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例202。如實施例190之IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG5kD]具有式(V)之結構



式(V)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例203。如實施例202之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 45之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例204。如實施例202之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

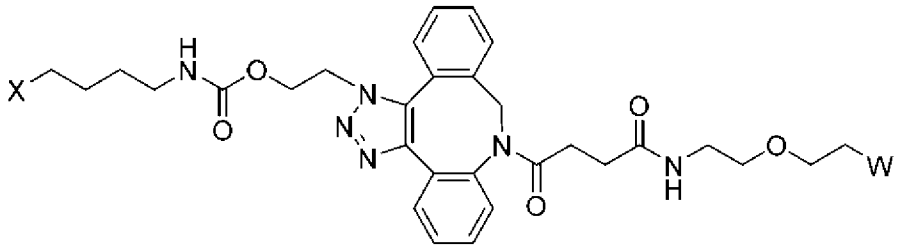
實施例205。如實施例202之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例206。如實施例202之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

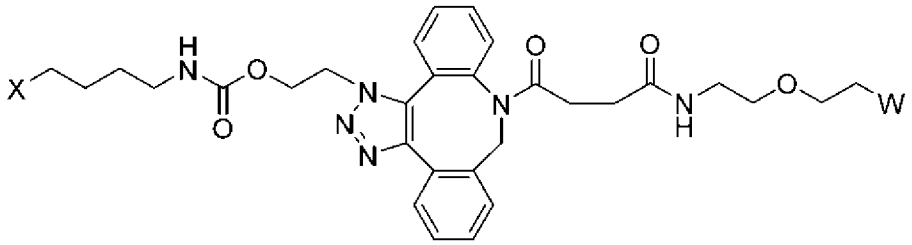
實施例207。如實施例202之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 49之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合

物。

實施例208。一種包含SEQ ID NO: 50-54中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG30kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或為式(IV)及式(V)之結構之混合物：



式(IV)；

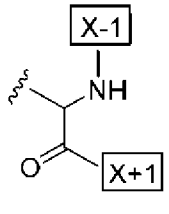


式(V)；

其中：

W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例209。如實施例208之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 50之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例210。如實施例208之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ

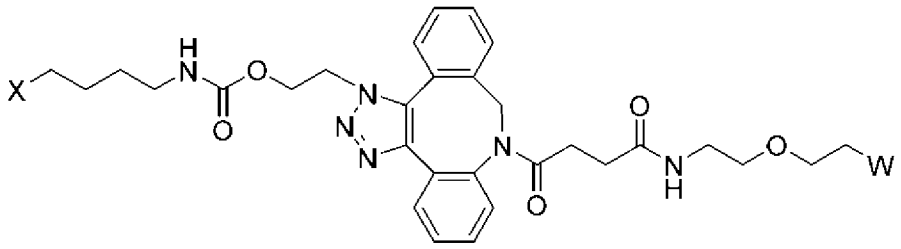
ID NO: 51之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例211。如實施例208之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 52之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例212。如實施例208之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 53之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例213。如實施例208之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例214。如實施例208之IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG30kD]具有式(IV)之結構：



式(IV)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例215。如實施例214之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 50之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例216。如實施例214之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 51之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合

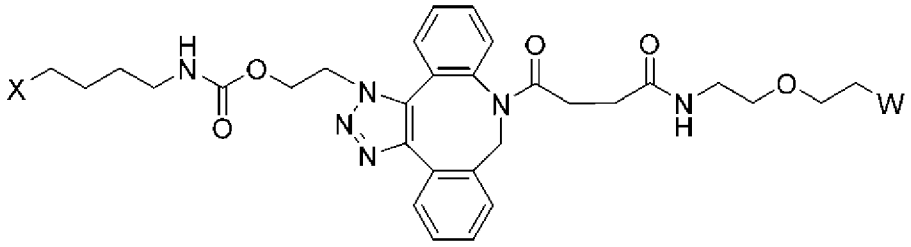
物。

實施例217。如實施例214之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 52之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例218。如實施例214之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 53之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例219。如實施例214之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例220。如實施例214之IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG30kD]具有式(V)之結構



式(V)；

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例221。如實施例220之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 50之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

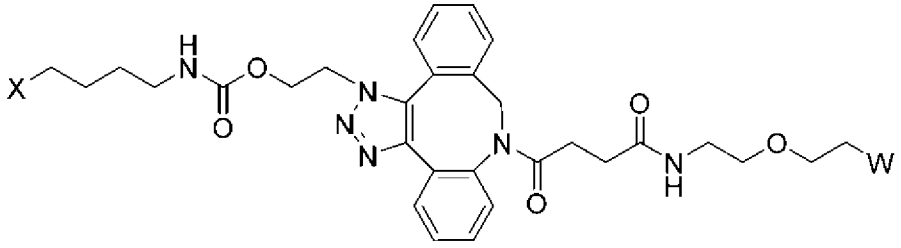
實施例222。如實施例220之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 51之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例223。如實施例220之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 52之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

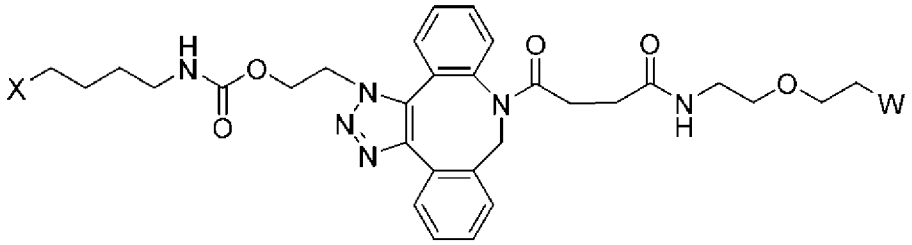
實施例224。如實施例220之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 53之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例225。如實施例220之IL-2結合物，其中IL-2結合物具有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例226。一種包含SEQ ID NO: 40-44中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[Azk_L1_PEG]為式(IV)及式(V)之結構之混合物：



式(IV)；

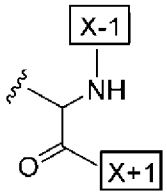


式(V)；

其中：

W為平均分子量選自5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa及60 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例227。根據實施例226之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率為約1:1。

實施例228。根據實施例226之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率大於1:1。

實施例229。根據實施例226之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率小於1:1。

實施例230。根據實施例226至229中任一項之IL-2結合物，其中W為直鏈或分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例231。根據實施例226至229中任一項之IL-2結合物，其中W為直鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例232。根據實施例226至229中任一項之IL-2結合物，其中W為分支鏈PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例233。根據實施例226至229中任一項之IL-2結合物，其中W為甲氧基PEG基團；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

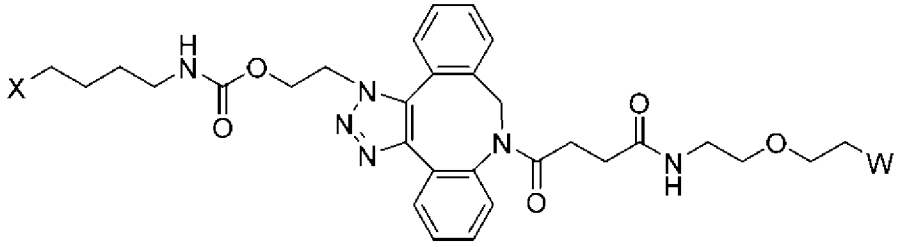
實施例234。根據實施例233之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為直鏈或分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例235。根據實施例234之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為

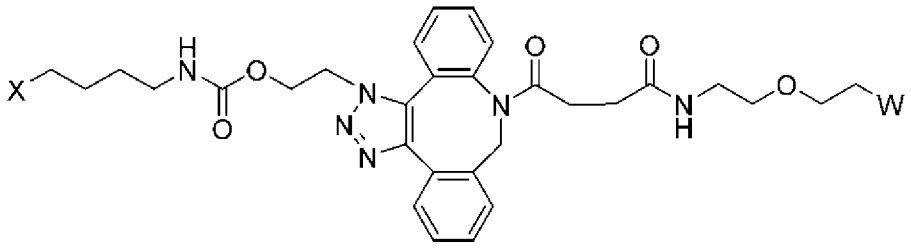
直鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例236。根據實施例234之IL-2結合物，其中甲氧基PEG基團為分支鏈；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例237。一種包含SEQ ID NO: 45至49中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1_PEG5kD]為式(IV)及式(V)之結構之混合物：



式(IV)；

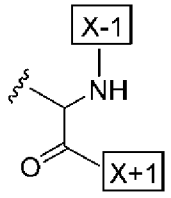


式(V)；

其中：

W為平均分子量為5 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



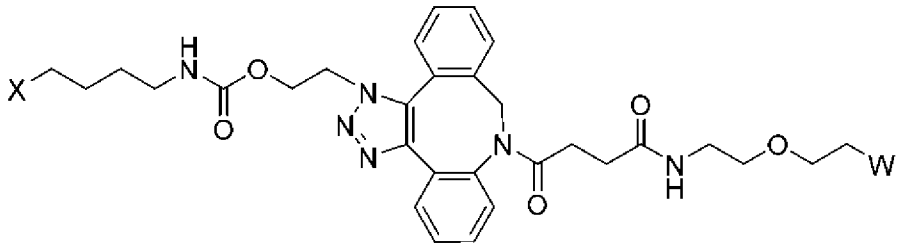
；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例238。根據實施例237之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG5kD]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率為約1:1。

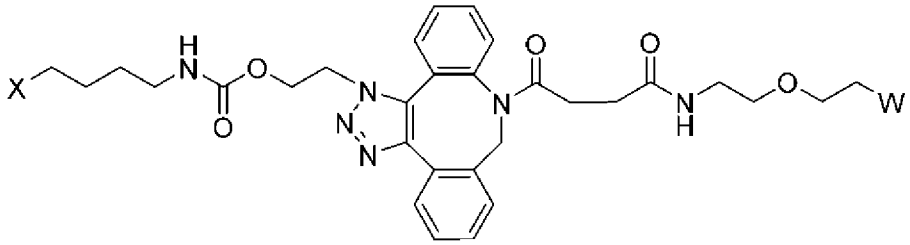
實施例239。根據實施例237之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG5kD]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率大於1:1。

實施例240。根據實施例237之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG5kD]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率小於1:1。

實施例241。一種包含SEQ ID NO: 50-54中之任一者之胺基酸序列的IL-2結合物，其中[AzK_L1 PEG30kD]為式(IV)及式(V)之結構之混合物：



式(IV)；

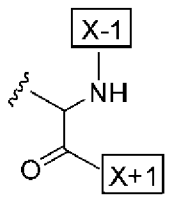


式(V)；

其中：

W為平均分子量為30 kDa之PEG基團；及

X具有以下結構：



；或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

實施例242。根據實施例241之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG30kD]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率為約1:1。

實施例243。根據實施例241之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG30kD]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率大於1:1。

實施例244。根據實施例241之IL-2結合物，其中構成IL-2結合物中[AzK_L1_PEG30kD]之總量的式(IV)結構之量與式(V)結構之量之比率小於1:1。

實施例245。一種治療個體之癌症的方法，其包含向有需要之個體投與有效量之根據實施例1至244中任一項之IL-2結合物。

實施例246。根據實施例245之治療個體之癌症之方法，其中個體之癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、經典霍奇金淋巴瘤(classical Hodgkin lymphoma，cHL)、原發性縱隔大B細胞淋巴瘤(PMBCL)、尿道上皮癌、微隨體不穩定癌、微隨體穩定癌、胃癌、宮頸癌、肝細胞癌(HCC)、梅克爾細胞癌(Merkel cell carcinoma，MCC)、黑色素瘤、小細胞肺癌(SCLC)、食道癌、神經膠母細胞瘤、間皮瘤、乳癌、三陰性乳癌、前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低突變負荷之腫瘤、皮膚鱗狀細胞癌(CSCC)、鱗狀細胞皮膚癌(SCSC)、低表現至不表現PD-L1之腫瘤、超出其原發解剖起始位點全身性擴散至肝及CNS的腫瘤，及彌漫性大B細胞淋巴瘤。

實施例247。根據實施例246之治療個體之癌症之方法，其中個體之癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、尿道上皮癌及黑色

素瘤。

實施例248。根據實施例245至247中任一項之治療個體之癌症之方法，其中每兩週一次、每三週一次、每4週一次、每5週一次、每6週一次、每7週一次或每8週一次向有需要之個體投與IL-2結合物。

實施例249。根據實施例248之治療個體之癌症之方法，其中每週一次或每兩週一次向有需要之個體投與IL-2結合物。

實施例250。根據實施例249之治療個體之癌症之方法，其中每週一次向有需要之個體投與IL-2結合物。

實施例251。根據實施例249之治療個體之癌症之方法，其中每兩週一次向有需要之個體投與IL-2結合物。

實施例252。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之血管滲漏症候群。

實施例253。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級、3級或4級血管滲漏症候群。

實施例254。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級血管滲漏症候群。

實施例255。根據實施例253之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之3級血管滲漏症候群。

實施例256。根據實施例253之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之4級血管滲漏症候群。

實施例257。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之血管緊張性損失。

實施例258。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起血漿蛋白質及流體外滲至個體之血管外空間中。

實施例259。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之低血壓及減少之器官灌注。

實施例260。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之嗜中性白血球功能受損。

實施例261。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之趨化性降低。

實施例262。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物與個體之散播性感染之風險增加無關。

實施例263。根據實施例262之方法，其中散播性感染為敗血症或細菌心內膜炎。

實施例264。根據實施例263之方法，其中散播性感染為敗血症。

實施例265。根據實施例262之方法，其中散播性感染為細菌心內膜炎。

實施例266。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方

法，其中個體在投與IL-2結合物之前針對任何預先存在的細菌感染進行治療。

實施例267。根據實施例266之方法，其中在投與IL-2結合物之前，個體經選自以下之抗細菌劑治療：苯唑西林(oxacillin)、萘夫西林(nafcillin)、環丙沙星(ciprofloxacin)及萬古黴素(vancomycin)。

實施例268。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會加重個體之預先存在之自體免疫疾病或發炎病症，或其初始呈現。

實施例269。根據實施例268之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會加重個體之預先存在之自體免疫疾病或其初始呈現。

實施例270。根據實施例268之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會加重個體之預先存在之發炎病症或其初始呈現。

實施例271。根據實施例268之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症選自克隆氏病(Crohn's disease)、硬皮病、甲狀腺炎、發炎性關節炎、糖尿病、眼球重症肌無力、新月形IgA絲球體腎炎、膽囊炎、腦血管炎、史蒂芬斯-強森症候群(Stevens-Johnson syndrome)及大皰性類天疱瘡(bullous pemphigoid)。

實施例272。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為克隆氏病。

實施例273。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為硬皮病。

實施例274。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為甲狀腺炎。

實施例275。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為發炎性關節炎。

實施例276。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為糖尿病。

實施例277。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為眼球重症肌無力。

實施例278。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為新月形IgA絲球體腎炎。

實施例279。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為膽囊炎。

實施例280。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為腦血管炎。

實施例281。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為史蒂芬斯-強森症候群。

實施例282。根據實施例271之方法，其中個體之自體免疫疾病或發炎病症為大皰性類天疱瘡。

實施例283。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之精神狀態的改變、話語困難、皮質盲、肢體或步態共濟失調、幻覺、激躁、遲鈍或昏迷。

實施例284。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之癲癇。

實施例285。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方

法，其中對於已知患有癲癇症的個體，不禁忌向個體投與有效量之IL-2結合物。

實施例286。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之毛細血管滲漏症候群。

實施例287。根據實施例286之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級、3級或4級毛細血管滲漏症候群。

實施例288。根據實施例287之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之2級毛細血管滲漏症候群。

實施例289。根據實施例287之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之3級毛細血管滲漏症候群。

實施例290。根據實施例287之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起個體之4級毛細血管滲漏症候群。

實施例291。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之平均動脈血壓之下降。

實施例292。根據實施例291之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之低血壓。

實施例293。根據實施例292之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體經歷小於90 mm Hg之收縮血壓或自基線收縮壓下降20 mm Hg。

實施例294。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合

物後，個體之水腫。

實施例295。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之腎或肝功能受損。

實施例296。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之嗜伊紅血球增多症。

實施例297。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之末梢血液中的嗜伊紅血球計數超過500個/μL。

實施例298。根據實施例297之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之末梢血液中的嗜伊紅血球計數超過500 個/μL至1500個/μL。

實施例299。根據實施例297之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之末梢血液中的嗜伊紅血球計數超過1500個/μL至5000個/μL。

實施例300。根據實施例297之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之末梢血液中的嗜伊紅血球計數超過5000個/μL。

實施例301。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中對於進行精神藥物之現存方案的個體，不禁忌向個體投與有效量之IL-2結合物。

實施例302。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方

法，其中對於進行腎毒性、骨髓毒性、心臟毒性或肝毒性藥物之現存方案的個體，不禁忌向個體投與有效量之IL-2結合物。

實施例303。根據實施例302之方法，其中對於進行胺基糖苷、細胞毒性化學療法、小紅莓、甲胺喋呤或天冬醯胺酶之現存方案的個體，不禁忌向個體投與有效量之IL-2結合物。

實施例304。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中對於接受含有抗贅生性劑之組合方案的個體，不禁忌向個體投與有效量之IL-2結合物。

實施例305。根據實施例304之方法，其中抗贅生性劑選自達卡巴嗪、順鉑、他莫昔芬(tamoxifen)及干擾素α。

實施例306。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，個體之一或多種4級不良事件。

實施例307。根據實施例306之方法，其中一或多種4級不良事件選自：體溫過低；休克；心搏徐緩；室性期外收縮；心肌缺血；暈厥；出血；心房心律不整；靜脈炎；二級AV阻滯；心內膜炎；心包積液；周邊壞疽；栓塞；冠狀動脈病症；口腔炎；噁心及嘔吐；肝功能測試異常；胃腸出血；吐血；出血腹瀉；胃腸病症；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少症；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；呼吸酸中毒；嗜睡；激躁；神經病；妄想性反應；痙攣；痙攣大發作；譫妄；哮喘、肺水腫；換氣過度；低氧；咯血；換氣不足；氣胸；瞳孔放大；瞳孔病症；腎功能異常；腎衰竭；及急性管壞死。

實施例308。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向一組個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，大於1%之個體之一或多種4級不良事件。

實施例309。根據實施例307之方法，其中一或多種4級不良事件選自：體溫過低；休克；心搏徐緩；室性期外收縮；心肌缺血；暈厥；出血；心房心律不整；靜脈炎；二級AV阻滯；心內膜炎；心包積液；周邊壞疽；栓塞；冠狀動脈病症；口腔炎；噁心及嘔吐；肝功能測試異常；胃腸出血；吐血；出血腹瀉；胃腸病症；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少症；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；呼吸酸中毒；嗜睡；激躁；神經病；妄想性反應；痙攣；痙攣大發作；譫妄；哮喘、肺水腫；換氣過度；低氧；咯血；換氣不足；氣胸；瞳孔放大；瞳孔病症；腎功能異常；腎衰竭；及急性管壞死。

實施例310。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向一組個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，大於1%之個體之一或多種不良事件，其中一或多種不良事件選自：十二指腸潰瘍；腸壞死；心肌炎；室上性心動過速；繼發於視神經炎之永久性或短暫性失明；短暫局部缺血發作；腦膜炎；腦水腫；心包炎；過敏性間質性腎炎；及氣管-食道瘺。

實施例311。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向一組個體投與有效量之IL-2結合物不會引起在向個體投與IL-2結合物後，大於1%之個體之一或多種不良事件，其中一或多種不良事件選自：惡性發熱；心跳驟停；心肌梗塞；肺栓塞；中風；腸穿孔；肝或腎

衰竭；嚴重抑鬱症引起自殺；肺水腫；呼吸驟停；呼吸衰竭。

實施例312。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不會引起產生IL-2結合物之中和抗體。

實施例313。根據實施例245至256中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與IL-2結合物增加個體之周邊CD8+ T及NK細胞之數目而不增加個體之周邊CD4+調節T細胞之數目。

實施例314。根據實施例245至256中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與IL-2結合物增加個體之周邊CD8+ T及NK細胞之數目而不增加個體之周邊嗜伊紅血球之數目。

實施例315。根據實施例245至256中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與IL-2結合物增加個體之瘤內CD8+ T及NK細胞之數目而不增加個體之瘤內CD4+調節T細胞之數目。

實施例316。一種醫藥組合物，其包含有效量之根據實施例1至244中任一項之IL-2結合物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。

實施例317。根據實施例245至251中任一項之治療個體之癌症之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不需要可用之加護設施或熟習心肺或加護醫學技術之專家。

實施例318。根據實施例317之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不需要可用之加護設施。

實施例319。根據實施例317之方法，其中向個體投與有效量之IL-2結合物不需要可用之熟習心肺或加護醫學技術之專家。

實例

【0601】 此等實例僅出於說明之目的提供且不限制本文所提供之申請專利範圍之範疇。

【0602】 實例2至12中所揭示之化合物中之每一者利用SEQ ID NO: 4及[AzK_PEG]部分，其中在IL-2結合物中之經取代之胺基酸之位置為參考SEQ ID NO: 4中之位置。

【0603】 舉例而言，使用與實例2中所揭示之方法類似的方法製備表2A及表2B中標記為「P65_5kD」之化合物，其中首先製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置65處之脯胺酸經AzK置換)之蛋白質。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為5 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(II)、式(III)或式(II)與(III)之混合物的SEQ ID NO: 20之產物，其中W為平均分子量為5 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。

【0604】 在另一實例中，表2A及表2B中標記為「P65_30kD」之化合物藉由首先製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置65處之脯胺酸經AzK置換)之蛋白質來製備。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(II)、式(III)或式(II)與(III)之混合物的SEQ ID NO: 25之產物，其中W為平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。

【0605】 類似地，標記為「P65_30kD」之化合物化合物藉由製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置65之脯胺酸經*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)置換(SEQ ID NO: 10))之蛋白質來製備。化合物亦可定義為包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，其中位置65 (P65)之脯胺酸經式(VI)或(VII)或(VI)與(VII)之混合物之結構置換，且其中n為使得PEG基團具有

約30 kDa之分子量的整數。化合物亦可定義為包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，其中位置65 (P65)之脯胺酸經式(X)或(XI)或(X)與(XI)之混合物之結構置換，且其中n為使得PEG基團具有約30 kDa之分子量的整數。在實例5、6、7及8中利用化合物P65_30kD。

【0606】 在另一實例中，表2A及表2B中標記為「E62_5kD」之化合物藉由首先製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置62處之麩胺酸經AzK置換)之蛋白質來製備。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為5 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(II)、式(III)或式(II)與(III)之混合物的SEQ ID NO: 21之產物，其中W為平均分子量為5 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。

【0607】 類似地，標記為「E62_5kD」之化合物藉由首先製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置62 (E62)之麩胺酸經*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸AzK置換(SEQ ID NO: 11))之蛋白質來製備。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為5 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(II)、式(III)或式(II)與(III)之混合物的SEQ ID NO: 21之產物，其中W為平均分子量為5 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。在實例9中利用化合物E62_5kD。

【0608】 在另一實例中，表2A及表2B中標記為「E62_30kD」之化合物藉由首先製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置62處之麩胺酸經AzK置換)之蛋白質來製備。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(II)、式(III)或式(II)與(III)之混合物的SEQ ID NO: 26之產物，其中W為平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。

【0609】類似地，標記為「E62_30kD」之化合物藉由首先製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置62 (E62)之麩胺酸經*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)置換(SEQ ID NO: 11))之蛋白質來製備。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(II)、式(III)或式(II)與(III)之混合物的SEQ ID NO: 26之產物，其中W為平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。化合物亦可定義為包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，其中位置62 (E62)之麩胺酸經式(VI)或(VII)或(VI)與(VII)之混合物之結構置換，且其中n為使得PEG基團具有約30 kDa之分子量的整數。化合物亦可定義為包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，其中位置62 (E62)之麩胺酸經式(X)或(XI)或(X)與(XI)之混合物之結構置換，且其中n為使得PEG基團具有約30 kDa之分子量的整數。在實例3、5及9中利用化合物E62_30kD。

【0610】在另一實例中，標記為「K35_30kD」且用於實例12之化合物藉由首先製備具有SEQ ID NO: 4 (其中位置35之離胺酸經*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)置換(SEQ ID NO: 14))之蛋白質來製備。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(II)、式(III)或式(II)與(III)之混合物的SEQ ID NO: 29之產物，其中W為平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。化合物亦可定義為包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，其中位置35 (K35)之離胺酸經式(VI)或(VII)或(VI)與(VII)之混合物之結構置換，且其中n為使得PEG基團具有約30 kDa之分子量的整數。化合物亦可定義為包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，其中位

置35 (K35)之離胺酸經式(X)或(XI)或(X)與(XI)之混合物之結構置換，且其中n為使得PEG基團具有約30 kDa之分子量的整數。

【0611】 使用與實例2中所揭示之方法類似的方法製備實例13及14中揭示之標記為「IL2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1」之化合物，其中首先製備具有SEQ ID NO: 3 (其中位置64處之脯胺酸經AzK置換)之蛋白質。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應，得到具有包含式(IV)、式(V)或式(IV)與(V)之混合物的SEQ ID NO: 50之產物，其中W為平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團。

【0612】 類似地，使用類似於實例2中所揭示之方法的方法製備標記為「IL2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1」之化合物，其中首先製備具有SEQ ID NO: 3 (其中位置64處之脯胺酸*N*6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸AzK置換(SEQ ID NO: 35))之蛋白質。接著使含AzK之蛋白質在點擊化學條件下與包含平均分子量為30 kDa之甲氧基、直鏈PEG基團之DBCO反應。化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1亦定義為包含SEQ ID NO: 3 (其中位置64之脯胺酸殘基(P64)經式(VIII)或(IX)或(VIII)與(IX)之混合物之結構置換)之化合物，且其中n為使得PEG基團之分子量為約30 kDa之整數。化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1亦定義為包含SEQ ID NO: 3 (其中位置64之脯胺酸殘基(P64)經式(XII)或(XIII)或(XII)與(XIII)之混合物之結構置換)之化合物，且其中n為使得PEG基團之分子量為約30 kDa之整數。在實例13、14及15中利用化合物IL2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1。

實例1

【0613】 **激酶及細胞介素受體二聚分析**

【0614】 *細胞處理*

【0615】 PathHunter細胞株根據標準程序自冷凍儲備液擴增。將細胞以20 μL之總體積接種於白壁384孔微量盤中且在測試之前培育適當時間。

【0616】 *促效劑形式*

【0617】 對於促效劑測定，將細胞與樣品一起培育以誘導反應。在分析緩衝液中進行樣品儲備液之中間稀釋以產生5×樣品。將約5 μL 5×樣品添加至細胞且視分析而定在37℃下培育6至16小時。媒劑濃度係1%。

【0618】 *信號偵測*

【0619】 經由分別針對促效劑及拮抗劑分析單次添加12.5或15 μL (50% v/v) PathHunter偵測試劑混合物，隨後在室溫下培育一小時，來產生分析信號。對於一些分析，使用高敏感性偵測試劑(PathHunter Flash套組)偵測活性以改良分析效能。在此等分析中，將等體積之偵測試劑(25或30 μL)添加至孔中，隨後在室溫下培育一小時。在信號產生之後用用於化學發光信號偵測之PerkinElmer EnvisionTM儀器讀取微量盤。

【0620】 *資料分析*

【0621】 使用CBIS資料分析套件(ChemInnovation, CA)分析化合物活性。對於促效劑模式分析，使用下式計算活性百分比：

活性%=100%×(測試樣品之平均RLU-媒劑對照組之平均RLU)/(對照組配位體之平均最大RLU-媒劑對照組之平均RLU)。

【0622】 對於拮抗劑模式分析，使用下式計算抑制百分比：

抑制%=100%×(1-(測試樣品之平均RLU-媒劑對照組之平均

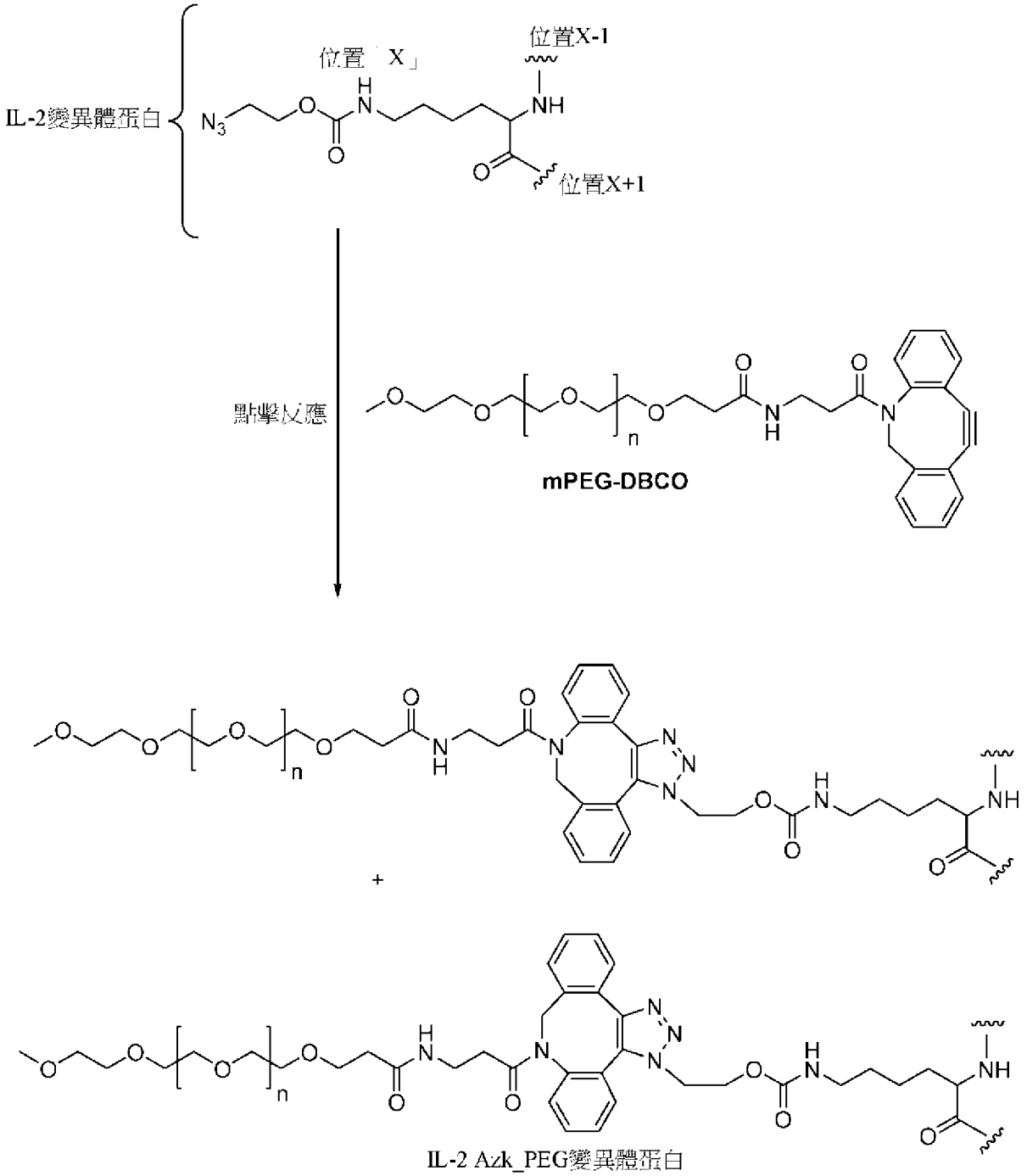
RLU)/(EC80對照組之平均RLU-媒劑對照組之平均RLU))。

實例2

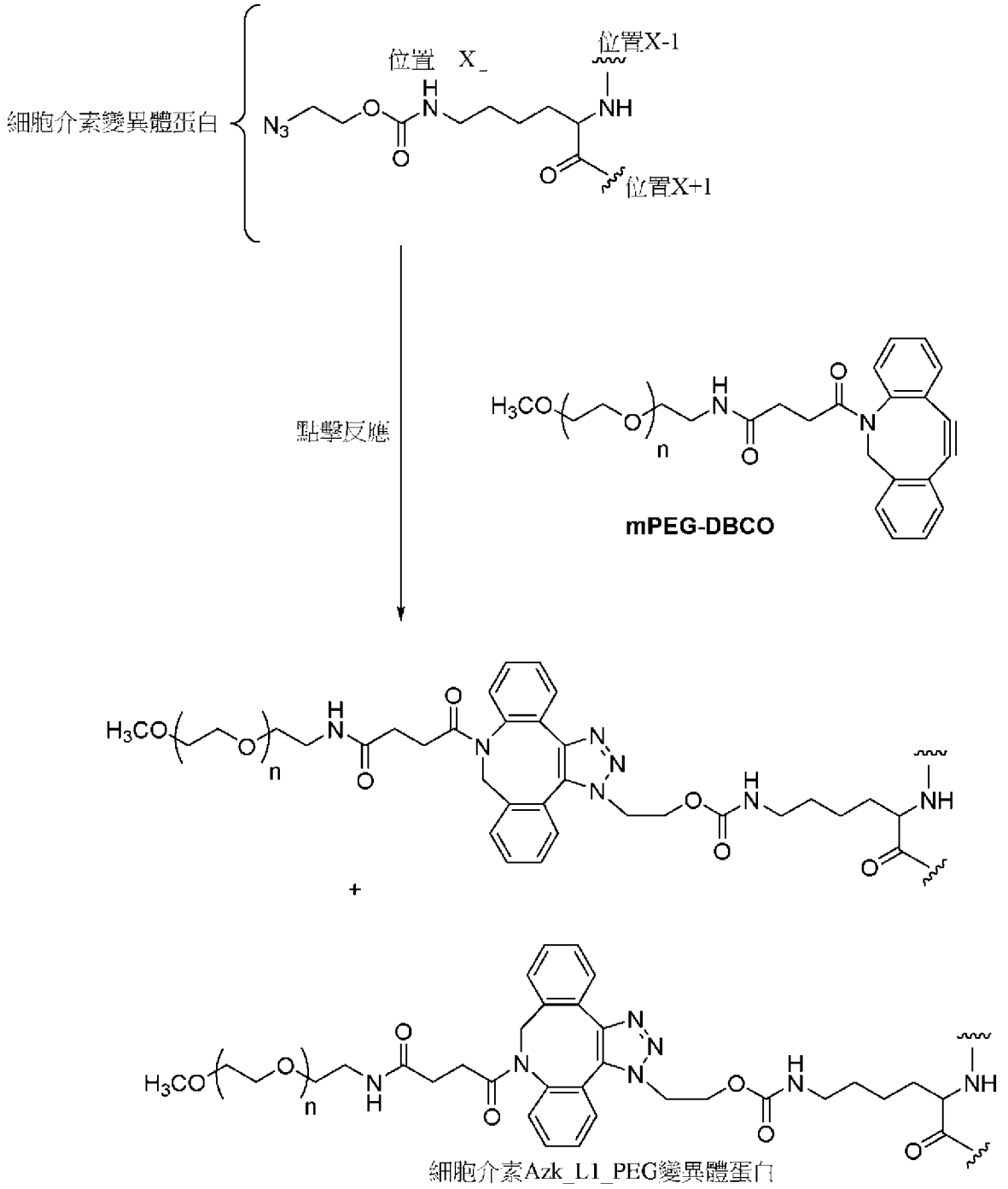
【0623】 用於鑑別無IL-2Rα接合之聚乙二醇化IL-2化合物之基於細胞之篩檢

【0624】 使用IL-2/異三聚受體信號傳導複合物(PDB:2ERJ)之結構資料導引nAA-聚乙二醇化位點之設計，以特異性消除IL-2與IL-2受體α次單元(IL-2Rα)之相互作用。對例示性IL-2結合物進行功能分析：K35、F42、K43、E62及P65。IL-2結合物表現為大腸桿菌中之包涵體，使用標準程序純化及再摺疊，隨後使用DBCO介導之無銅點擊化學方法將穩定、共價mPEG部分連接至AzK來位點特異性聚乙二醇化IL-2產物(**流程1**)。

【0625】 **流程1**。AzK_PEG介白素變異體之例示性合成(其中n指示重複PEG單元之數目)。區位異構體



【0626】 **流程2**。AzK_PEG介白素變異體之例示性合成(其中n指示重複PEG單元之數目)。可產生區位異構體之混合物。



【0627】 在Discoverx (Fremont CA)使用PathHunter IL-2細胞介素受體分析針對功能活性篩檢IL-2結合物。此分析使用重組人類U2OS細胞株，其表現各自與一半分裂報導酶β-半乳糖苷酶融合之IL-2受體β (IL-2Rβ)及γ (IL-2Rγ)次單元。第二細胞株經進一步工程改造以表現IL-2Rα次單元。用此等兩種細胞株進行平行測試，使得能夠評估IL-2受體αβγ以及基礎βγ複合物之變異體活化。IL-2 βγ受體複合物上之IL-2促效活性刺激

受體二聚及產生化學發光信號之報導子β-半乳糖苷酶復原。在促效劑模式中運行分析以測定各測試物品之EC_{50}，且比較IL2Rα陽性與陰性細胞類型之間的劑量-反應曲線概況，使得能夠確定IL2Rα對所觀測活性的貢獻。

【0628】 表1展示針對10 kD(除標註外)聚乙二醇化IL-2結合物之基於細胞之篩檢中IL-2受體促效作用之EC50資料。

位點	βγ EC50 (nM)	αβγ EC50 (nM)	βγ/αβγ比率
天然	1.68	0.074	23
理想	1.68	1.68	1
K35	6.75	0.15	45
F42	6.09	0.515	12
K43	9.84	0.131	75
E62	3	1.5	2
P65*	23.8	4.44	5
R38	4.16	0.165	25
T41	6.37	0.0489	130
E68	7.70	0.0893	86
Y45*	9.06	0.110	83
V69*	9.99	0.083	121

*指示30 kD聚乙二醇化IL-2結合物。

【0629】 聚乙二醇化IL-2與人類IL-2受體次單元之生物化學相互作用

【0630】 聚乙二醇化IL-2化合物與人類IL-2受體次單元之相互作用之動力學使用Biosensor Tools LLC (Salt Lake City, UT)之表面電漿子共振(SPR)來量測。對於此等研究，在Biacore蛋白質A塗佈之CM4感測器晶片之表面上捕獲人類IgG1 Fc融合IL-2 Rα (Sino Biological編號10165-H02H)及β (Sino Biological編號10696-H02H)細胞外域。使用Biacore 2000 SPR儀器用以2 μM之天然IL-2（野生型IL-2；Thermo編號PHC0021)、P65_30kD、P65_5kD、E62_30kD或E62_5kD起始之兩倍稀釋系列重複兩次探測此等表面。注入測試樣品60秒以允許量測結合，隨後

僅注入緩衝劑(洗滌) 30 s以量測解離。相對於時間(s，X軸)標繪反應單位(RU，Y軸)。

【0631】 為評價IL-2受體α次單元對IL-2與β結合之影響，捕獲相對於β約兩倍過量之α。對於此等表面，以2.5 μM開始之三倍稀釋系列施加天然IL-2 (野生型IL-2)、P65_30kD、P65_5kD、E62_30kD或E62_5kD。將結合資料擬合至包括主體移位(bulk shift)之1:1相互作用模型，且提取之動力學參數概述於**表2A**及**表2B**中。如**表2A**及**表2B**以及**圖4A-圖4B**中所示，小PEG消除IL2R α接合，但對IL2R β接合具有較不特定的影響。

表2A：IL-2變異體與個別IL-2受體次單元表面之相互作用之動力學參數-IL-2受體α表面

	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (μM)
IL-2自然	4.5 ± 0.3 x10^7	0.410 ± 0.01	0.009 ± 0.002
P65_30kD	114 ± 36 x10^7	0.018 ± 0.008	158 ± 21
P65_5kD	797 ± 226 x10^7	0.033 ± 0.004	42 ± 7
E62_30kD	333 ± 88 x10^7	0.050 ± 0.01	162 ±7
E62_5kD	1010 ± 41 x10^7	0.035 ± 0.002	34.4 ± 0.3

表2B：IL-2變異體與個別IL-2受體次單元表面之相互作用之動力學參數-IL-2受體β表面

	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (μM)
IL-2自然	1.3 ± 0.2 x10^6	0.185 ± 0.009	0.145 ± 0.005
P65_30kD	1.8 ± 0.2 x10^5	0.370 ± 0.01	2.09 ± 0.09
P65_5kD	9.0 ± 0.4 x10^5	0.270 ± 0.01	0.305 ± 0.002
E62_30kD	1.8 ± 0.4 x10^5	0.208 ± 0.006	1.14 ± 0.01
E62_5kD	6.6 ± 0.8 x10^5	0.281 ± 0.004	0.428 ± 0.00

【0632】 在含有固定IL-2Rα之感測器表面上，天然IL-2展示快速結合及緩慢解離動力學，表現出高親和力結合(**圖4A**)。相反，甚至在2 μM之最高測試濃度下，P65_30kD或E62_30kD均不與IL-2Rα表面相互作用(**圖4A**)。類似地，F42_30kD不與IL-2IL-2Rα表面相互作用(**圖4C**)。含有固定IL-2 Rβ之表面展示與天然IL-2 (野生型IL-2)及IL-2 P65_30kD (**圖**

4B)以及F42_30kD (**圖4C**)相當的結合及解離反應。對於β次單元，化合物之間觀測到之少量K_D差異係歸因於相對於天然IL-2而言IL-2 P65_30kD之結合速率(on-rate)降低，自此聚乙二醇化化合物之流體動力學半徑變化(較低擴散係數)以及大PEG部分對遠端結合表面之非特異性屏蔽作用預期。此等結果表明P65_30kD、E62_30kD及F42_30kD缺乏IL-2Rα相互作用，而很大程度上保留與IL-2Rβ之結合。

【0633】 初級人類白血球減少系統(LRS)衍生之PBMC樣品中之IL-2化合物的離體免疫反應分析

【0634】 為確定IL-2 P65_30kD、K64_30kD、K43_30kD、K35_30kD及F42_30kD之不同受體特異性對初級免疫細胞亞群之活化的影響方式，使用多色流式細胞測量術進行人類LRS衍生之外周血單核細胞(PBMC)樣品中淋巴細胞活化之濃度-反應分析。在PrimityBio LLC (Fremont, CA)進行此等研究。新鮮LRS衍生樣品用以30 μg/mL之最高濃度起始之5倍稀釋系列之天然IL-2、L-2 P65_30kD、K64_30kD、K43_30kD、K35_30kD及F42_30kD處理。在45分鐘培育之後，將樣品固定且用抗體染色以偵測轉錄因子STAT5 (pSTAT5)之磷酸化形式、IL-2受體信號傳導複合物之上游接合及活化之標記物，及一組表面標記物以追蹤特定T細胞及自然殺手(NK)細胞亞群中之pSTAT5形成。用於LRS衍生之PBMC樣品之流式細胞測量術研究的染色組包括效應T細胞(Teff：CD3+、CD4+、CD8+、CD127+)、NK細胞(CD3-、CD16+)及調節T細胞(Treg：CD3+、CD4+、CD8-、IL-2Rα+、CD127-1)之標記物。

【0635】 在濃度-反應模式下分析流式細胞測量術資料之不同T及NK細胞子集之活化，在用以下處理後讀取pSTAT5積聚：天然IL-2 (**圖5A**

及**圖5G**)、E62_30kD (**圖5H**)、P65_30kD (**圖5B**及**圖5I**)、K64_30kD (**圖5C**)、K43_30kD (**圖5D**)、K35_kDa (**圖5E**)及F42_30kDa (**圖5F**)。由於IL-2 Rα的Treg特異性表現，天然IL-2顯示與CD8 Teff及NK細胞相比，在Treg中pSTAT5刺激之增加效能。與天然化合物相比，**圖5B-圖5F**中所示之聚乙二醇化變異體顯示相對於天然IL-2，對CD8 T細胞及NK細胞群體之少量效能降低，但展示表現IL-2 Rα之Treg細胞之不同之效能降低。

【0636】 表3提供用所指示之IL-2變異體處理之人類LRS樣品或CTLL-2增殖中pSTAT5信號傳導之劑量反應EC50 (EC50)。

表3.用所指示之IL-2變異體處理之人類LRS樣品或CTLL-2增殖中pSTAT5信號傳導之劑量反應EC50 (EC50)

處理	NK細胞	Treg細胞	CD8+ T細胞	CD8/Treg比	CTLL-2
天然IL-2	5150.5	62.5	25703.5	411.3	846
E62_30kD	12834	37213	66644	1.8	398,012
E62_5kD	5327.5	18146	41552.5	2.3	275,590
E62K	10305	11086	64037	5.8	58,213
P65_30kD	15741	40740.5	113638	2.8	677,198
P65_5kD	1920	6324.5	13769.5	2.2	194,924
K35_30kD	14021	358	63023	176.0	未偵測到
F42_30kD	16397	36856	107944	2.9	123,936
K43_30kD	9004	4797	50504	10.5	未偵測到

【0637】 自由MFI曲線圖產生之劑量反應曲線計算EC50值(pg/mL)。

實例3

【0638】 **PEG及殘基取代有助於無α藥理學**

【0639】 為確定PEG及殘基取代是否影響IL-2 E62之無α藥理學，使用多色流式細胞測量術進行人類LRS衍生之外周血單核細胞(PBMC)樣品中淋巴細胞活化之濃度-反應分析。在PrimityBio LLC (Fremont, CA)進行此等研究。新鮮LRS衍生樣品用以30 μg/mL之最高濃度起始之5倍稀

釋系列之天然IL-2、E62K或E62_30kD處理。在45分鐘培育之後，將樣品固定且用抗體染色以偵測轉錄因子STAT5 (pSTAT5)之磷酸化形式、IL-2受體信號傳導複合物之上游接合及活化之標記物，及一組表面標記物以追蹤特定T細胞及自然殺手(NK)細胞亞群中之pSTAT5形成。用於LRS衍生之PBMC樣品之流式細胞測量術研究的染色組包括標記物CD4、CD4+記憶中央、CD4+記憶效應、CD4+記憶T細胞、CD4+原生T細胞、CD4+ T細胞、CD8、CD8+記憶中央、CD8+記憶效應、CD8+記憶T細胞、CD8+原生T細胞、CD8+ T細胞、NK細胞及T調節細胞。

【0640】 分析流式細胞測量術資料之IL-2 (**圖6A**)、E62K (**圖6B**)或E62_30kD (**圖6C**)中之不同T及NK細胞子集之活化。此等結果表明位置62處之胺基酸殘基取代以及經修飾位置處之AzK-聚乙二醇化可有助於減少IL-2 Rα接合及表現此等受體之初級淋巴細胞上之所得不同效能。

表4.用所指示之IL-2變異體處理之人類LRS樣品增殖中pSTAT5信號傳導之劑量反應EC50 (EC50)

處理	Treg細胞	CD8+ T細胞	CD8/Treg比
天然IL-2	17	6092	358
E62_30kD	33580	64134	1.9
E62K	11086	64037	5.8

實例4

【0641】 無α藥理學為PEG大小獨立的

【0642】 在Discoverx (Fremont CA)使用PathHunter IL-2細胞介素受體分析針對功能活性篩檢IL-2結合物。此分析使用重組人類U2OS細胞株，其表現各自與一半分裂報導酶β-半乳糖苷酶融合之IL-2受體β (IL-2Rβ)及γ (IL-2Rγ)次單元。第二細胞株經進一步工程改造以表現IL-2Rα次單元。用此等兩種細胞株進行平行測試，使得能夠評估IL-2受體αβγ以及

基礎βγ複合物之變異體活化。IL-2 βγ受體複合物上之IL-2促效活性刺激受體二聚及產生化學發光信號之報導子β-半乳糖苷酶復原。在促效劑模式中運作分析以測定各測試物品之EC_{50}，且比較IL2Rα陽性與陰性細胞類型之間的劑量-反應曲線概況，使得能夠確定IL2Rα對所觀測活性的貢獻。

【0643】 **圖7**展示用5kD及30kD PEG聚乙二醇化之化合物之所觀測效能與表現IL-2 Rα之細胞以及僅表現IL-2 Rβγ之細胞類似。此等結果表明此等化合物之IL-2 Rα接合之降低對PEG結合物之分子量不敏感。

【0644】 **實例5**

【0645】 **未處理(E3826-U1704)及B16-F10腫瘤負載(E3826-U1803)之C57BL/6小鼠中之PK/PD研究**

【0646】 研究設計概述於**表5**及**表6**中，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算。經由心臟穿刺在指示點收集末端血液樣品。研究E3826-U1704包括13個時間點(0.13、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48、72、96及120小時)，各時間點犧牲3隻小鼠，且研究E3826-U1803包括9個時間點(2、8、12、24、48、72、120、168及240小時)，各時間點犧牲4-7隻小鼠。收集血漿及血球(在兩個研究中)及研究E3826-U1803中之腫瘤以用於PK及PD分析。

【0647】 使用定性人類IL-2 ELISA分析(Abcam, Cambridge, UK)進行血漿樣品之生物分析。使用ELISA分析測定來源於血漿之樣品中之阿地介白素(Aldesleukin)、E62_30kD及P65_30kD及內標物之濃度。在NW Solutions (Seattle, WA)進行PK資料分析。將PK資料導入至Phoenix WinNonlin v6.4 (Certara/Pharsight, Princeton, NJ)中以進行分析。用非房室方法使用IV快速投與模型分析相對於時間資料之組平均血漿濃度。

表5：第E3826-U1704號PK/PD研究-未處理C57/BL6小鼠中之對照及測試處理組

處理	劑量*(mg/Kg)	途徑，排程	時間點	N
對照組	0	IV，單次劑量	13	3
阿地介白素	0.3	IV，單次劑量	13	3
P65_30kD	0.3	IV，單次劑量	13	3
E62_30kD	0.3	IV，單次劑量	13	3

*劑量係指P65_30kD IL-2多肽量，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算

表6：第E3826-U1803號PK/PD研究-對照及測試處理組-B16F-10黑色素瘤腫瘤負載小鼠(其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算)

處理	劑量(mg/kg)	途徑，排程	時間點	N
無(給藥前)	0 mg/kg	無	1	6
媒劑對照組	0 mg/kg	IV，單次劑量	9	3
P65_30kD	1 mg/kg	IV，單次劑量	9	4
P65_30kD	3 mg/kg	IV，單次劑量	9	4

【0648】 0.3 mg/kg下之P65_30kD、E62_30kD、E62_5kD及阿地介白素之血漿濃度曲線標繪於**圖8**中。

【0649】 在研究E3826-U1704中，相對於阿地介白素，P65_30kD與E62_30kD展現優良PK概況，如**表5**所概述。在阿地介白素單次IV快速給藥之後，在給藥後0.03小時(給藥後之第一量測時間點)觀測到Tmax，且可測量至給藥後4小時之平均血漿濃度。在P65_30kD及E62_30kD單次IV快速給藥之後，在給藥後0.03小時觀測到Tmax，且可測量至給藥後120小時(最後量測之時間點)之平均血漿濃度。在分開的研究中，在E62_5kD IV給藥之後，在給藥後0.133小時觀測到T_{max}，且可測量至給藥後12小時之平均血漿濃度。

【0650】基於C_{max}及AUC_{0-t}之暴露如下：

P65_30kD>E62_30kD>>E62_5kD>阿地介白素。具有較小PEG之E62_5kD具有更接近rIL-2之PK概況。基於Cmax及AUC0-t，P65_30kD暴露分別比阿地介白素高5.5倍及200倍。另外，與阿地介白素相比，P65_30kD展現t1/2延長23倍(13.3小時對比0.57小時)及CL降低約198倍(6.58對比1300 mL/h/Kg)。對於P65_30kD與E62_30kD，與阿地介白素相比，分佈體積(分別82.4及92.3 mL/Kg)降低約4.2至4.7倍，且與小鼠中之血量類似(85 mL/Kg；[Boersen 2013])。此表明P65_30kD及E62_30kD主要分佈於全身循環內。

表7：C57BL/6雌性小鼠中之P65_30kD PK參數

參數	單位	P65_30kD	E62_30kD	E62_5kD	阿地介白素
T_{max}	h	0.030	0.030	0.133	0.030
C_{max}	ng/mL	4,870	4,230	936	884
AUC_{0-t}	h*ng/mL	45,600	37,100	798	229
R^2		0.992	0.986	0.851	0.900
AUC_{INF}	h*ng/mL	45,600	37,100	807	230
$t_{1/2}$	h	13.300	14.500	2.56	0.573
CL	mL/h/Kg	6.580	8.07	372	1300
V_{ss}	mL/Kg	82.4	92.3	404	390

注意：R^2係各濃度對時間曲線之末期的適配度參數

所有參數展示至3位有效數字。

實例6

【0651】 末梢血液隔室中之藥力學觀測結果

【0652】 使用STAT5磷酸化及細胞增殖之誘導(早期分子標記物Ki-67及細胞計數)作為藥力學讀出來評估P65_30kD相對於其藥物動力學之藥理學概況。在CD8+效應T細胞中，對於P65_30kD與阿地介白素，pSTAT5 PD標記物展示與PK之良好相關性(表7)。在NK與CD8+ T細胞中直至72小時，且在Treg中直至24小時觀測到pSTAT5之持續升高。在給與阿地介白素之小鼠中，在僅2小時之後，pSTAT5誘導返回至基線(圖8)。

STAT5磷酸化轉譯為CD8+效應T細胞及NK細胞之增生反應(72-120小時)，但T reg並非如此(圖9A-圖9C)，對CD8+效應T細胞之表型分析揭露CD44+記憶細胞在此群體內實質性擴增(**圖10A-圖10B**)。

【0653】 **B16-F10腫瘤負載(E3826-U1803) C57BL/6小鼠中腫瘤隔室中之藥力學觀測結果**

【0654】 表8展示在B16-F10腫瘤負載小鼠中在3 mg/kg之P65_30kD之單次給藥之後的血漿及腫瘤藥物濃度，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算。腫瘤半衰期係血漿半衰期之兩倍(24.4對比12.6)，指示P65_30kD穿透腫瘤且保持於腫瘤中。曲線之尾端交叉，展示血漿消除比腫瘤快(資料未示出)。對於1及3 mg/kg劑量，腫瘤:血漿AUC比分別為9.7%及8.4%。

表8：B16-F10腫瘤負載C57BL/6雌性小鼠之P65_30kD血漿及腫瘤PK參數

參數	**P65_30kD (3 mg/kg)**	
	血漿	腫瘤
T_{max} (h)	*2.00	8
C_{max} (ng/mL)	40000	1550
t1/2 (h)	12.60	24.4
AUC_{0-t} (h*ng/mL)	656,000	55200
R^2	0.974	0.988
AUC_{INF} (h*ng/mL)	656,000	55200

【0655】 **圖11A-圖11B**展示在B16F10腫瘤中藉由P65_30kD使NK及CD+ T細胞擴增。圖11A展示在用3 g/kg之P65_30kD單次IV快速給藥處理之後腫瘤CD3+ T細胞群體中NK細胞、CD8+細胞及Treg之百分比。在處理之後5天藉由流式細胞測量術分析腫瘤樣品之免疫細胞群體。各資料點表示各時間點之來自3個複本之平均值，±SEM。細胞群體資料自第5天腫瘤樣品表示且CD8/Treg比自第7天樣品計算。**圖11B**展示在用3 mg/kg之

P65_30kD單次IV快速給藥處理之後7天，CD8+效應T細胞相對於CD4+調節T細胞之比率。各資料點表示各時間點之來自3個複本之平均值，±SEM。

【0656】 **Balb/c小鼠E3826-U1802中之MTD研究**

【0657】 在Crown Biosciences, Inc. (San Diego, CA)在未處理雌性Balb/C小鼠中進行P65_30kD之劑量範圍研究。研究設計展示於**表9**中，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算。在7個時間點(0.25、1、4、12、24、34、48及72小時)經由下頜下靜脈抽取血液樣品。收集血漿與血球用於PK及PD分析。

【0658】 採用市售ELISA套組，針對人類IL-2以及小鼠IL-2、TNF-α、IFNγ、IL-5及IL-6細胞介素分析所有血漿樣品。

表9：第E3826-U1802號PK/PD及MTD研究-未處理Balb/C小鼠中之對照及測試處理組

處理	劑量(mg/kg)	途徑，排程	時間點	N
原生	0 mg/kg		0	3
媒劑對照組	0 mg/kg	IV，BID×3	3	3
阿地介白素	0.01 mg/kg	IV，BID×3	3	3
阿地介白素	0.03 mg/kg	IV，BID×3	3	3
阿地介白素	0.1 mg/kg	IV，BID×3	3	3
阿地介白素	1.0 mg/kg	IV，BID×3	3	3
阿地介白素	3.0 mg/kg	IV，BID×3	3	3
阿地介白素	5.0 mg/kg	IV，BID×3	3	3
P65_30kD	0.01 mg/kg	IV，單次劑量	3	3
P65_30kD	0.03 mg/kg	IV，單次劑量	3	3
P65_30kD	0.1 mg/kg	IV，單次劑量	3	3
P65_30kD	1.0 mg/kg	IV，單次劑量	3	3
P65_30kD	3.0 mg/kg	IV，單次劑量	3	3
P65_30kD	5.0 mg/kg	IV，單次劑量	3	3
#P65_30kD	0.3 mg/kg	IV，單次劑量	8	3

*除72小時時間點外，所有時間點血液收集係經由下頜下靜脈。72小時時間點係末端血液收集。

#僅使用0.3 mg/kg劑量之P65_30kD進行PK/PD評價

【0659】 使用Balb/c小鼠之MTD研究中之毒理學觀測結果

【0660】 與高劑量阿地介白素相關之主要毒性係血管滲漏症候群及相關細胞介素釋放症候群(CRS)。為了評價此作用在小鼠中之潛能，進行以0.01-5.0 mg/kg劑量範圍內之劑量IV投與P65_30kD之單次劑量(**表10**)，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算。所進行之分析係血液病、病理組織學、器官重量及細胞介素分析。在P65_30kD或阿地介白素兩者之情況下，相對於媒劑對照組小鼠，未觀測到關於血液病、病理組織學或體重之異常。關於細胞介素分析，觀測到阿地介白素在起始於1 mg/kg至5 mg/kg下之升高之血漿IL-5含量(**圖12A**)。在P65_30kD之情況下，僅在5 mg/kg劑量下發現IL-5之適度增加(但相比於阿地介白素較少) (**圖12B**)。在阿地介白素與P65_30kD之情況下，觀測到全身IFNγ含量之瞬時升高。

實例7

【0661】 第20157276號食蟹獼猴研究中之PK/PD

【0662】 在投與0.3 mg/kg之單一靜脈內劑量後，在非未處理食蟹獼猴中評價P65_30kD之藥物動力學及藥力學概況，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算。在Charles River Laboratories, Inc. (Reno, NV)進行研究且在NW Solutions (Seattle, WA)進行PK資料分析。在給藥前及21個時間點(給藥後0.5、1、2、4、8、12、24、36、48、72、120、144、168、192及240小時收集血液樣品。收集血漿與血球用於PK及PD分析。所選時間點用於PK、PD、細胞群體及血液病分析。

【0663】 採用市售ELISA套組針對人類IL-2 (PK讀取)分析所有血漿樣品。

【0664】 表10展示食蟹獼猴中之P65_30kD PK參數。

表10

			0.3 mg/kg		
			動物2699	動物2705	平均值
ROA	參數	單位	估計值		
IV	T_{max}	hr	0.500	0.500	0.500
	C_{max}	ng/mL	11000	11400	11200
	AUC_{0-t}	hr*ng/mL	121000	120000	121000
	$t_{1/2}$	hr	13.4	13.9	13.6
	CL	mL/hr/kg	2.47	2.49	2.48
	V_{ss}	mL/kg	29.0	32.1	30.5

【0665】 在單次IV快速給藥之後，在給藥後0.5小時(給藥後之第一量測時間點)觀測到Tmax，且可測量至給藥後168小時(最後量測)之平均血漿濃度，P65_30kD之$t_{1/2}$及AUC分別係13.6小時及121000 hr×ng/mL。

【0666】 **血液病參數-第20157276號食蟹獼猴研究**

【0667】 對於血液學參數，評價時間點對應於給藥前1天及給藥後1、3、6、8、10、12、14、17、19、21天。

【0668】 **圖13**展示絕對白血球及差別計數。資料表示平均值±SD (N=2個動物/劑量組)。

【0669】 對白血球(WBC)亞群之分析揭露WBC計數之顯著增加係歸因於淋巴細胞細胞群體之擴增，其符合P65_30kD之機制。無嗜伊紅血球之升高。

實例8

【0670】 **用各種PEG IL-2化合物處理之初級淋巴細胞中之Treg擴增的標記物**

【0671】 收集來自新鮮人類白血球減少系統(LRS)之初級淋巴細胞，用ficoll準備，且在4C下靜置隔夜。第二天，FACS用於分類包括CD8陽性T細胞、NK細胞及Treg之淋巴細胞群體。經分離之群體用盤結合之抗CD8/CD28刺激兩天。天然IL-2及K9_30kD之劑量曲線在37℃下培育。在第三天，更新培養基且再次添加化合物之劑量曲線。在第6天，收集細胞且使用流式細胞測量術分析，以分析CD25含量及Ki-67，作為增殖之量度。**圖16**展示與普通IL-2對照組相比，PEG IL-2化合物可在初級淋巴細胞中離體特異性擴增免疫細胞群體。**圖16A**展示用IL-2處理後免疫細胞擴增的標記物Ki67(對照組)。**圖16B**展示用P65_30kD處理後免疫細胞擴增的標記物Ki67。

實例9

【0672】 **可針對活體內清除率調整PEG大小來調節藥物動力學**

【0673】 研究經5kD及30kD mPEG修飾之聚乙二醇化IL-2變異體E62相比於參考化合物阿地介白素(普留淨(Proleukin))之PK/PD關係。存在4組16-22 g範圍內之6-8週齡C57/BL6小鼠，各組含有12隻小鼠。小鼠在第0天，時間0經由單次IV注射接受劑量。在指定時間點，在EDTA管中收集約100 μl全血用於處理：將50 μl固定在緩衝液中用於流式細胞測量術，且自剩餘樣品中提取血漿用於ELISA分析。為收集末端血液，固定約300 μl全血，使剩餘樣品短暫離心以得到血漿且用於ELISA。

在以10 mL/kg IV給藥之前，在PBS中將測試物品調配至37.5 μg/ml，且在給藥後t=8分鐘、15分鐘、30分鐘及1、2、4、8、12、24、48、72、96及120小時收集100 μL樣品。**表11**說明治療方案，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算。**表12**說明各種活體

內清除率。

【0674】 表11說明使用IL2變異體之小鼠活體內處理

組	處理	劑量(mg/kg)
1	媒劑	0.0
2	阿地介白素	0.3
3	E62 (30kDa PEG)	0.3
4	E62 (5kDa PEG)	0.3

【0675】 表12說明與阿地介白素對照組相比的IL變異體之清除率

處理	阿地介白素	E62 (30kDa PEG)	E62 (5kDa PEG)
Cmax，n/g/mL	745	8,450	936
AUC_{0-t} (ng*h/mL)	432	81,900	807
$t_{1/2}$ (h)	0.576	10.4	2.56
Vss (mL/Kg)	232	48.9	404
CL (mL/g/Kg)	694	3.66	373

實例10

【0676】 表11說明本文所述之IL-2序列及化合物。

名稱	序列	SEQ ID NO:
IL-2 (智人) (成熟形式)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLT	1
IL-2 (智人) (前驅體) NCBI寄存編號： AAB46883.1	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQC LEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGS ETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	2

【0677】 實例11

【0678】 初級人類白血球減少系統(LRS)衍生之PBMC樣品中之例示性IL-2化合物的離體免疫反應分析

【0679】 為確定例示性IL-2化合物之不同受體特異性對初級免疫細胞亞群之活化的影響方式，使用多色流式細胞測量術進行人類LRS衍生之

外周血單核細胞(PBMC)樣品中淋巴細胞活化之濃度-反應分析。表13之結合物藉由SEQ NO. 1之修飾來合成。在PrimityBio LLC (Fremont, CA)進行此等研究。將衍生自人類LRS樣品之初級淋巴細胞用例示性IL-2化合物之稀釋系列處理，且使用**表12**中所示之組，基於各淋巴細胞細胞類型中之pSTAT5信號傳導定量。

【0680】 **表12.指示細胞群體之關鍵詞**

標記物	細胞群體
CD3	T細胞
CD4	Th細胞
CD8	T效應細胞
CD45RA	原生T細胞
CD56	NK細胞
CD14/19	單核球/B細胞
CD25	Treg或經驗T細胞
CD127	非Treg
CD62L	記憶T對比效應記憶T細胞
pSTAT5 (Y694)	活化標記物

【0681】 在用例示性IL-2變異體K9_30kD處理之後，針對濃度-反應模式中不同T及NK細胞子集之活化分析流式細胞測量術資料，讀取pSTAT5積聚。

【0682】 **圖15A-圖15B**展示人類LRS初級細胞中pSTAT5信號傳導(**圖15A**)及小鼠CTLL-2群體中增殖反應(**圖15B**)之劑量反應曲線。

【0683】 **表13**展示用所指示之IL-2變異體處理之人類LRS樣品或CTLL-2增殖中pSTAT5信號傳導(EC50)之劑量反應EC50。

表13 用所指示之IL-2變異體處理之人類LRS樣品或CTLL-2增殖中pSTAT5信號傳導之劑量反應EC50 (EC50)

化合物	NK細胞	CD8+ T細胞	Treg細胞	CD8+/Treg比	Treg EC50對比天然IL-2之倍數增加	CTLL-2增殖
天然IL-2	4586	31024	75	414	1	455.8
K9_30kD	169578	1100679	2217	496	30	504
H16_30kD	2545257	12070108	34976	345	466	80755
L19_30kD	6756768	22436430	93205	241	1243	3510
D20_30kD	2643930	9505217	1129455	8	15059	689939
M23_30kD	143620	539824	1030	524	14	1102
N26_30kD	258531	1188859	2459	483	33	2594
N88_30kD	3298113	11111537	323201	34	4309	66606
E100_30kD	35088	195823	483	405	6	1676
N119_30kD	34010	143380	535	268	11	1215
T123_30kD	33396	152928	269	569	6	255
Q126_30kD	3676807	19722480	29454	670	393	3584
S127_30kD	20210	92190	150	615	3	123
T131_30kD	24207	132922	258	515	3	641
N88R/D109_30kD	2780819	12503386	175805	71	3663	59577
V91K	20537	102255	142	720	3	99.5
N88R	2312847	15025734	11082	1356	148	363

【0684】自由MFI曲線圖產生之劑量反應曲線計算EC50值(pg/ml)。

【0685】*在各個別實驗中與天然IL-2 (野生型IL-2)操作相比，Treg效能變化。

實例12

【0686】**C57BL/6小鼠中之PK研究**

【0687】實驗細節概述於**表14**中，其中劑量為參考不包括PEG部分之質量的蛋白質組分之質量計算。

【0688】**表14.**

組別	動物之數量	測試/對照物品(劑量)	途徑；給藥方案	一或多個終點
1	9	天然IL-2 (野生型) (3.0 mg/kg) 濃度：0.6 mg/mL	IV；在第0天在T=0時以5 mL/kg單次給藥	在給藥後0.08、0.25、0.5、1、2、4、8、12及24小時收集血液
2	9	K35_30kD (3.0 mg/kg) 濃度：0.6 mg/mL	IV；在第0天在T=0時以5 mL/kg單次給藥	

3	9	K35_30kD (0.3 mg/kg) 濃度：0.6 mg/mL	IV；在第0天在T=0時以5 mL/kg單次給藥	
額外	6	N/A	N/A	空白基質收集(不定時)
總計	33			

【0689】評價在兩個劑量水準下例示性聚乙二醇化IL-2化合物K35_30kD之藥物動力學特性。凍幹測試物品在PBS中復原，且針對各劑量組，經由靜脈內尾部靜脈注射以0.3及3 mg/kg對九隻雄性C57BL/6小鼠給藥(參見下文收集細節)。在給藥後0.08、0.25、0.5、1、2、4、8、12及24小時收集血液樣品。來自Abcam之hIL-2 ELISA套組(ab100566) (其不與天然小鼠IL-2交叉反應)用於測試物品之偵測及定量。為調節天然及聚乙二醇化化合物之套組偵測之敏感性的ELISA特異性差異，使用測試物品稀釋緩衝液產生天然IL-2及K35_30kD測試物品標準曲線，且根據各別標準曲線分析資料。標繪之資料表示如上文所述之三個個別樣品(生物複本)之平均值及SEM，且提取K35_30kD測試物品之PK參數且概述於**表15**中。

【0690】**表15.**

			劑量	
			0.3 mg/kg	**3 mg/kg**
分析物	**參數**	**單位**	**估計值**	
IL-2 K35-mPEG30kD	T_{max}	hr	0.250	0.250
	C_{max}	ng/mL	6080	57700
	AUC_{0-t}	hr*/ng/mL	38500	425000
	R^2		0.994	0.947
	$AUC_{\%extrap}$	%	35.3	37.4
	$AUC_{0-\infty}$	h*ng/mL	59600	679000
	$t_{1/2}$	hr	18.2	19.5
	C_{max}/D	kg*ng/mL/mg	20300	19200
	AUC_{0-t}/D	hr*ng/mL	128000	142000

實例13

【0691】**與人類IL-2R α及IL-2R β之結合之表徵**

【0692】進行研究以表徵例示性IL-2結合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1與人類IL-2R α及IL-2R β之結合。

【0693】**測試物品樣品結合至IL-2R α。**測試溶液中之測試物品樣品在IL-2R α受體表面上之結合。藉由減去來自無受體的參考表面之信號以及使用Scrubber-2 (Biologic Software Pty Ltd)之緩衝注射之平均值來處理反應資料。rhIL-2濃度系列之反應全域擬合至包括質量轉移步驟之1:1相互作用模型(**圖17A-圖17B**)。結合常數之概述提供於**表16**中。

【0694】**表16**

	K_D (nM)	
	IL-2 R α	**IL-2 R β**
rhIL-2	11 ± 1	0.7 ± 1
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1	未偵測到	3.1 ± 0.3

【0695】**蛋白質塗佈之CM4感測器晶片上的Fc標記之IL-2R β的捕獲。**將CM4感測器晶片對接至Biacore 4000光學生物感測器中，且用HBS-P操作緩衝液使儀器預動(prime)三次(HBS-P為添加有0.005% Tween-20之1× HBS-N)。使用標準NHS/EDC偶合條件偶合蛋白質A。將IL-2R β-Fc溶解於水中達至0.1 mg/ml之濃度，且隨後1/1000稀釋於HBS-P操作緩衝液中。注射IL-2R β-Fc持續不同時間長度以產生2種不同密度受體表面(約750 RU及1500 RU，資料未展示)。

【0696】**結合至IL-2R β之樣品之表徵。**測試溶液中之測試物品樣品在IL-2R β受體表面上之結合。藉由減去來自無受體的參考表面之信號以及使用Scrubber-2 (Biologic Software Pty Ltd)之緩衝注射之平均值來處理反應資料。如**圖17C-圖17D**中所示，將一式兩份測試之rhIL-2 (4 μM最高濃度2倍稀釋)及IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1樣品(8 μM最高濃度2倍稀釋)之反應全域擬合至包括質量轉移步驟之1:1相互作用模型。結

合常數之概述提供於**表16**中。

【0697】 **結果。**在Biacore SPR生物感測器系統內，在帶鎳之NTA感測器晶片上以不同密度捕獲His標記之IL-2R α。在蛋白質A塗佈之CM4感測器晶片上以不同密度捕獲Fc標記之IL-2R β。將反應資料擬合至1:1相互作用模型，以測定各相互作用之結合常數。重組人類IL-2 (rhIL-2)以約11 nM之親和力結合至IL-2R α，同時不可偵測到IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1樣品與IL-2R α之結合。在此等測試條件下，rhIL-2以約700 nM之親和力結合至IL-2R β，且IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1以約3 μM之親和力結合至IL-2R β。

實例14

【0698】 進行研究以確定針對轉錄因子STAT5 (pSTAT5)信號傳導效能人類初級免疫細胞類型之磷酸化形式，IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1對比重組人類介白素-2 (hIL-2)之效能及不同細胞類型特異性。

【0699】 **人類PBMC樣品處理方法。**將IL-2(對照組，1 mg/mL)及IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 (「批次1」：1.27 mg/mL；「批次2」：2.29 mg/mL)之儲備液儲存為在-20℃下冷凍之儲備溶液。

【0700】 在PBS中稀釋IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1批次1及批次2化合物，且使用PBS+0.1% BSA稀釋IL-2以產生10×儲備液。10× IL-2儲備液濃度為5 μg/ml，且GLP-1及GLP-2儲備液取決於實驗在6-300 μg/ml之間。以連續5倍稀釋來稀釋10×儲備液以產生10點劑量滴定。IL-2之最高劑量為5 μg/ml，且批次1及批次2儲備液取決於實驗在6-300 μg/ml之間。將10 μl各儲備液添加至90 μl細胞樣品中，以獲得500 ng/ml之IL-

2，及0.6-30 μg/ml之批次1及批次2中之每一者之最終最高劑量。

【0701】 **樣品刺激。**為了刺激，將上文所概述之10 μl劑量滴定添加至預平衡至37℃之90 μl血液樣品中。在37℃下培育樣品45分鐘。在培育期結束時，溶解紅血球且如下同時固定細胞：

【0702】 將100 μl細胞轉移至900 μl BD溶解/固定緩衝液(Beckton Dickinson，目錄號558049)，且立即渦旋。在即將添加之前，藉由用細胞培養水1:5稀釋儲備液來製備BD溶解/固定液。樣品在室溫下培育10分鐘，接著在450×g下離心5分鐘以使細胞集結。將集結細胞用PBS+0.5% BSA洗滌且儲存於-37℃下直至分析。

【0703】 **染色方案。**

步驟1。在室溫下解凍細胞。步驟2。添加Fc嵌段(TruStain FcX™)。步驟3。在室溫下培育5分鐘。步驟4。添加來自**表17**之以下抗體：

【0704】 **表17**

【0705】 人類組之抗體。

	螢光團
CD4	BUV737
CD56	BV711
CD16	BV711
CD8	BUV805
CD27	BV786
CD45RA	BUV395
CD127	FITC
CD25	生物素

【0706】 步驟5。在室溫下培育20分鐘。步驟6。用PBS+0.5% BSA洗滌細胞兩次。步驟7。藉由將10個體積之甲醇添加至一個體積之細胞來滲透細胞。步驟8。在4℃下培育細胞10分鐘。步驟9。用PBS洗滌。步驟10。用含0.5% BSA之PBS洗滌細胞。步驟11。添加Fc嵌段(TruStain

FcX™)。步驟12。自**表18**添加以下滲透後染色組：

【0707】 **表18**

【0708】 染色試劑。

	螢光團
CD3	PE-Cy7
STAT5	Ax647
抗生蛋白鏈菌素	BV421
FOXp3	PE

【0709】 **流式細胞測量術及資料分析。**樣品在Becton Dickinson Fortessa及LSR II儀器上用五種雷射(372 nM、405 nM、488 nM、561 nM及640 nM)操作。儀器裝備有包括散射參數之20個偵測器。使用Becton Dickinson Cytometer Setup & Tracking Beads有規律地校準儀器。使用96孔高通量取樣器，在小於8,000個細胞/秒下操作含有染色樣品之96孔盤。

【0710】 將資料作為.fcs檔案導出至網路驅動，且進行補償以考慮螢光團之溢出，且標註fcs檔案。隨後根據**圖18**描述之策略閘控fcs檔案。首先藉由FSC-H使用FSC-A將細胞閘控在單峰，以排除任何聚集體或二重峰(**圖18**，單峰閘，第1張圖)。在此閘內，將細胞閘控在中至高之正向散射(FSC-A)及側面散射(SSC-A)，以排除紅血球、碎片及粒細胞(**圖18**，淋巴細胞閘，第2張圖)。隨後將T細胞閘控為CD3+，CD56/16陰性群體，第3張圖。將NK細胞鑑別為CD3陰性，CD56/16高群體，第3張圖。隨後將T細胞分成CD4+ T細胞及CD8+ T細胞(**圖18**，第4張圖)。接著自CD4+T細胞將Treg閘控為$CD25^{hi}\times C127^{lo}$群體，**圖18**，第5張圖。

【0711】 **統計資料及EC50值之導數之標繪。**自偵測磷酸化之通道中之信號計算細胞群體、供體及化合物處理中之每一者之中值螢光強度

(MFI)。使用Spotfire分析統計資料。在Spotfire內，以化合物劑量之對數尺度及MFI讀數之線性尺度來標繪資料。使用4參數邏輯回歸方程式擬合此等資料。將EC50計算為曲線之反曲點。

【0712】 **結果。**將人類IL-2及IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1樣品稀釋且針對如上文所述之三個個別供體中之每一者一式三份地進行測試。所計算之半數最大有效濃度(EC50)值列於表19中。結果表明，IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1為來自人類之淋巴細胞中IL-2受體信號傳導之強效促效劑。與展示IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1特異性接合IL-2Rβ次單元但不特異性接合IL2Rα之先前活體外結合研究一致，與不構成性表現高含量之IL-2Rα之Teff及NK細胞相比，其展現效能依賴於IL-2Rα接合之Treg細胞中之特異性降低之信號傳導效能。

【0713】 **表19**

【0714】 針對來自人類供體之初級CD8+ T細胞、NK細胞及Treg細胞亞群之hIL-2及IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1批次之效能特徵。

人類細胞EC50 (ng/mL)					
材料	**CD8+ T**	**記憶CD8+ T**	**NK**	**Treg**	**CD8/Treg比**
人類IL-2	12.4 ± 1.29	11.3 ± 1.63	2.88 ± 1.63	0.027 ± 0.005	460
批次1*	224 ± 25.3	240 ± 27.3	54.7 ± 6.55	114 ± 20.3	2.0
批次2*	265 ± 12.4	284 ± 18.3	55.7 ± 8.62	132 ± 24.0	2.0

資料為自來自三個獨立供體之樣品之一式三份測試所計算的平均值±平均值之標準誤差(SEM)。*IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1。

【0715】 **實例15：IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1在人類血清中之穩定性**

【0716】 進行研究以評價化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1在人類血清中隨時間推移之穩定性。

【0717】 以下材料用於研究：

試劑	來源	目錄號
化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1	Synthorx	批次19-1756
混合人類A/B血清	Fischer Sci	NC9370648
山羊抗人類IL2抗體	Abcam	Ab10752
PEG多株抗體	ThermoFisher	PA5-32247
小鼠抗兔IgG-HRP	Southern Biotech	4090-05
含Blocker™酪蛋白之PBS，1%	ThermoFisher	37528
1-Step™ Ultra TMB-ELISA基質溶液	ThermoFisher	34028
用於TMB基質之停止溶液	ThermoFisher	N600
PBS (10×)，pH 7.4	ThermoFisher	70011044

【0718】 將化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1在PCR管中以三(3)個濃度(2590 ng/mL、847 ng/mL及212 ng/mL)摻入人類A/B混合血清中。各濃度時間點一式三份製備。以25900 ng/mL、8470 ng/mL及2120 ng/mL之儲備液濃度製備化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1，且將20 μL之各儲備溶液添加至180 μL人類混合血清中，混合孔，且在37℃下培育至多168小時。在對應於培育後0、6、24、48、72、96、120及168小時之時間點收集樣品，分成兩個等分試樣，且在-80℃下冷凍以用於批料分析。一天分析第一組樣品且在另一天分析第二組樣品。

【0719】 在使用定製ELISA形式利用山羊抗人類IL-2及PEG多株抗體分析當天，使樣品在室溫下解凍。ELISA盤在4℃下用1 μg/mL α-人類IL2抗體塗佈隔夜且用1×PBS用盤洗滌器洗滌3×300 μL。用含1%酪蛋白之PBS阻斷分析盤一(1)小時。用人類血清預稀釋測試樣品以使其進入ELISA之偵測範圍中。亦用人類血清基質將校準標準及QC樣品製備成純濃度。所有樣品在分析緩衝液(1%酪蛋白)中稀釋25倍至MRD中(最小所需稀釋)。將樣品添加至盤且在室溫下在盤震盪器上密封兩(2)小時且用

1×PBS用盤洗滌器洗滌3×300 μL。以每孔100 μL添加1 μg/mL之二級偵測抗體α-PEG (兔)且在室溫下在盤震盪器上密封一(1)小時且用1×PBS用盤洗滌器洗滌3×300 μL。最終偵測抗體α-兔-HRP製備為1:5000稀釋液且以每孔100 μL添加且在室溫下在盤震盪器上密封45分鐘且用1×PBS用盤洗滌器洗滌3×300 μL。以每孔100 μL添加基質且在無密封或震盪之情況下避光置放30分鐘。最後，向各孔中添加50 μL停止溶液且立即在Spectramax iD5盤讀取器中讀取盤以獲得所有樣品之OD450值。使用4-參數對數擬合曲線方法將原始讀數內插至相應濃度以測定樣品濃度。**圖19**中表示之資料為兩次重複ELISA操作之結果。此等結果表明化合物IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1在人類血清基質中直至所分析之最後一個時間點(其為168小時)時穩定。

【0720】 儘管本文已展示及描述本發明之較佳實施例，但熟習此項技術者將明白，此類實施例僅藉助於實例提供。在不脫離本發明之情況下，熟習此項技術者現將想到諸多變體、改變及取代方案。應理解，本文所描述之本發明之實施例的各種替代方案可用於實踐本發明。意欲以下申請專利範圍定義本發明之範疇，且由此涵蓋此等申請專利範圍及其等效物之範疇內的方法及結構。

【序列表】

<110> 美商欣爍克斯公司(SYNTHORX, INC.)

<120> IL-2 結合物及其使用方法

<130> 46085-729.851

<140> 109103596
<141> 2020-02-05

<150> US 62/940,173
<151> 2019-11-25

<150> US 62/899,035
<151> 2019-09-11

<150> US 62/870,581
<151> 2019-07-03

<150> US 62/847,844
<151> 2019-05-14

<150> US 62/802,191
<151> 2019-02-06

<160> 87

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 133
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 2
<211> 153
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150

<210> 3
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 3
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 4
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 4
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 Ser 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> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> 任何非天然胺基酸

<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

Xaa 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> 6
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 6
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 Xaa 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> 7
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 7
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa 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> 8
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223> 任何非天然胺基酸

<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 Xaa 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> 9
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 9
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 Xaa 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> 10
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<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 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

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

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<400> 11
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

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

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Lys 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> 12
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<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 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> 13
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223>N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<400> 13
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 Ser 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> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<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 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> 15
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<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 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

Lys 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> 16
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 16
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 Lys 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> 17
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<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 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 Ser 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> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 18
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 Ser 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>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>

<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<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 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> 20
<211> 133
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES

<222> (65)..(65)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<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

Lys 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> 21
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 21
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 Lys 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> 22
<211> 133
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 22

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	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>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 23

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	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> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 24
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 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> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 25
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

Lys 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> 26
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 26
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 Lys 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> 27
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 27
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 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> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 28
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 29
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 29
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 30
<211> 132
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 30
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 31
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 31
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 32
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 32
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 33
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 33
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 34
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> 任何非天然胺基酸

<400> 34
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 35
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223>N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<400> 35

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 36
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223>N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<400> 36
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 37
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<400> 37
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 38
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)

<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<400> 38

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
    130
```

<210> 39
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES

<222> (34)..(34)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<400> 39
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 40
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>

<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 40
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 41
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 41
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 42
<211> 132

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 42

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser	Thr	Leu	Thr
	130		

<210> 43
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 43
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 44
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 44
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 45
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 45
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 46
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 46
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 47
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 47
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 48
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 48
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 49
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 49
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 50
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 50
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 51
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 51
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 52
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)

<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 52
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 53
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 53
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 54
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 54

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser	Thr	Leu	Thr
	130		

<210> 55
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 55

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				

Lys	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> 56
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 56
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 Lys 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> 57
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 57
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 58
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 58
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 59
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 59
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 60
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 60
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

Lys 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> 61
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 61
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 Lys 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> 62
<211> 133
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 62
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 63
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 63

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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 64
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 64
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 65
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>

<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 65
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

Lys 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> 66
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 66

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	Lys	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> 67
<211> 133

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 67

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	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			

Ile	Ser	Thr	Leu	Thr
	130			

<210> 68
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223>穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 68

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	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 69
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> 穩定結合於PEG之N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 69
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 Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 70
<211> 132
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223>N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 70
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 71
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 71
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 72
<211> 132
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 72
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 73
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223>N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 73
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 74
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 74
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 75
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 75
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 76
<211> 132
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 76
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 77
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)

<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 77
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 78
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 78
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 79
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 79

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser	Thr	Leu	Thr
130			

<210> 80
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(64)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 80

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 81
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (61)..(61)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 81
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 82
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223>N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 82
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 83
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223> 參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 83
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 84
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸

<220>
<223>參見如針對取代及較佳實施例之詳細描述所遞交之說明書

<400> 84
Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 85
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 85
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 86
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 除Pro外之任何胺基酸

<400> 86
Val Pro Gly Xaa Gly
1 5

<210> 87
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 87
Phe Gln Ser Ser Ser Ser Lys Ala Pro Pro Pro Ser Leu Pro Ser Pro
1 5 10 15

Ser Arg Leu Pro Gly Pro Ser Asp Thr Pro Ile Leu Pro Gln
20 25 30

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種IL-2結合物，其包含含有疊氮基之離胺酸類似物的IL-2多肽，該疊氮基共價連接至含有聚乙二醇(PEG)的結合部分，其中：

該IL-2多肽包含具有與SEQ ID NO: 1至少80%之序列一致性的胺基酸序列；以及

該離胺酸類似物係取代在位置K35、F42、F44、K43、E62、P65、R38、T41、E68、Y45、V69、或L72上的胺基酸，該等位置係參考SEQ ID NO: 1中之胺基酸位置。

【請求項2】如請求項1之IL-2結合物，其中該PEG具有約5 kDa、約10 kDa、約15 kDa、約20 kDa、約25 kDa、約30 kDa、約35 kDa、約40 kDa、約45 kDa、或約50 kDa的分子量。

【請求項3】如請求項1或2之IL-2結合物，其中該PEG具有約30 kDa的分子量。

【請求項4】如請求項1或2之IL-2結合物，其中該離胺酸類似物係取代位置P65上的胺基酸，該位置係參考SEQ ID NO: 1內胺基酸位置。

【請求項5】如請求項1或2之IL-2結合物，其中該IL-2多肽包含對應於SEQ ID NO: 1的N端缺失1個殘基。

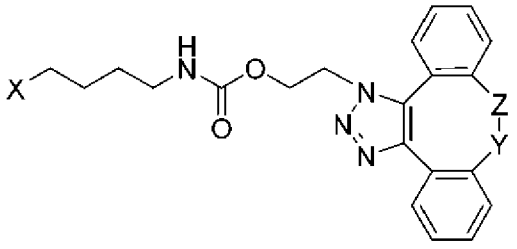
【請求項6】如請求項1或2之IL-2結合物，其中該離胺酸類似物係N6-(2-疊氮基乙氧基)-羰基-離胺酸。

【請求項7】如請求項1或2之IL-2結合物，其中該離胺酸類似物係N6-((2-疊氮基乙氧基)-羰基)-L-離胺酸。

【請求項8】如請求項1或2之IL-2結合物，其中該IL-2多肽包含具有與SEQ ID NO: 1至少95%之序列一致性的胺基酸序列。

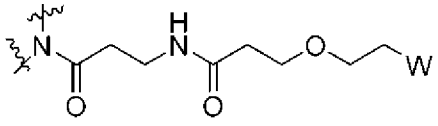
【請求項9】如請求項1或2之IL-2結合物，其中該IL-2多肽包含具有與SEQ ID NO: 1至少97%之序列一致性的胺基酸序列。

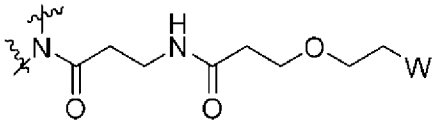
【請求項10】如請求項1之IL-2結合物，其中該IL-2多肽包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3，其中參考SEQ ID NO: 3中之胺基酸位置，在選自K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68、及L71之胺基酸位置處的至少一個胺基酸殘基經具有式(I)之結構之離胺酸類似物取代：

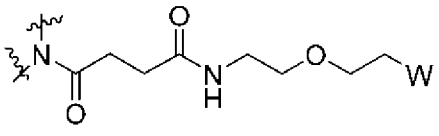


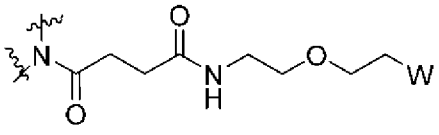
(I)；

其中：

Z為CH_2及Y為  ；

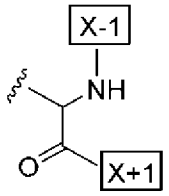
Y為CH_2及Z為  ；

Z為CH_2及Y為  ；或

Y為CH_2及Z為  ；

W為分子量選自以下之PEG基團：約5 kDa、約10 kDa、約15 kDa、約20 kDa、約25 kDa、約30 kDa、約35 kDa、約40 kDa、約45 kDa、約50 kDa及約60 kDa；

X為具有以下結構的L-胺基酸：



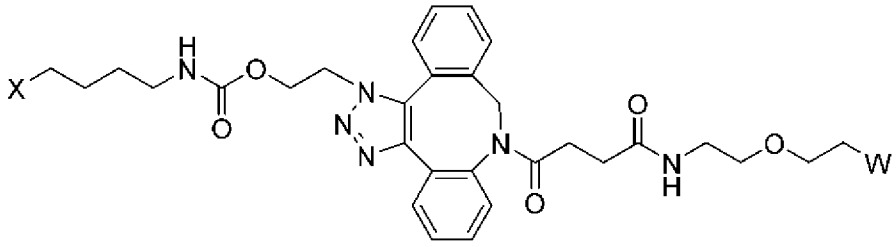
；

X-1表示經取代胺基酸殘基前一個胺基酸殘基的連接點；以及

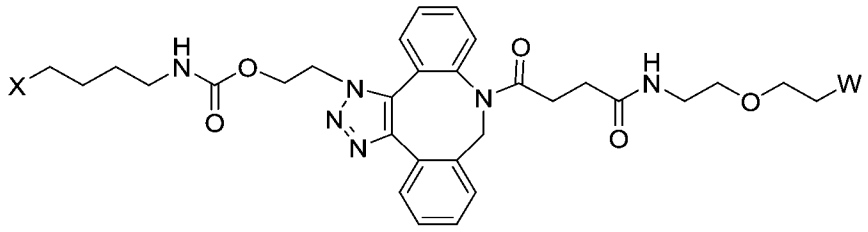
X+1表示經取代胺基酸殘基後一個胺基酸殘基的連接點。

【請求項11】如請求項10之IL-2結合物，其中在位置P64的至少一個胺基酸殘基被具有式(I)之結構之離胺酸類似物所取代。

【請求項12】如請求項10或11之IL-2結合物，其中該式(I)之結構具有式(IV)或式(V)之結構：



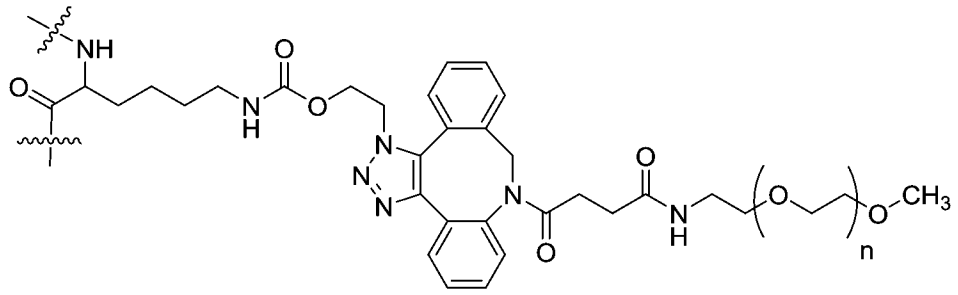
(IV)；



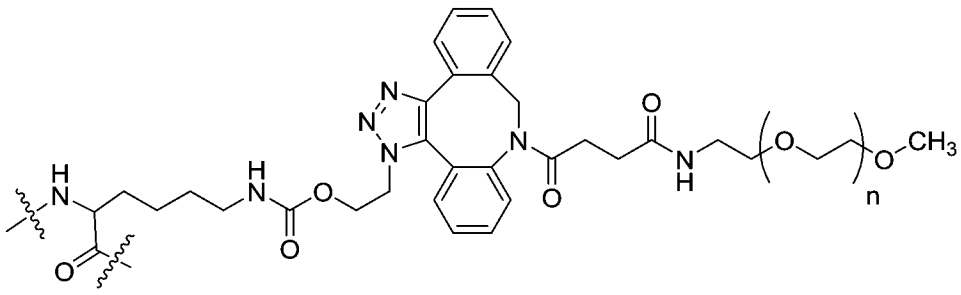
(V)。

【請求項13】如請求項10或11之IL-2結合物，其中W為具有分子量約30 kDa之PEG基團。

【請求項14】如請求項10之IL-2結合物，其中P64位置處之至少一個胺基酸殘基係被具有式(I)之結構之離胺酸類似物所取代，該式(I)之結構具有式(XII)或式(XIII)之結構：



(XII)



(XIII)

其中：

n係致使具有-$(OCH_2CH_2)_n$-OCH_3之結構之PEG基團具有約5 kDa、約10 kDa、約15 kDa、約20 kDa、約25 kDa、約30 kDa、約35 kDa、約40 kDa、約45 kDa、約50 kDa、或約60 kDa之分子量的整數；以及

波浪線表示與SEQ ID NO: 3內未經取代之胺基酸殘基的共價鍵。

【請求項15】如請求項14之IL-2結合物，其中n係致使具有-$(OCH_2CH_2)_n$-OCH_3之結構之PEG基團具有約30 kDa之分子量的整數。

【請求項16】如請求項1、2、或10之IL-2結合物，其為醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物。

【請求項17】一種醫藥組合物，其包含如請求項1至16中任一項之IL-2結合物，以及醫藥學上可接受之賦形劑。

【請求項18】一種醫藥組合物，其包含如請求項12或13之IL-2結合物與醫藥學上可接受之賦形劑的混合物，其中該混合物包含(i)其中該式(I)之結構係具有式(IV)之結構的IL-2結合物以及(ii)其中式(I)之結構係具有式(V)之結構的IL-2結合物。

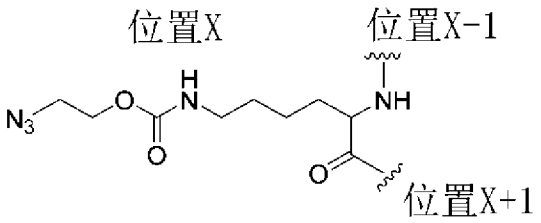
【請求項19】一種醫藥組合物，其包含如請求項14或15之IL-2結合物與醫藥學上可接受之賦形劑的混合物，其中該混合物包含(i)其中式(I)之結構具有式(XII)之結構的IL-2結合物以及(ii)其中式(I)之結構具有式(XIII)之結構的IL-2結合物。

【請求項20】一種如請求項1至16中任一項之IL-2結合物或如請求項17至19中任一項之醫藥組合物之用途，其用於製造用於治療有需要之個體的癌症之藥物。

【請求項21】如請求項20之用途，其中該癌症選自：腎細胞癌(RCC)、黑色素瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭頸部鱗狀細胞癌(HNSCC)、尿道上皮癌(UC)、梅克爾細胞癌(MCC)、卵巢癌、胃癌、乳癌、膀胱癌、骨癌、腦癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、胰臟癌、前列腺癌、皮膚鱗狀細胞癌(CSCC)，以及經典霍奇金淋巴瘤(cHL)。

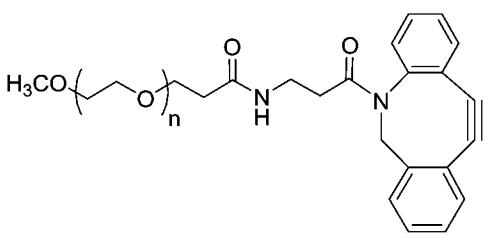
【請求項22】一種製造IL-2結合物的方法，其包含：

將包含下式之非天然胺基酸的IL-2多肽或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物

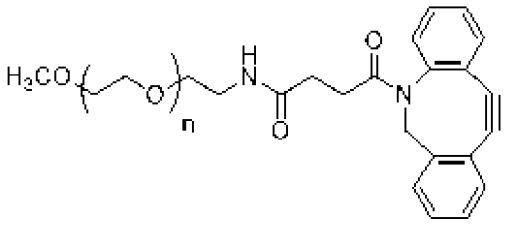


其中該IL-2多肽包含具有與SEQ ID NO: 3至少80%之序列一致性的胺基酸序列，位置X-1代表與前一個胺基酸殘基的連接點，位置X+1代表與下一個胺基酸殘基的連接點，且位置X代表該非天然胺基酸所置換之胺基酸的位置，其中位置X係參考SEQ ID NO: 3中之胺基酸位置的 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68、或L71，

與下式之mPEG-DBCO反應，以形成該IL-2結合物，



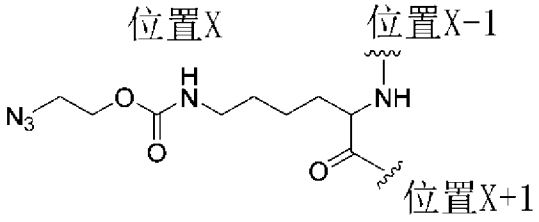
或



其中n係一整數，其係使mPEG-DBCO包含具有約5 kDa、約10 kDa、約15 kDa、約20 kDa、約25 kDa、約30 kDa、約35 kDa、約40 kDa、約45 kDa、約50 kDa、或約60 kDa之分子量的mPEG。

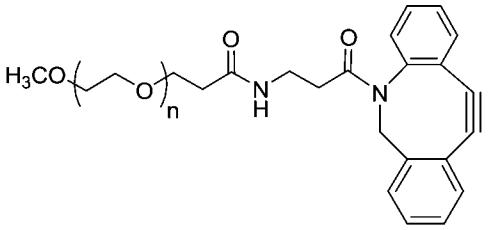
【請求項23】一種製造IL-2結合物的方法，其包含：

將包含下式之非天然胺基酸的IL-2多肽或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或水合物



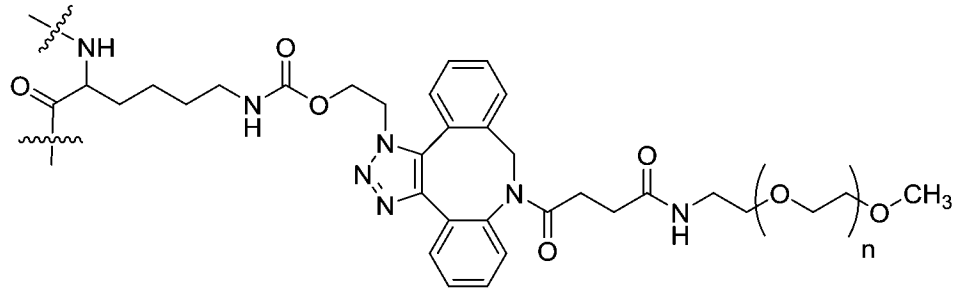
其中該IL-2多肽包含SEQ ID NO: 3的胺基酸序列，其中位置X係參考SEQ ID NO: 3中之胺基酸位置的P64，位置X-1代表與前一個胺基酸殘基的連接點，位置X+1代表與下一個胺基酸殘基的連接點，

與下式之mPEG-DBCO反應，

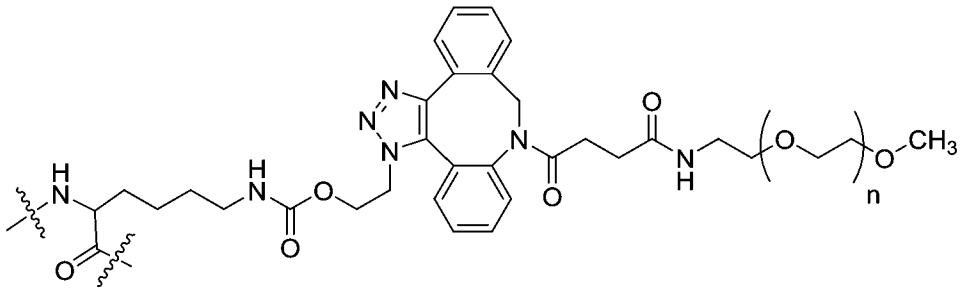


其中n係一整數，其係使mPEG-DBCO包含具有約30 kDa之分子量的mPEG，

以形成該IL-2結合物，其中該IL-2結合物係式(XII)或式(XIII)：



(XII)

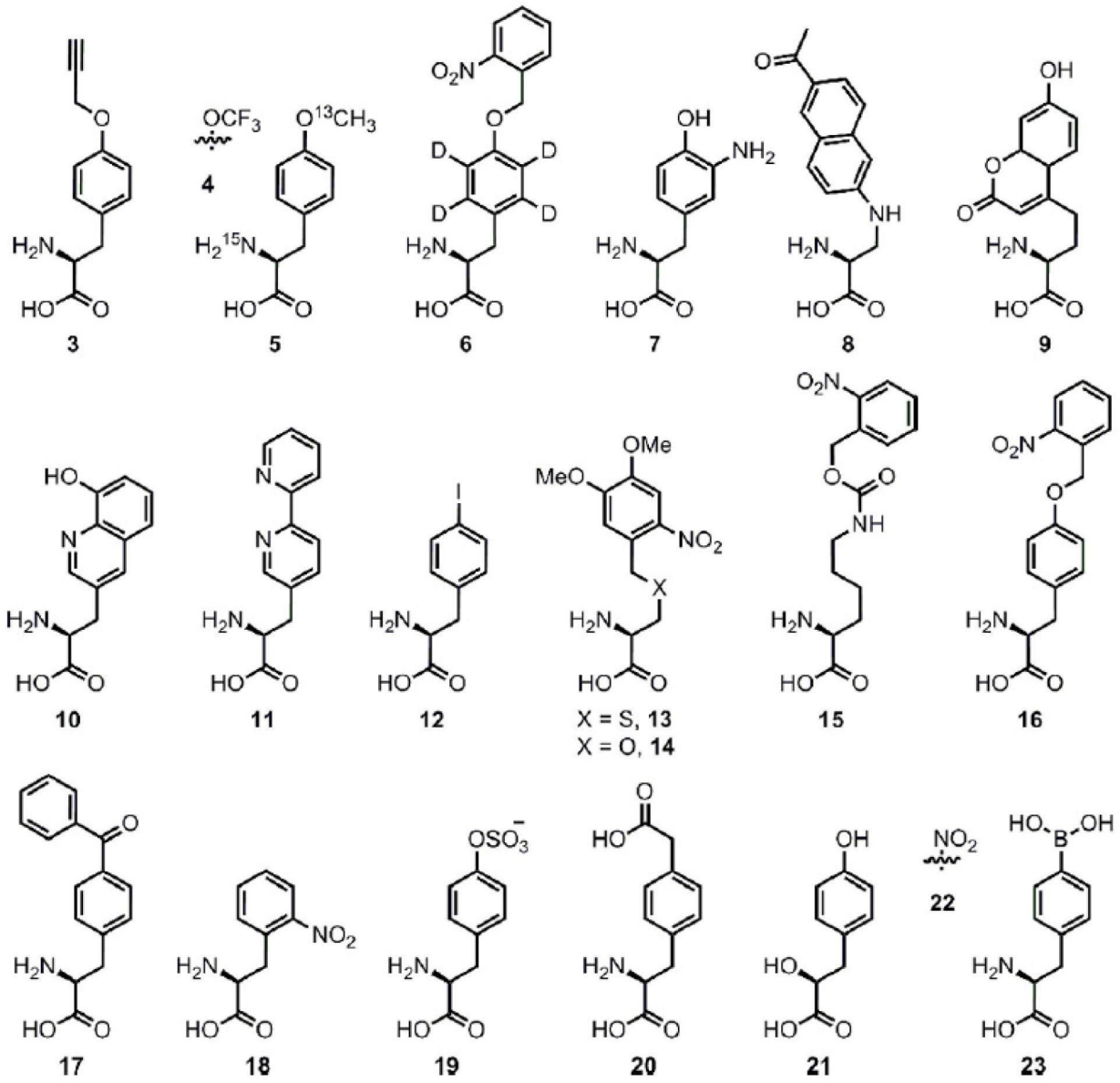


(XIII)

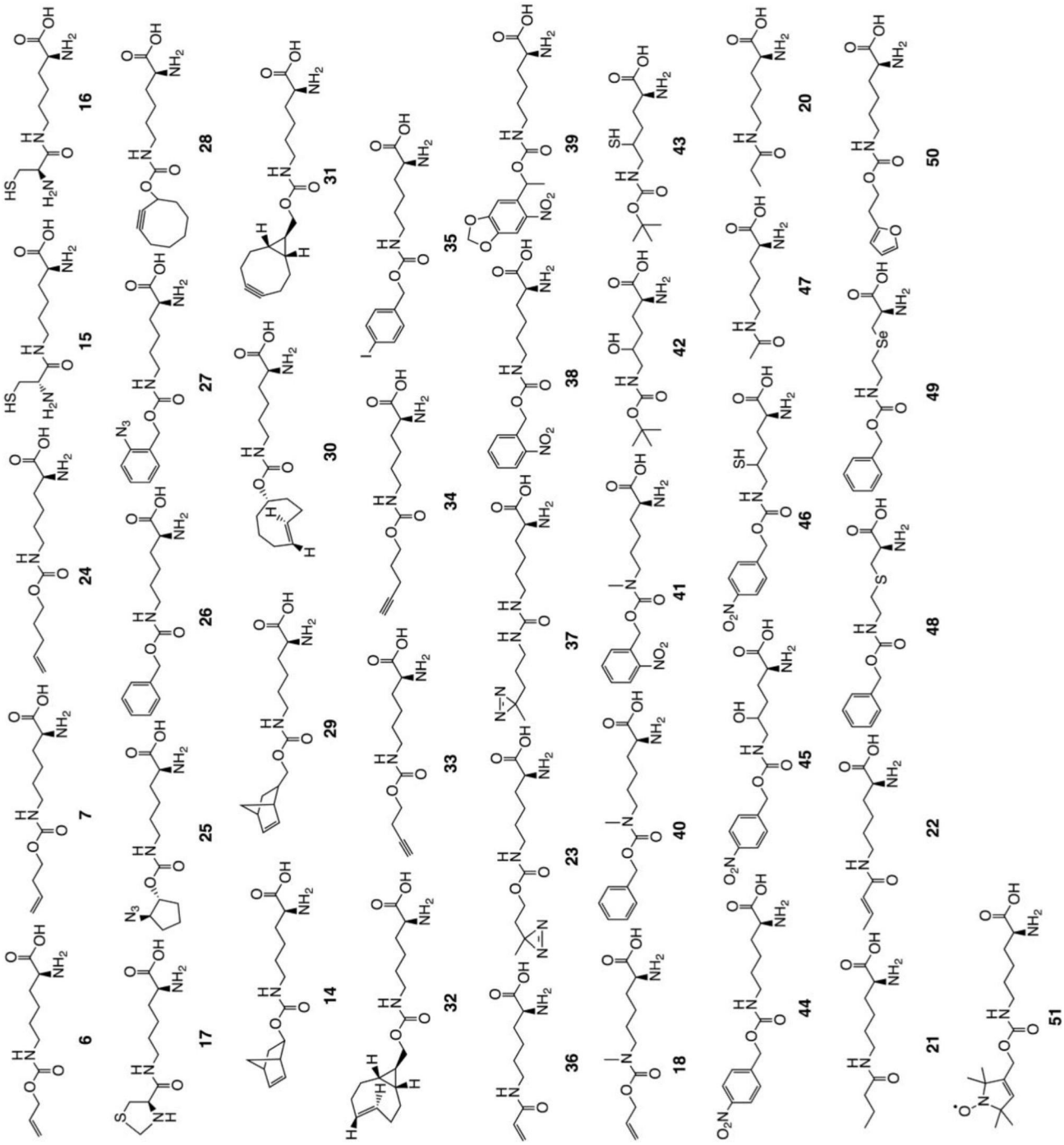
其中：

波浪線表示與SEQ ID NO: 3內未經取代之胺基酸殘基的共價鍵。

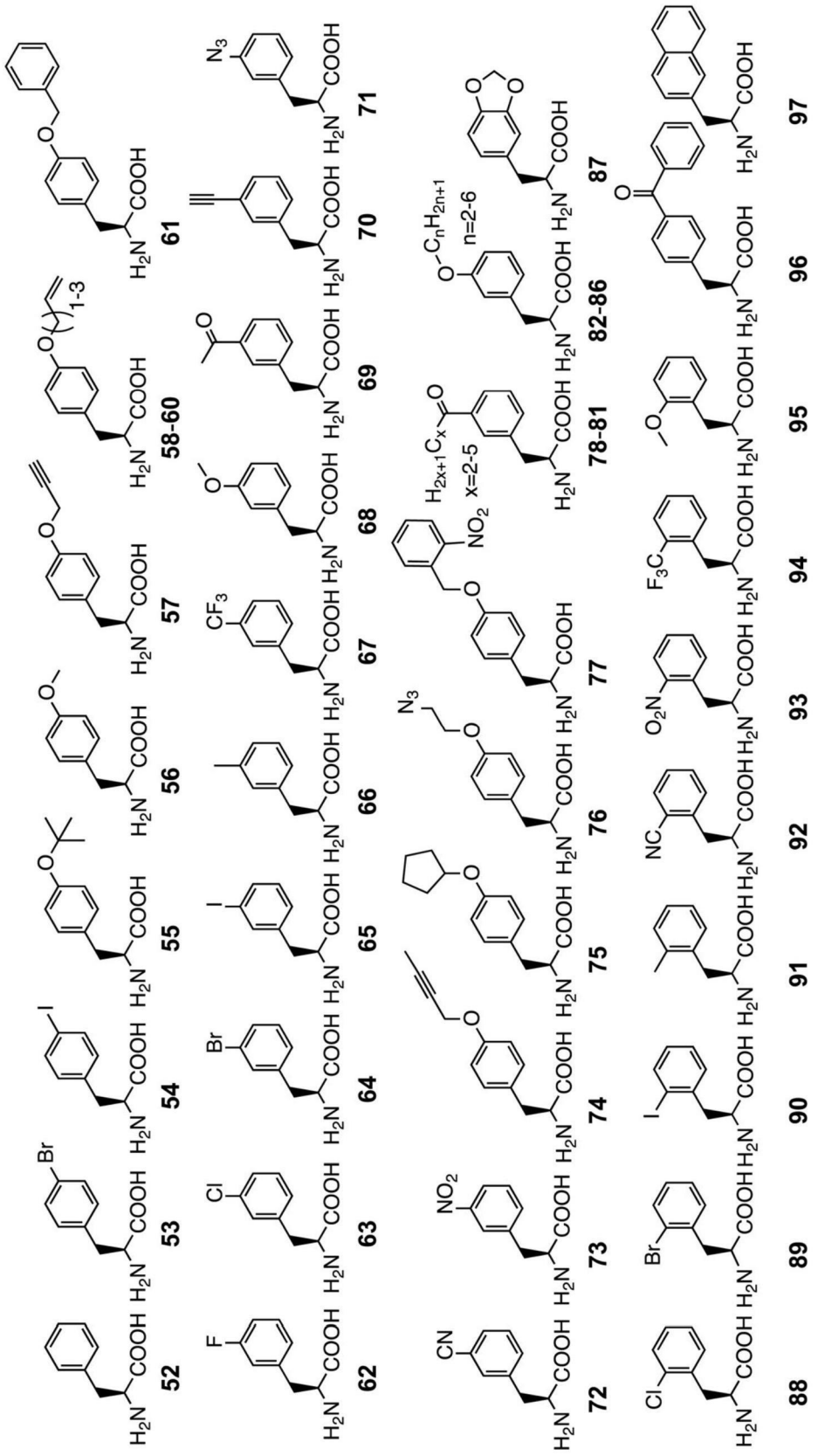
【發明圖式】



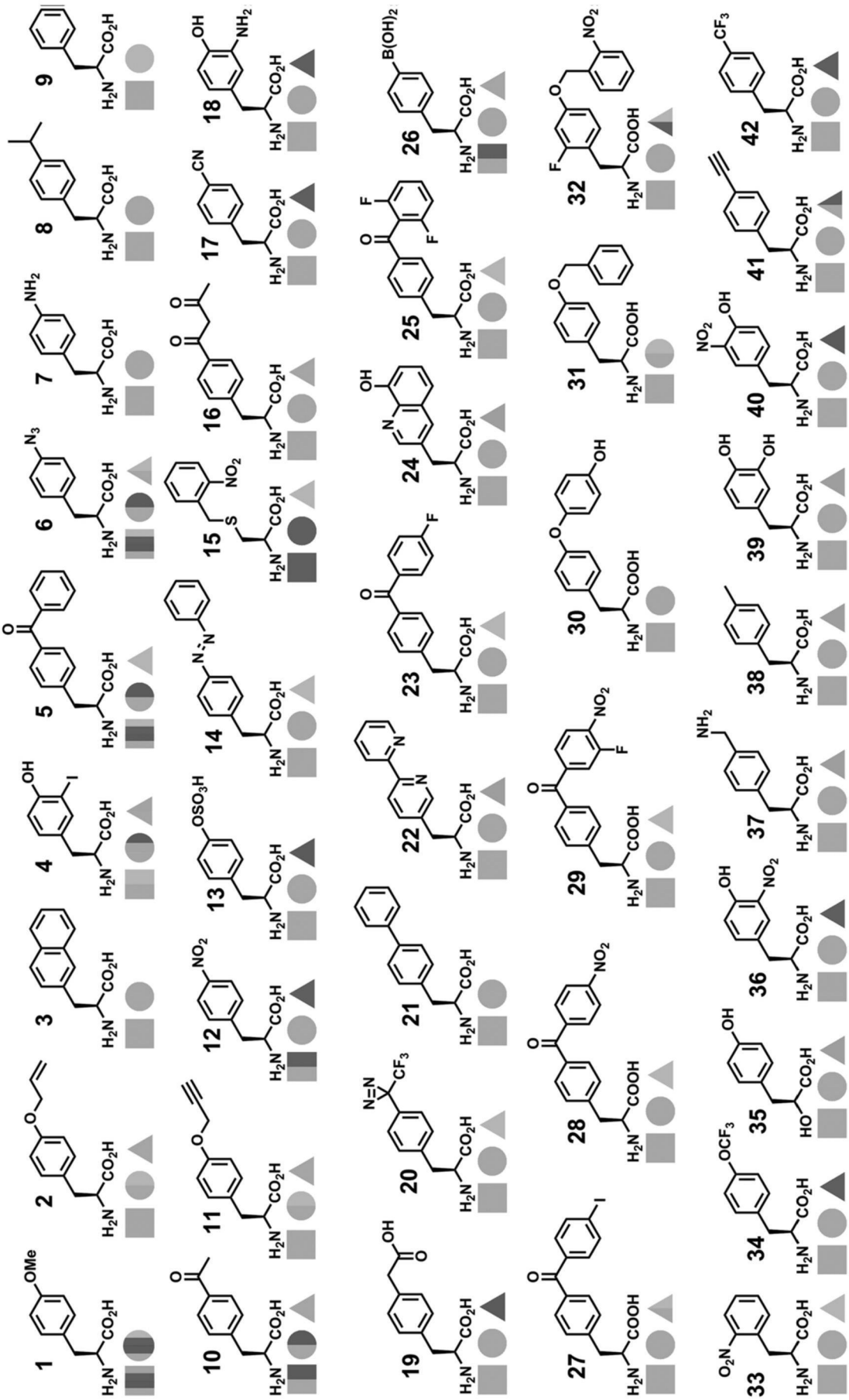
【圖1】



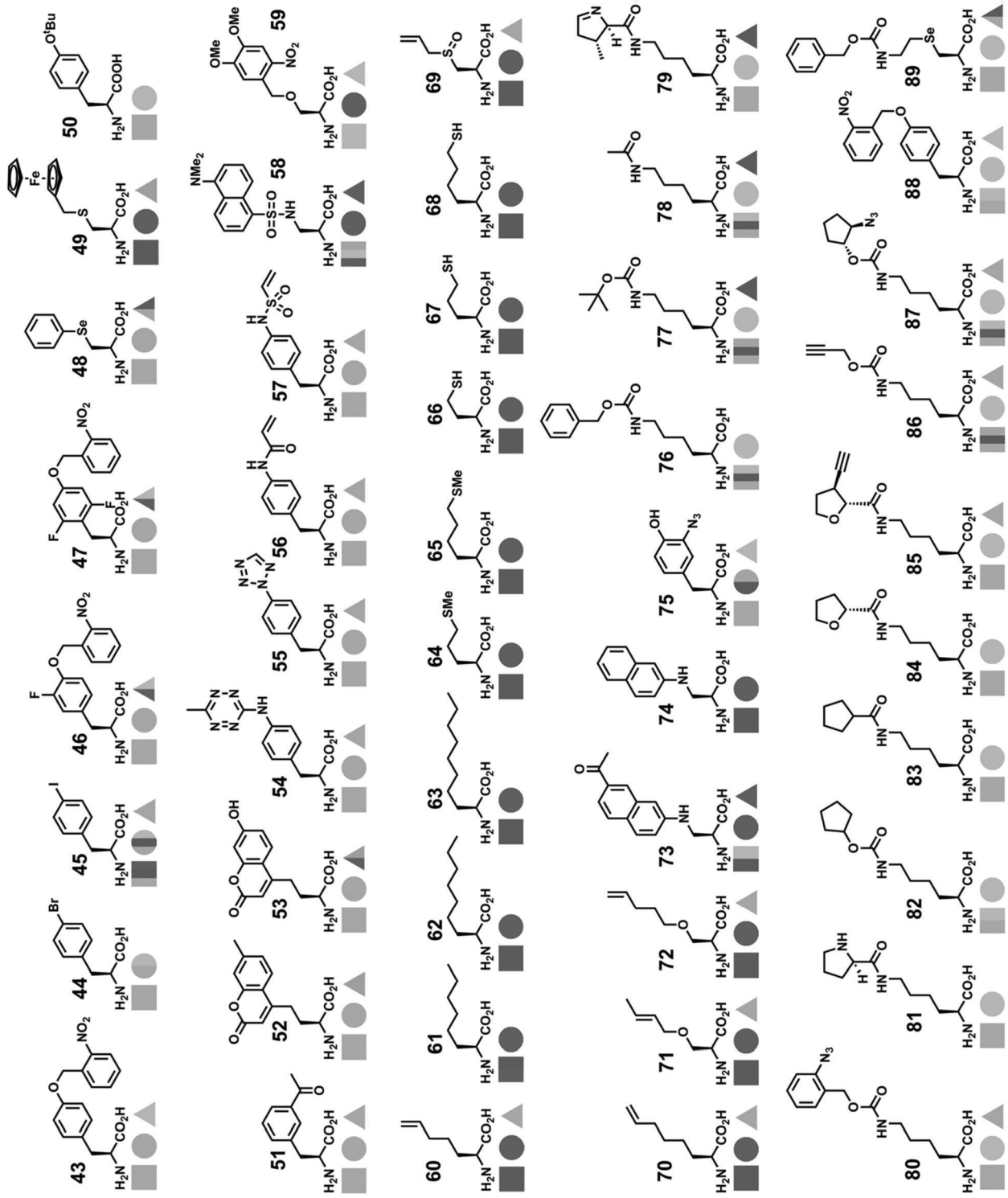
【圖2A】



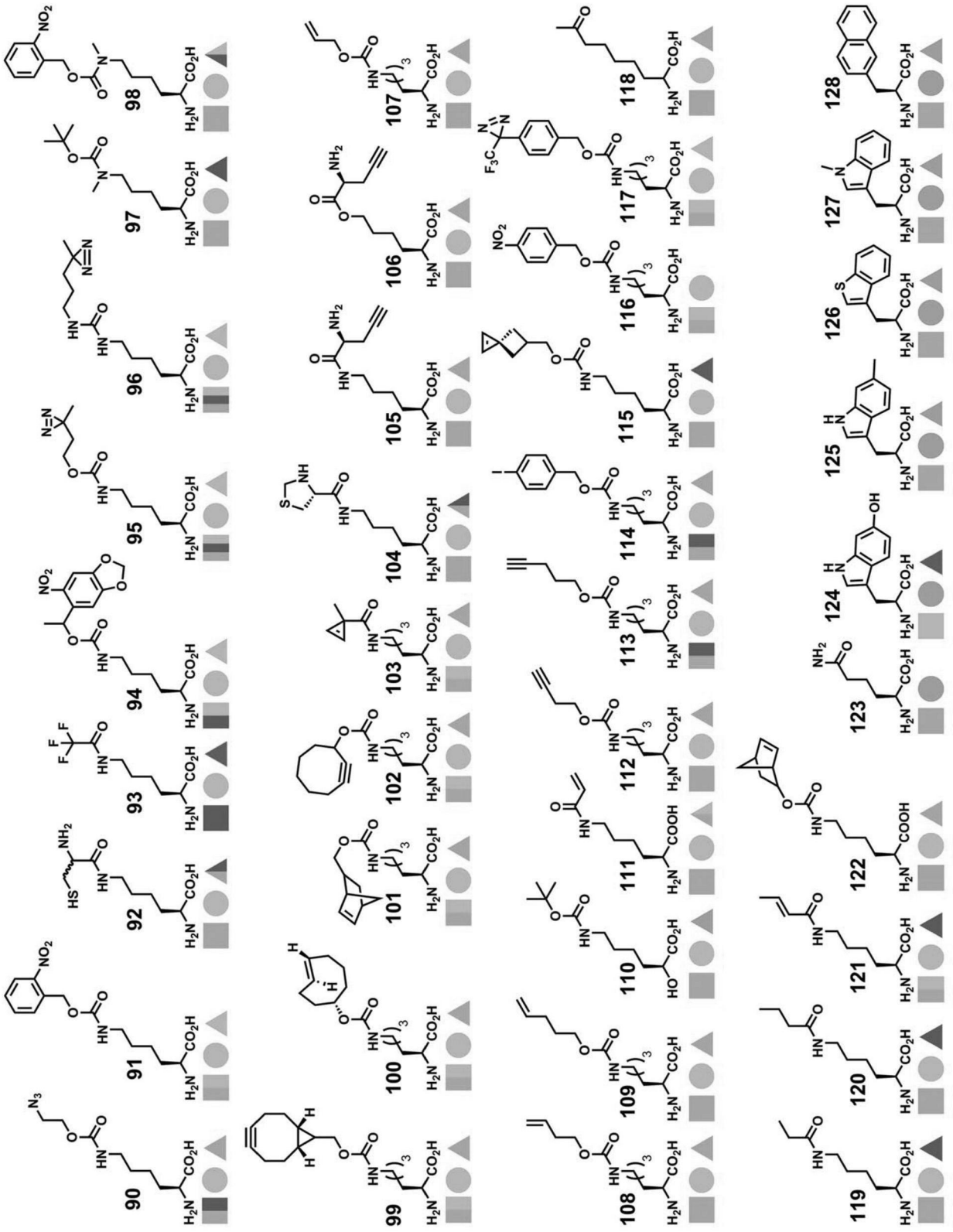
【圖2B】



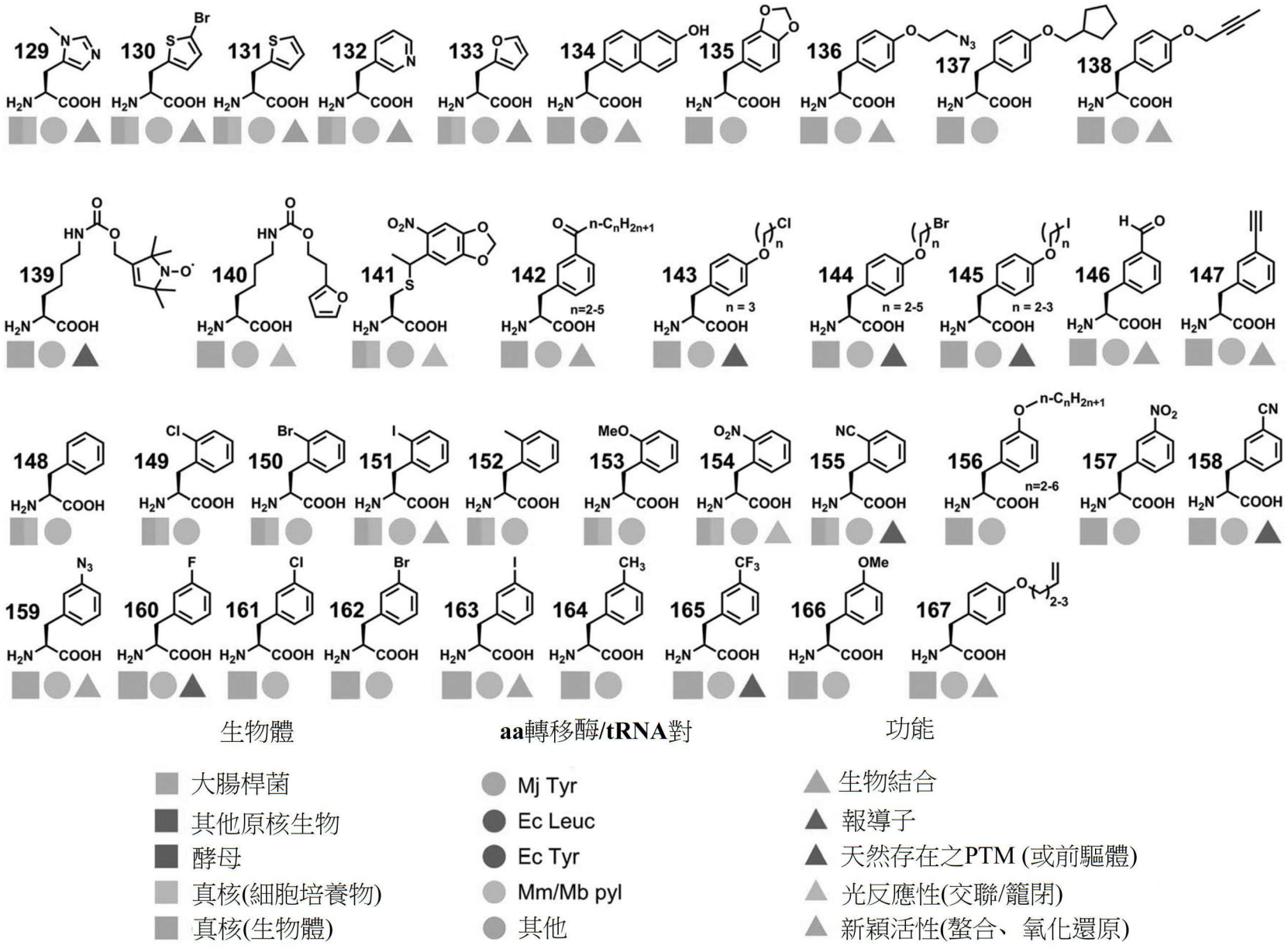
【圖3A】



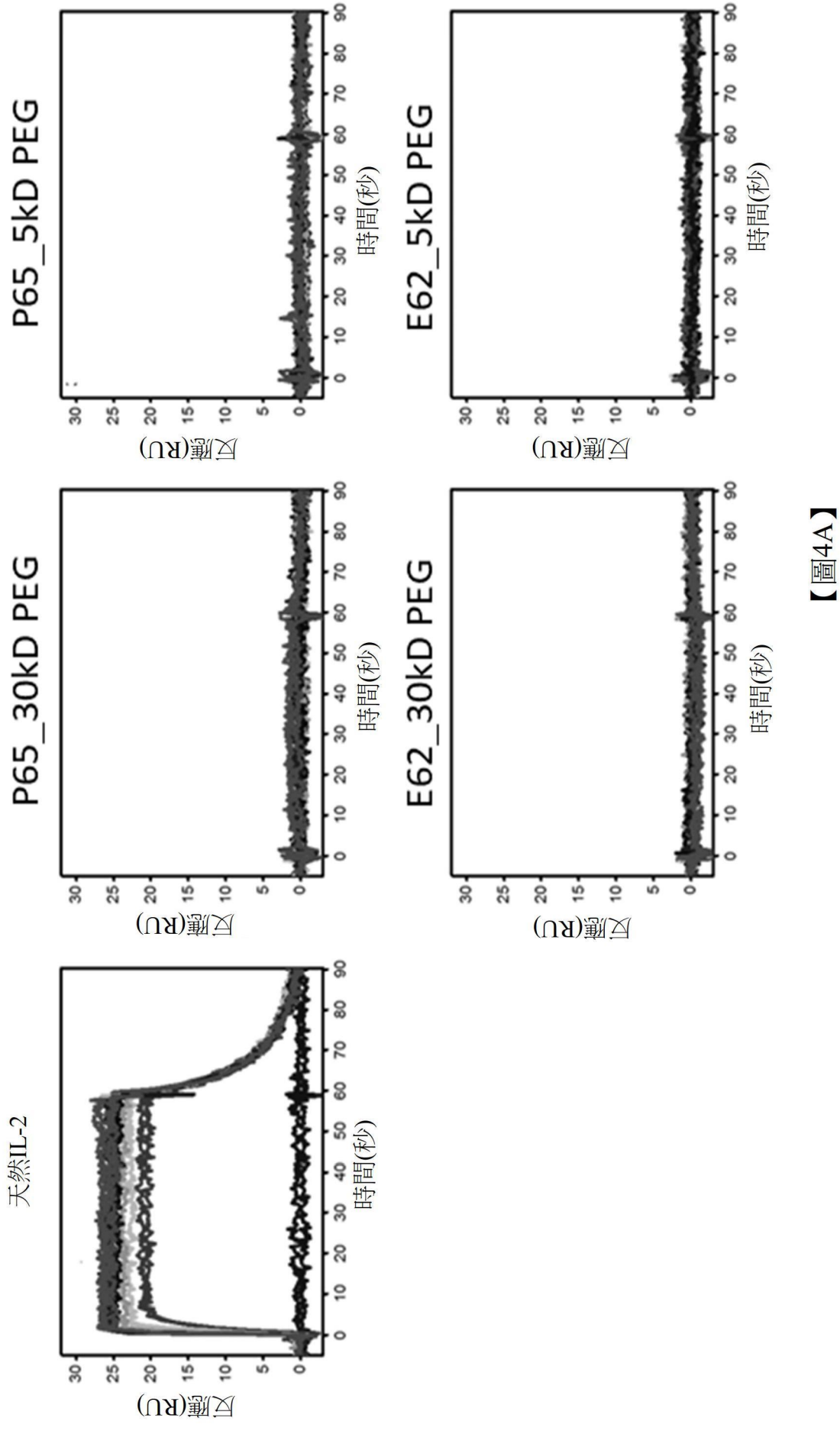
【圖3B】



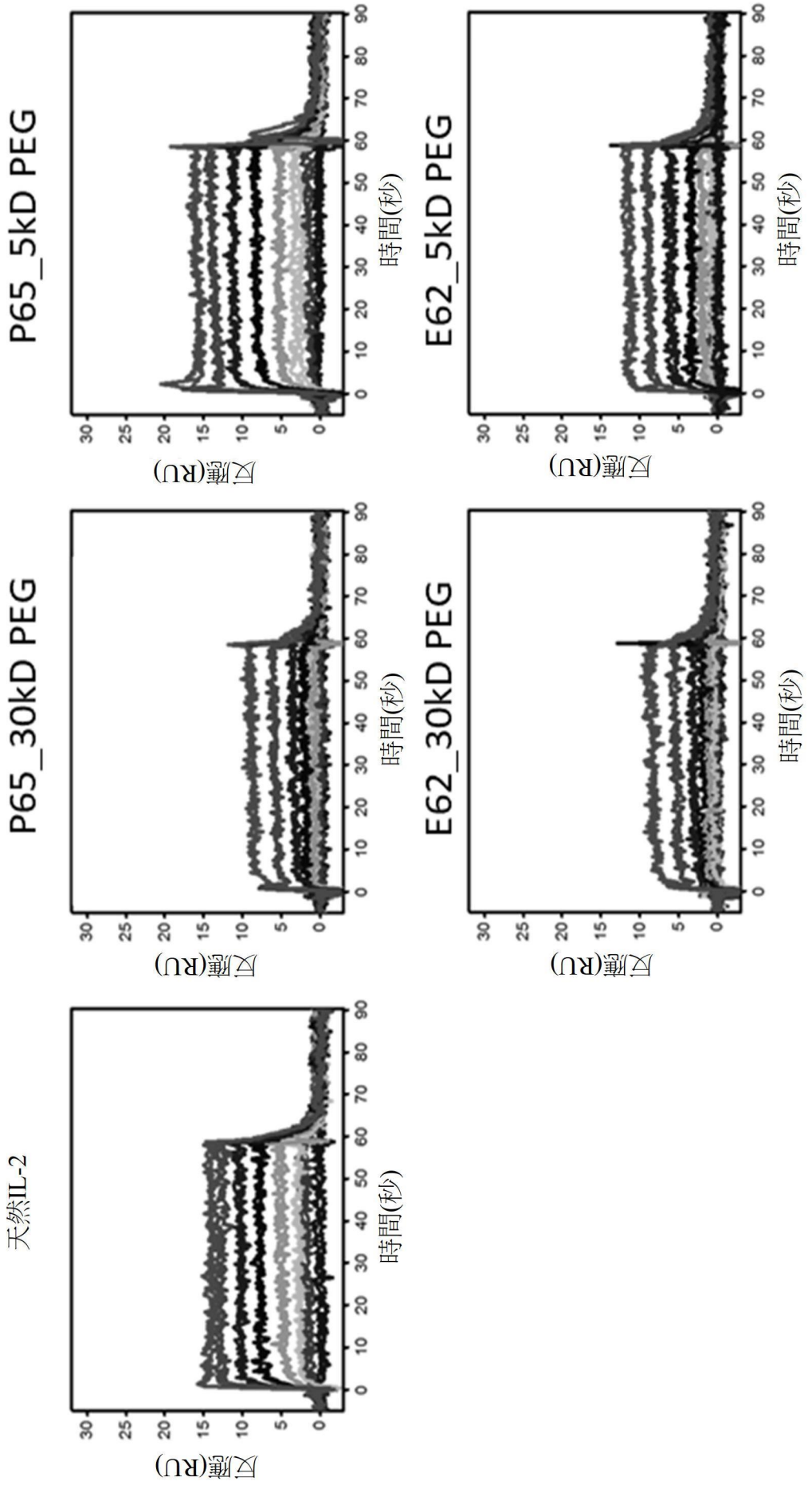
【圖3C】


129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
n=2-5
143
n = 3
144
n = 2-5
145
n = 2-3
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
n=2-6
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
生物體
aa轉移酶/tRNA對
功能
大腸桿菌
其他原核生物
酵母
真核(細胞培養物)
真核(生物體)
Mj Tyr
Ec Leuc
Ec Tyr
Mm/Mb pyl
其他
生物結合
報導子
天然存在之PTM (或前驅體)
光反應性(交聯/籠閉)
新穎活性(螯合、氧化還原)

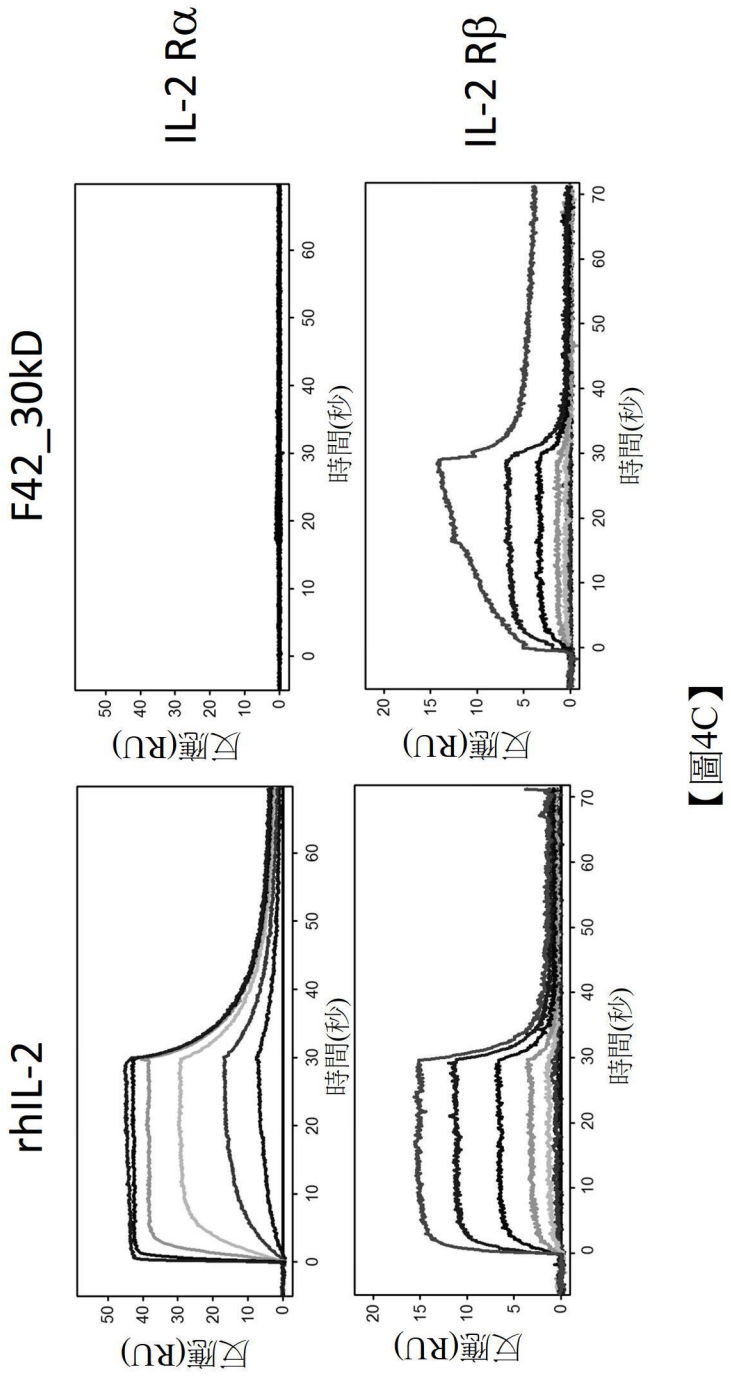
【圖3D】


天然IL-2
P65_30kD PEG
P65_5kD PEG
E62_30kD PEG
E62_5kD PEG
反應(RU)
時間(秒)

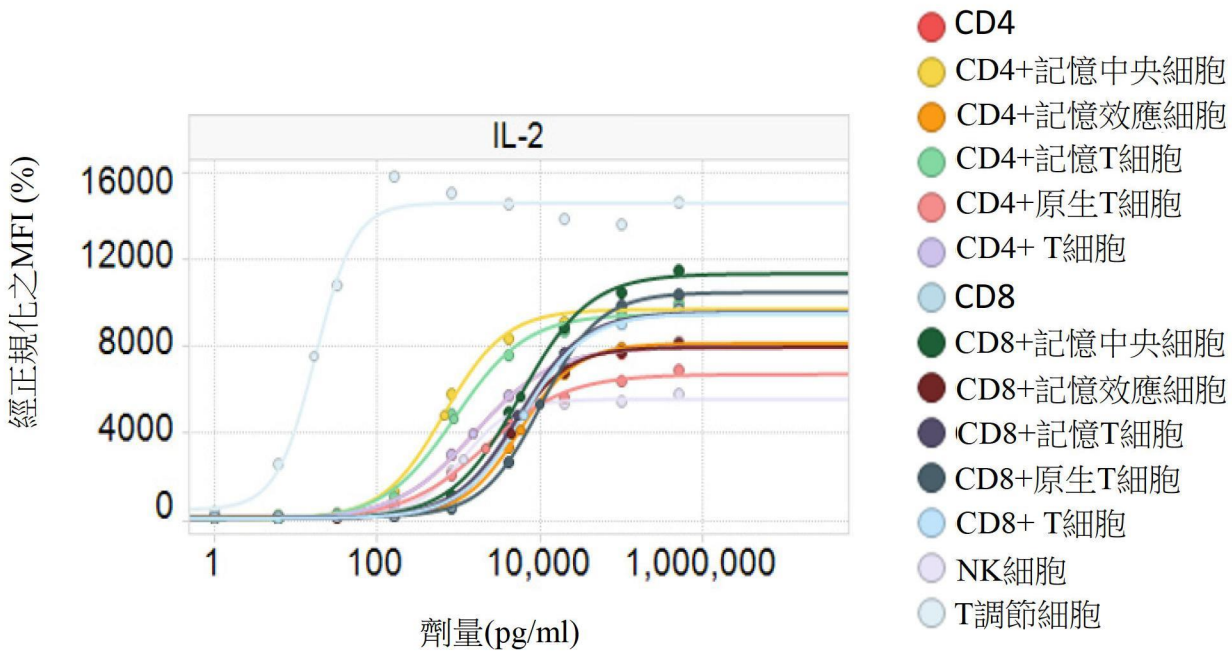
【圖4A】


天然IL-2
P65_30kD PEG
P65_5kD PEG
E62_30kD PEG
E62_5kD PEG
反應(RU)
時間(秒)

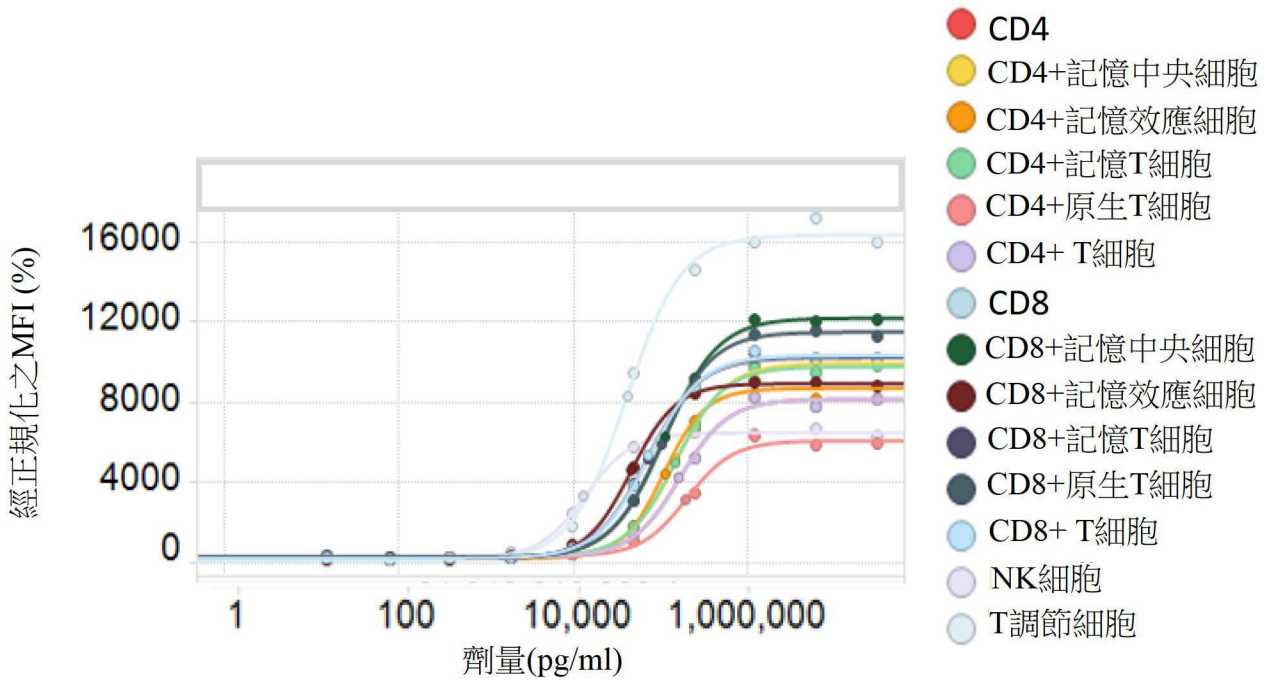
【圖4B】



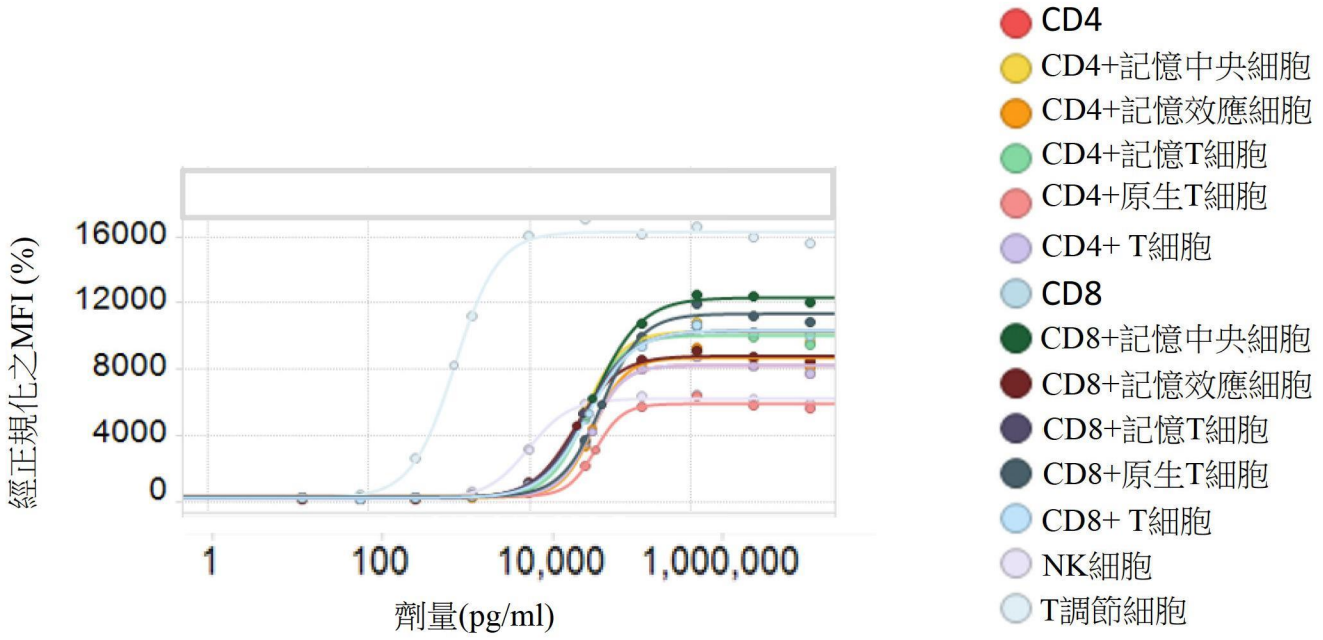
【圖4C】


IL-2
經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

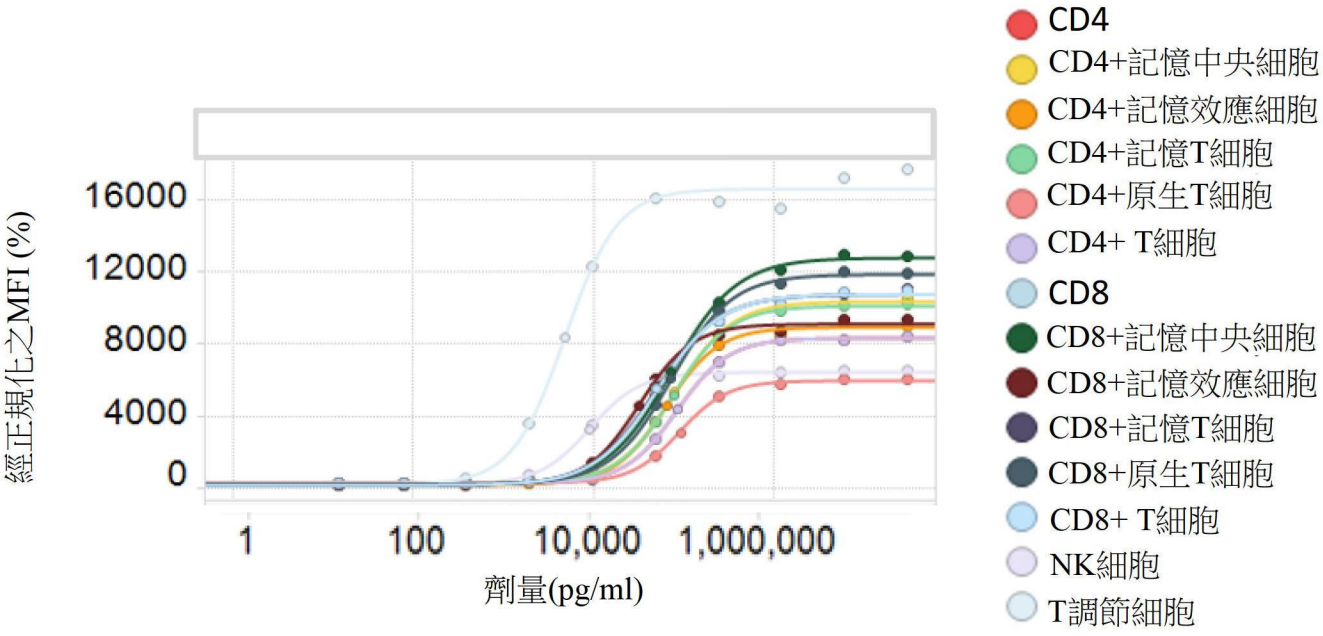
【圖5A】


經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

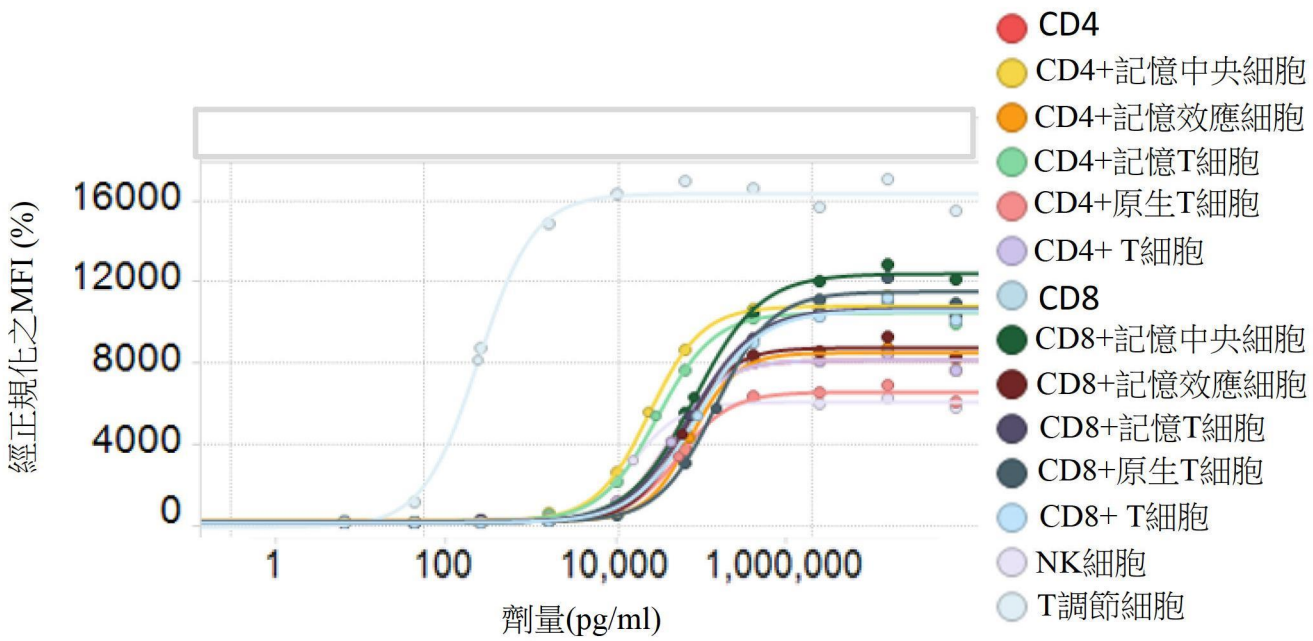
【圖5B】


經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

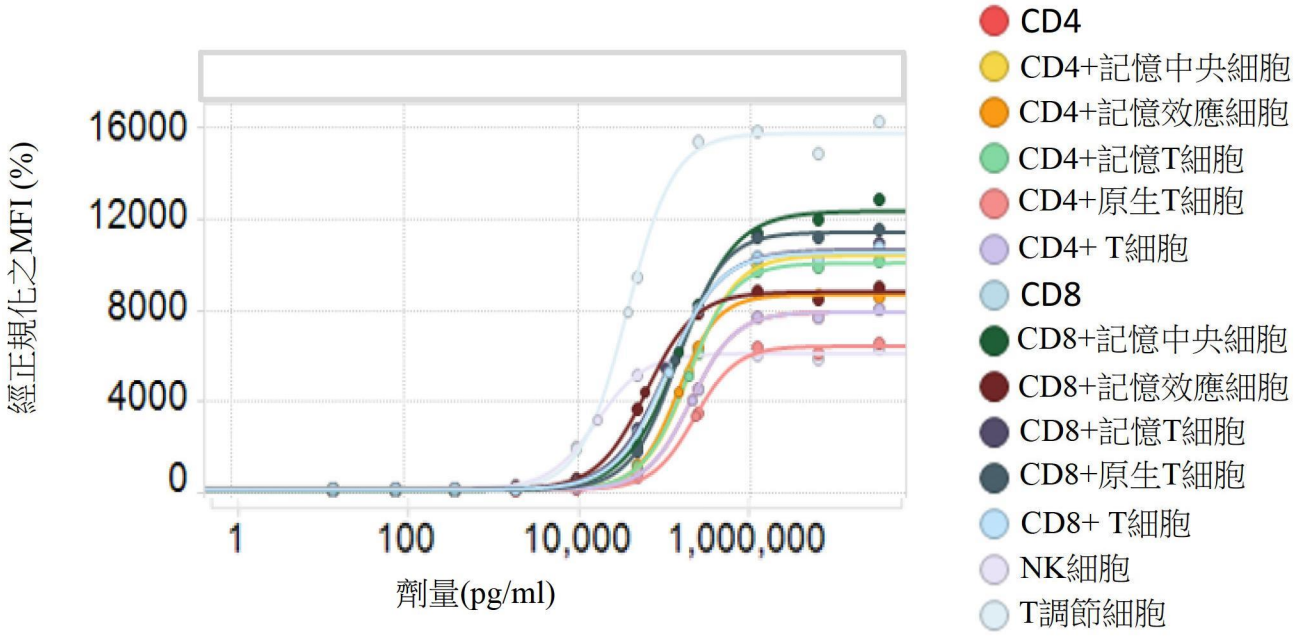
【圖5C】


經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

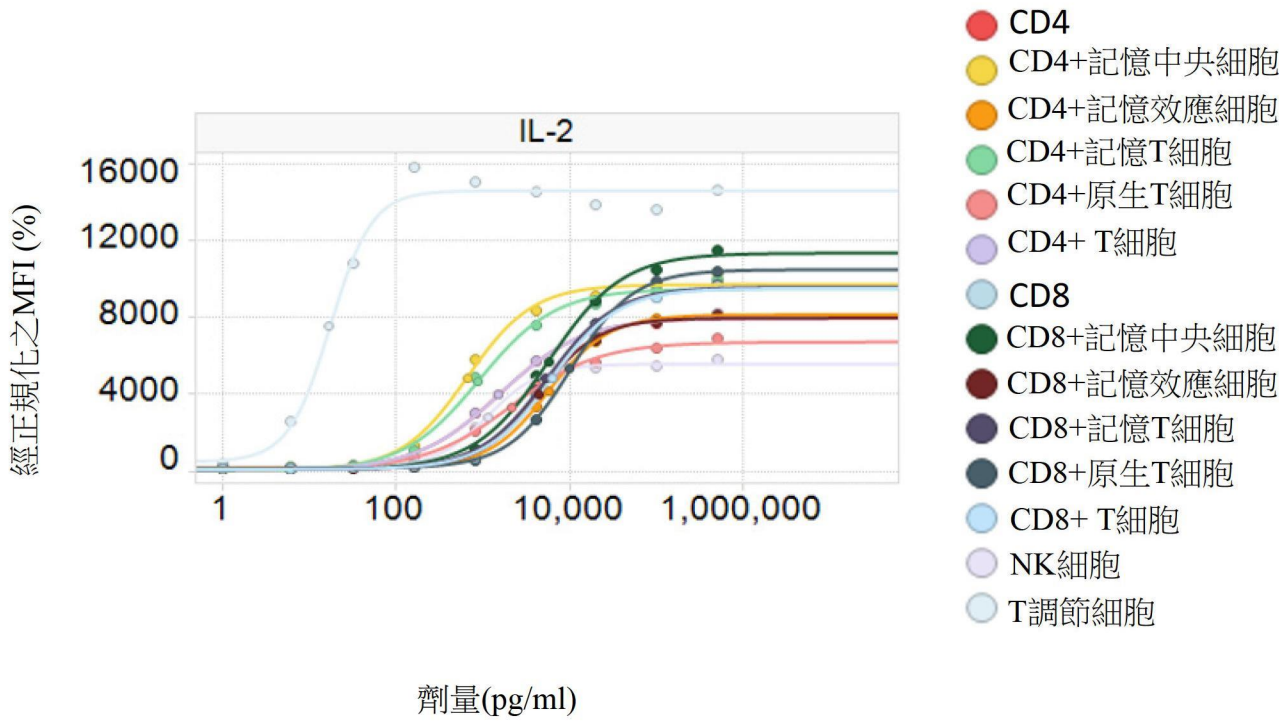
【圖5D】


經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

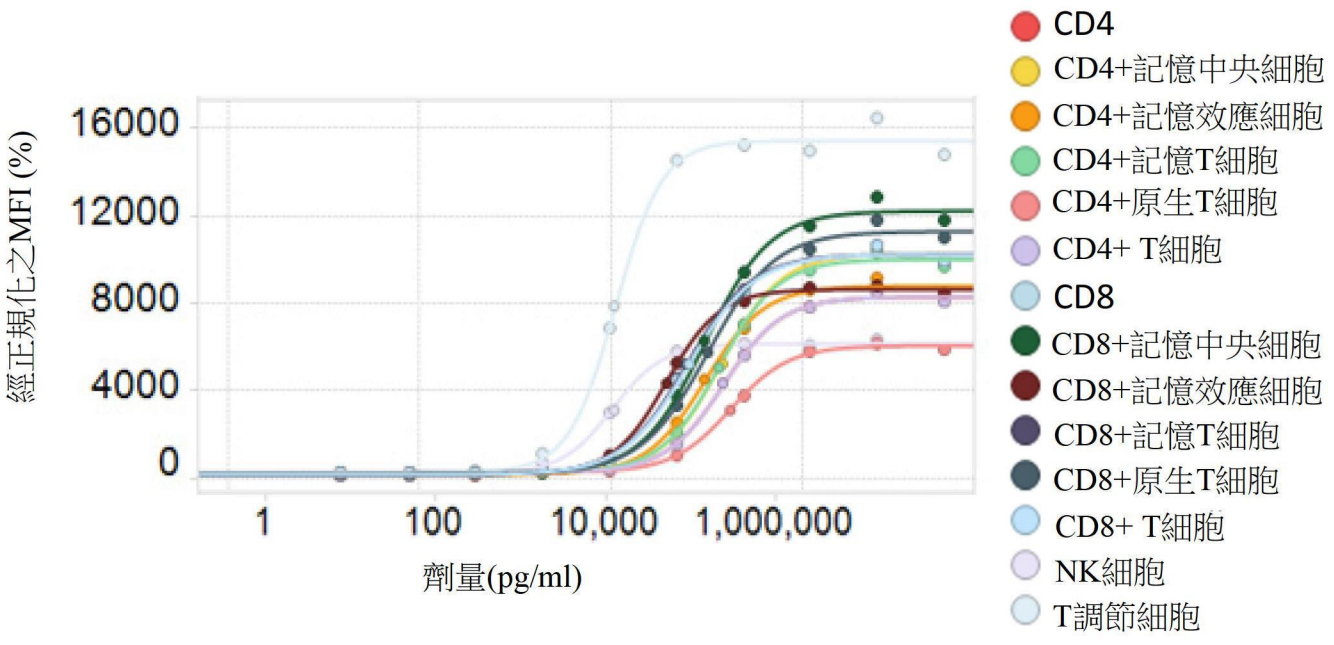
【圖5E】


經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

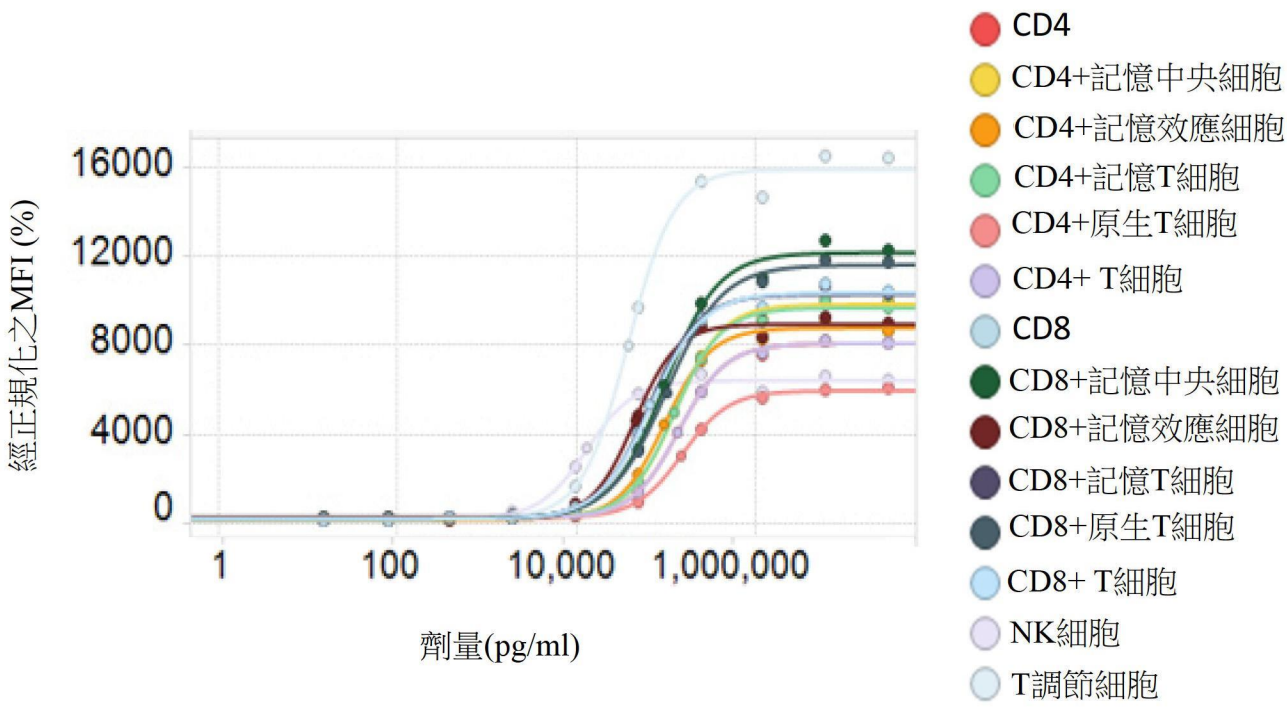
【圖5F】


IL-2
經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

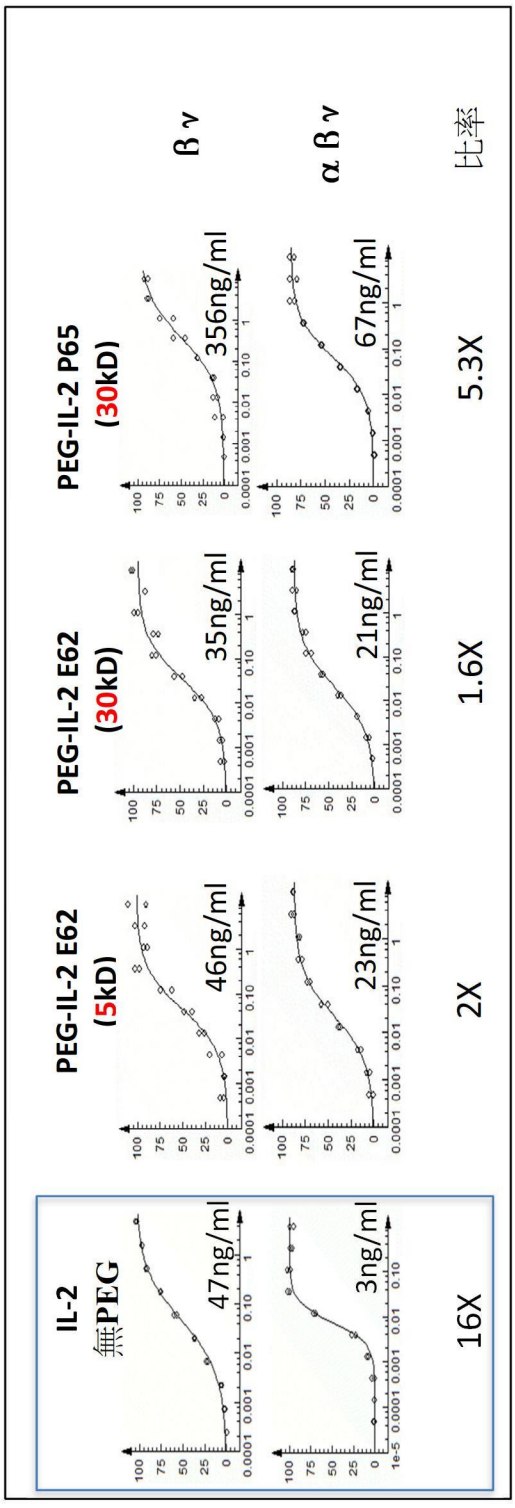
【圖6A】


經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

【圖6B】

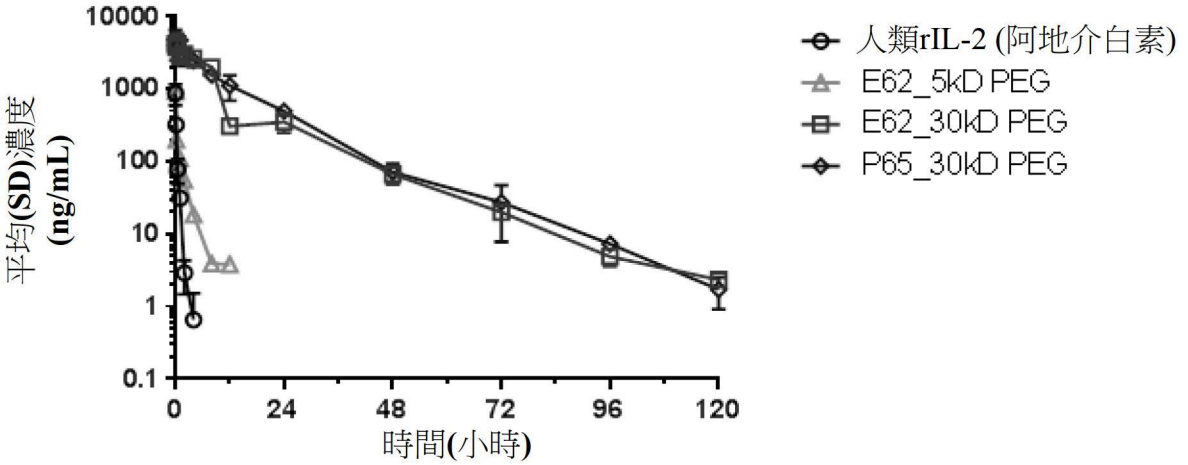

經正規化之MFI (%)
16000
12000
8000
4000
0
1
100
10,000
1,000,000
劑量(pg/ml)
CD4
CD4+記憶中央細胞
CD4+記憶效應細胞
CD4+記憶T細胞
CD4+原生T細胞
CD4+ T細胞
CD8
CD8+記憶中央細胞
CD8+記憶效應細胞
CD8+記憶T細胞
CD8+原生T細胞
CD8+ T細胞
NK細胞
T調節細胞

【圖6C】


IL-2
無PEG
47ng/ml
3ng/ml
16X
PEG-IL-2 E62
(5kD)
46ng/ml
23ng/ml
2X
PEG-IL-2 E62
(30kD)
35ng/ml
21ng/ml
1.6X
PEG-IL-2 P65
(30kD)
356ng/ml
67ng/ml
5.3X
ß γ
α ß γ
比率

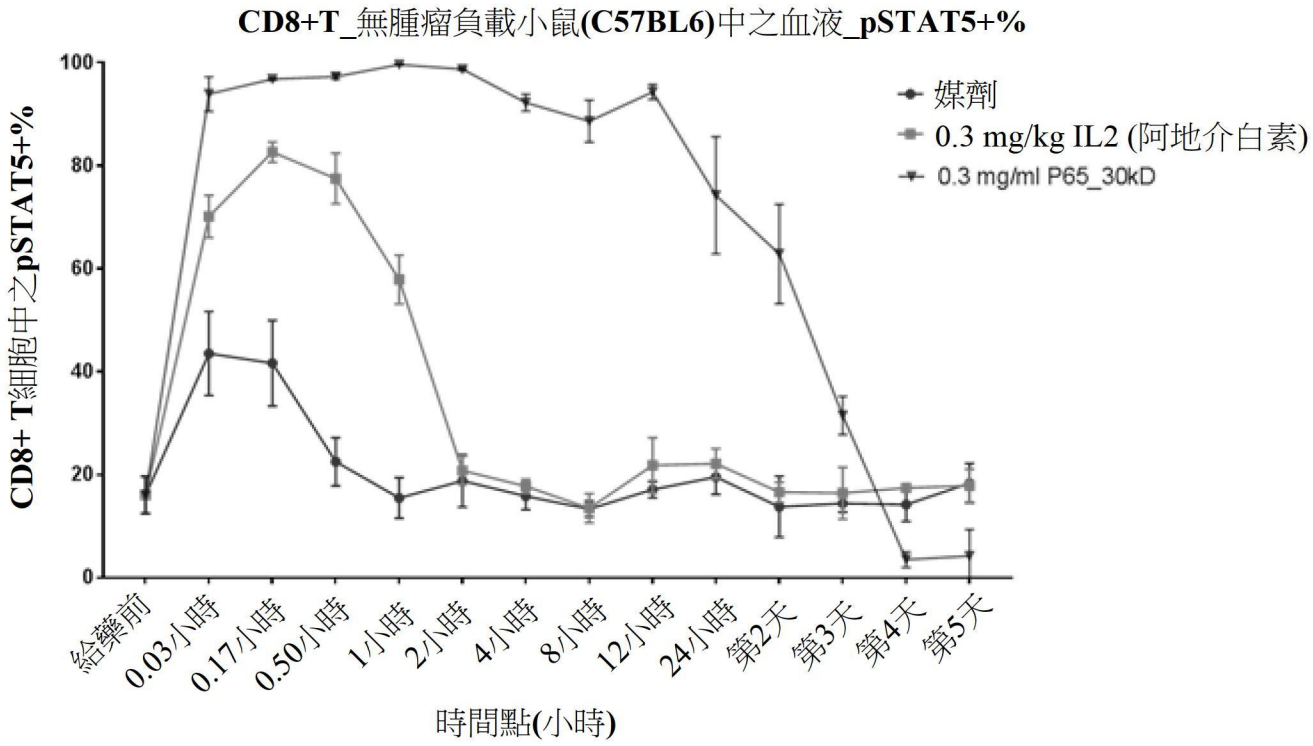
【圖7】

在向雌性**C57BL/6**小鼠單次**IV**快速給與阿地介白素或**P65_30KD**及**E62_30KD**、**E62_5KD**之後的平均**(±SD)**血漿濃度相對於時間曲線



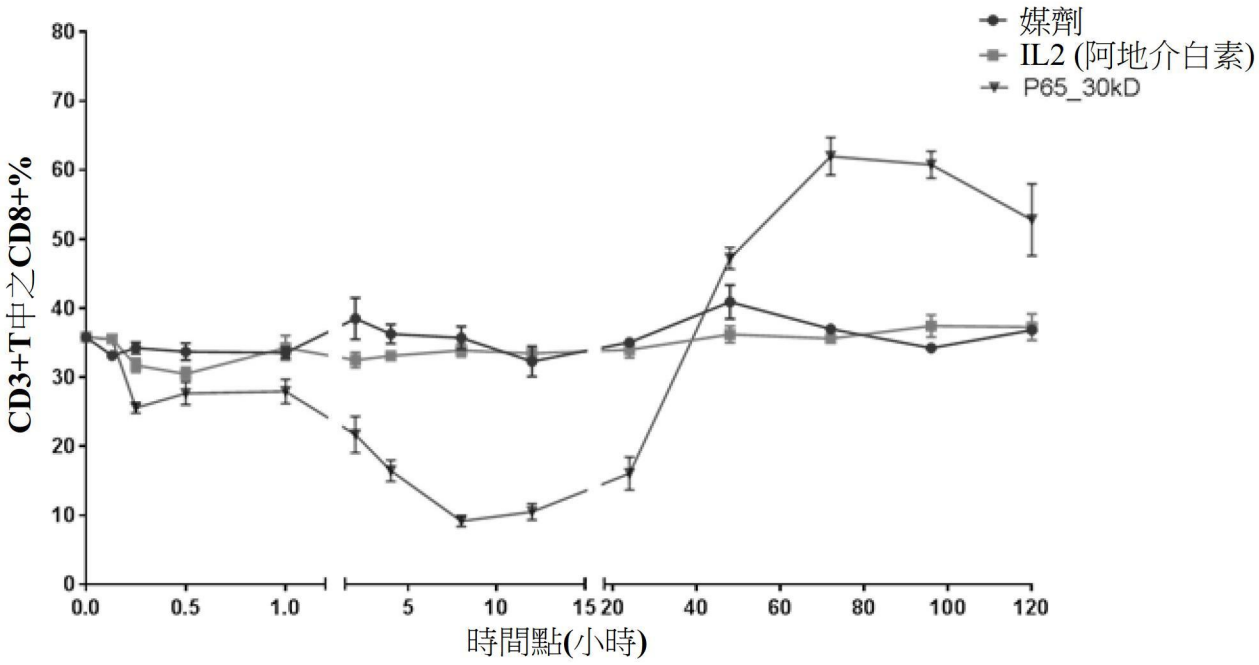
【圖8】

末梢血液**pSTAT5+ CD8+ T**回應於**P65_30KD**之持續增加



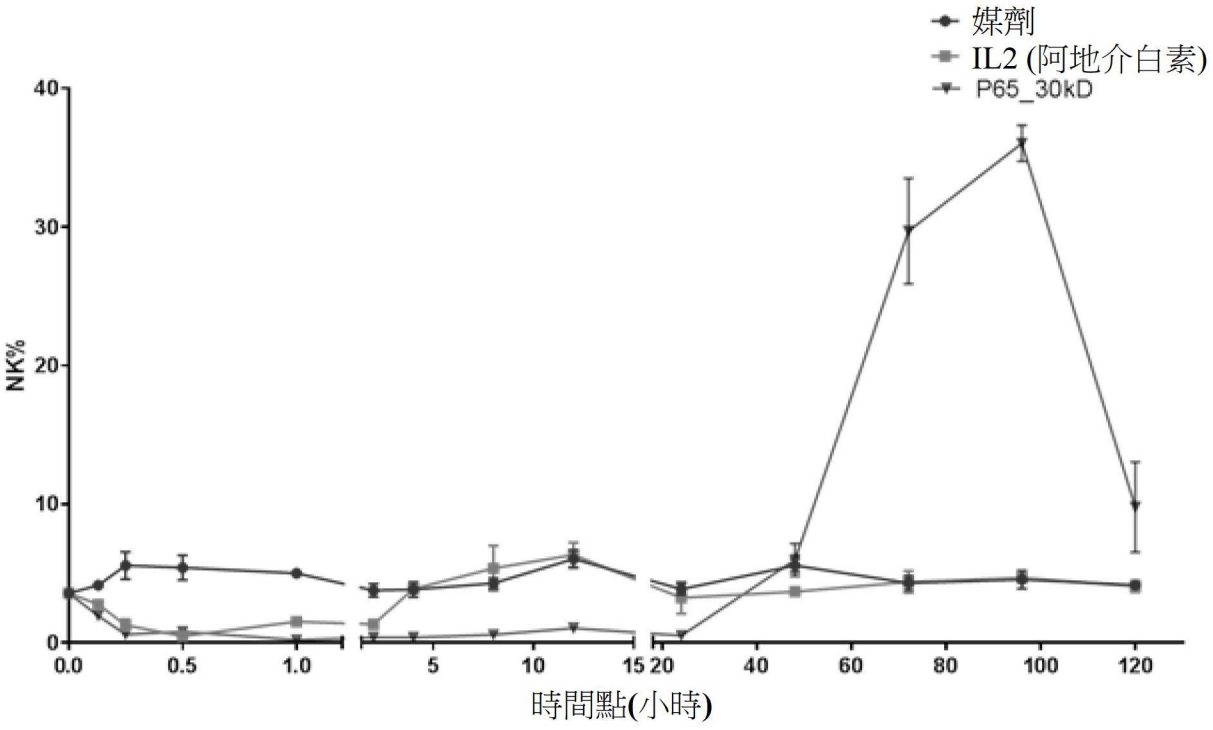
【圖9】

P65_30KD誘導CD8+ T細胞之末梢血液擴增



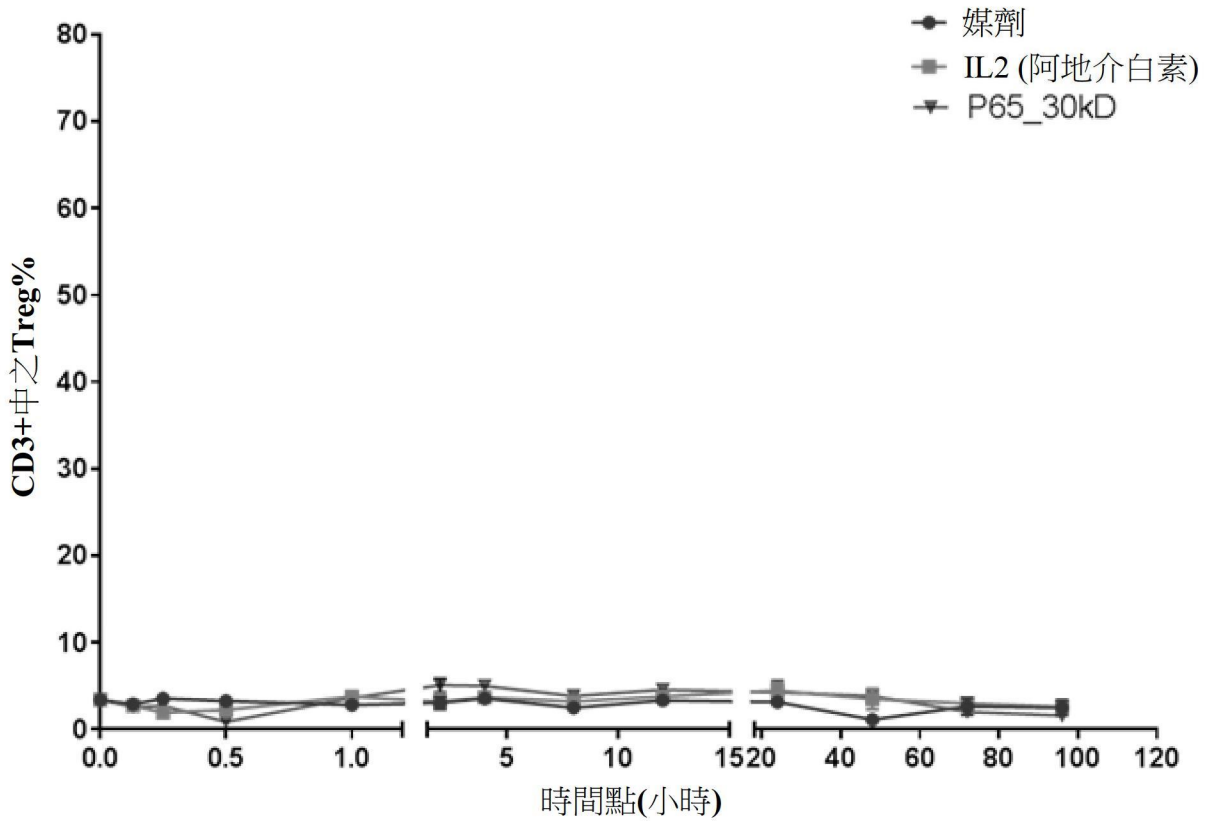
【圖10A】

P65_30KD誘導NK細胞之末梢血液擴增

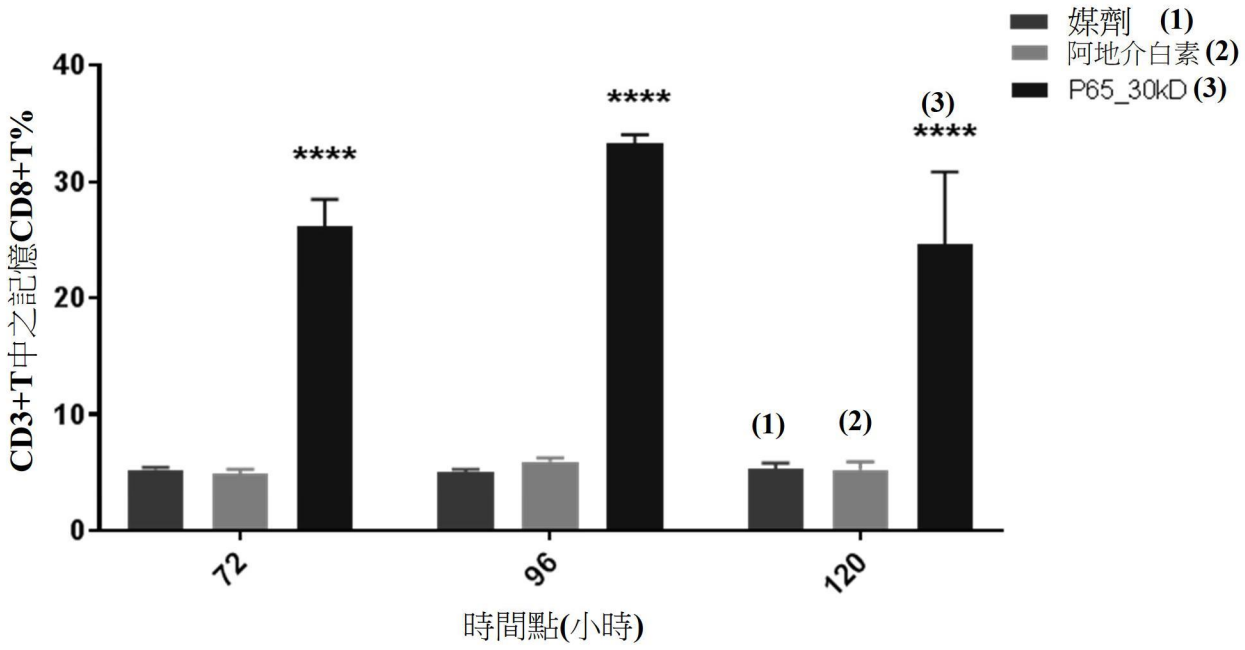


【圖10B】

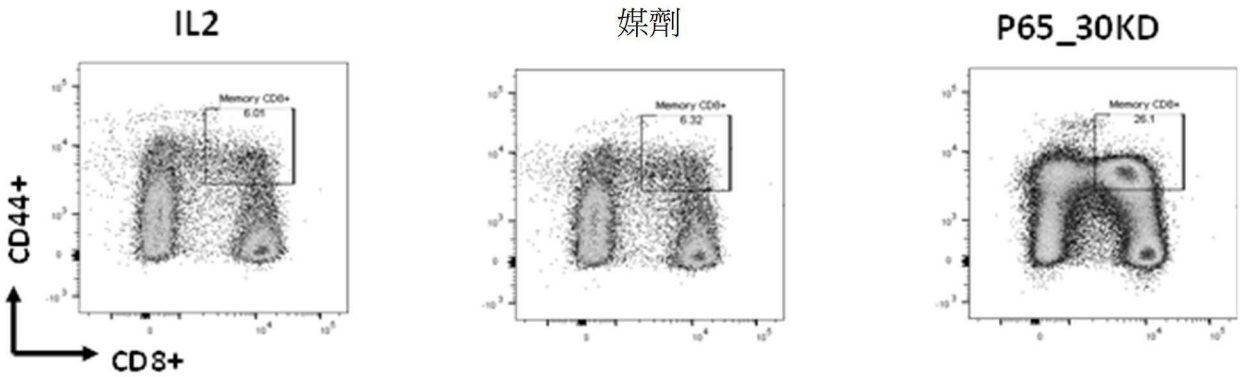
P65_30KD不誘導CD4+ Treg之增殖



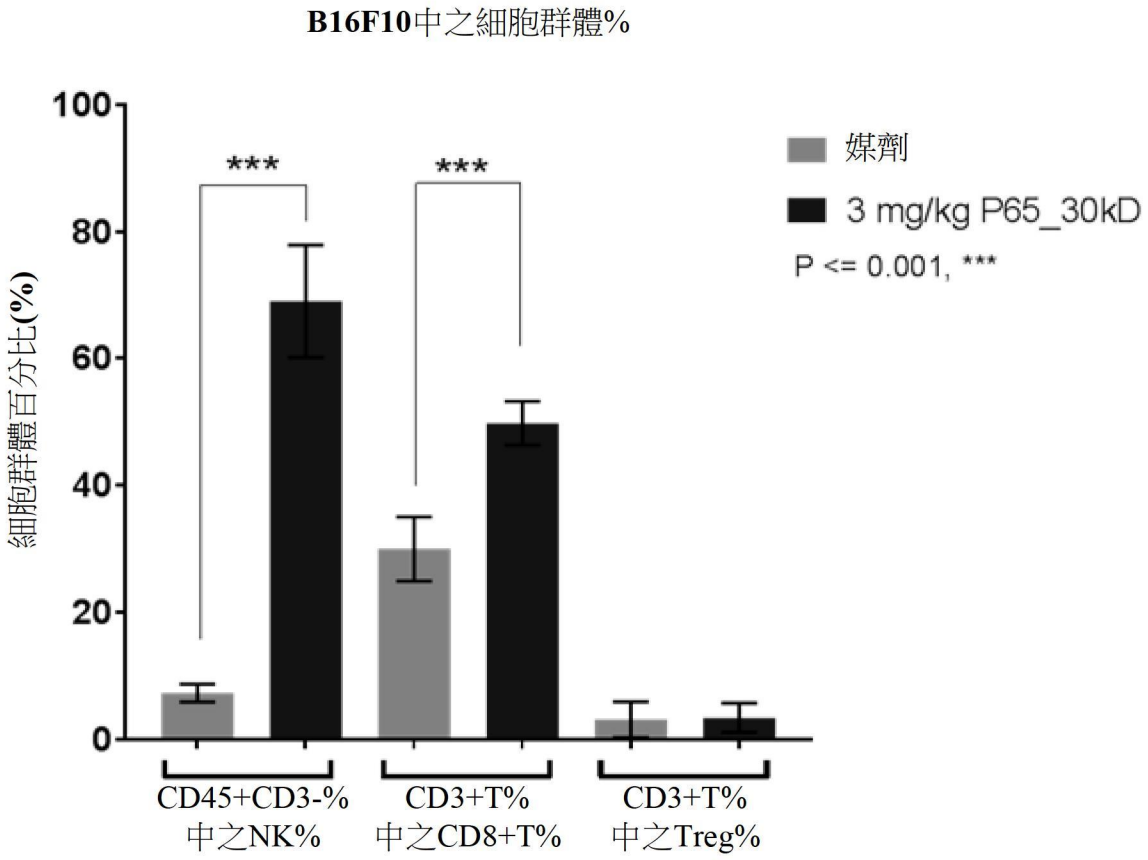
【圖10C】


P65_30KD誘導CD8+ T效應記憶細胞擴增
媒劑 (1)
阿地介白素 (2)
P65_30kD (3)
CD3+T中之記憶CD8+T%
40
30
20
10
0
****
****
****
(1)
(2)
(3)
72
96
120
時間點(小時)

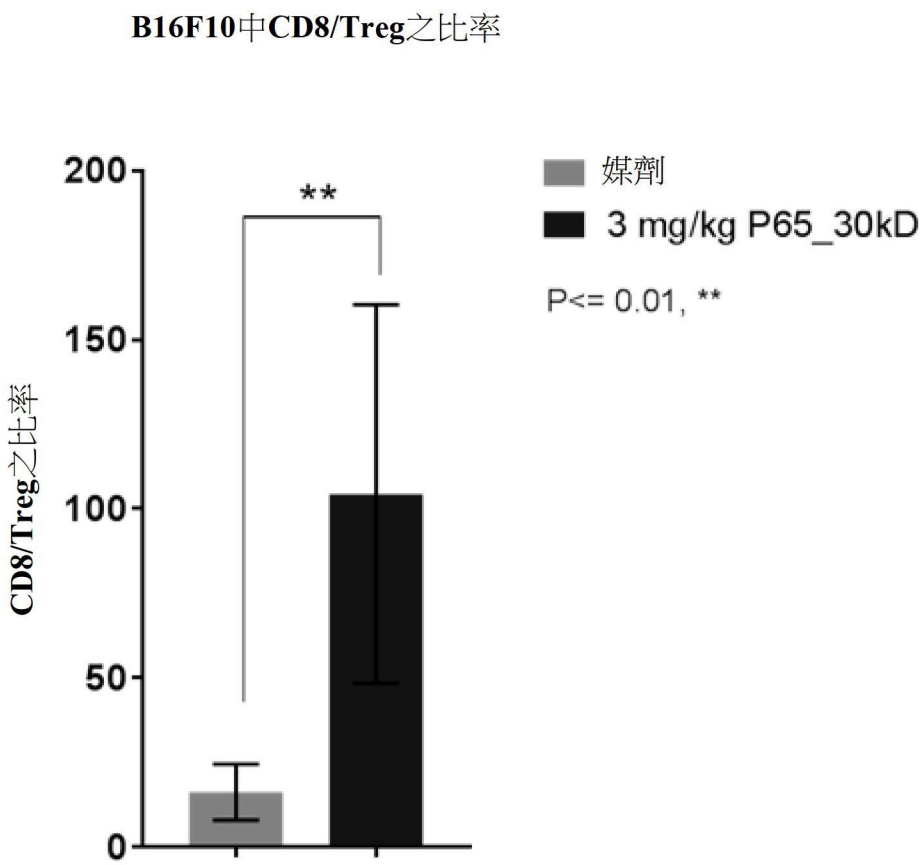
【圖11A】


IL2
媒劑
P65_30KD
CD44+
CD8+

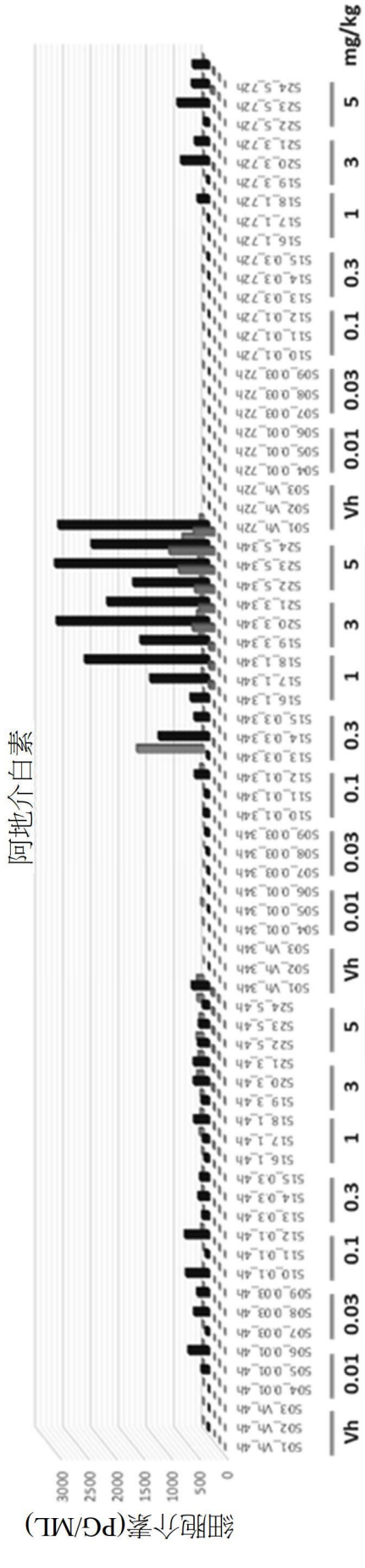
【圖11B】


B16F10中之細胞群體%
細胞群體百分比(%)
100
80
60
40
20
0
***
***
媒劑
3 mg/kg P65_30kD
P <= 0.001, ***
CD45+CD3-%
中之NK%
CD3+T%
中之CD8+T%
CD3+T%
中之Treg%

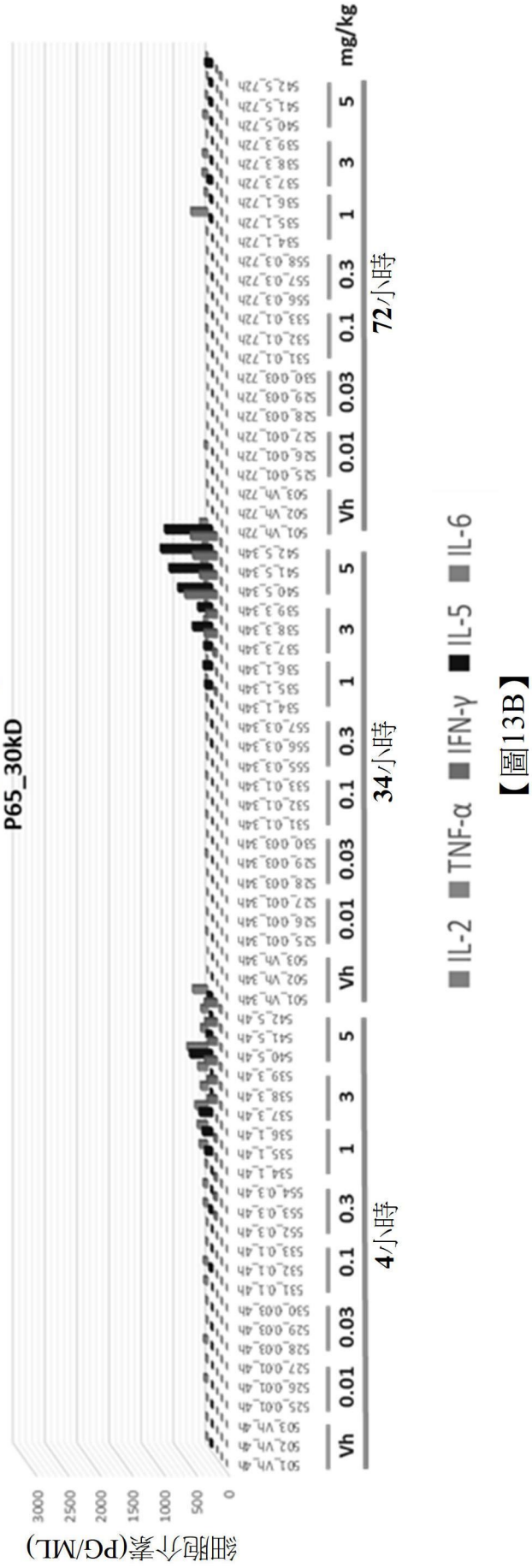
【圖12A】


B16F10中CD8/Treg之比率
CD8/Treg之比率
200
150
100
50
0
**
媒劑
3 mg/kg P65_30kD
P<= 0.01, **

【圖12B】


阿地介白素
細胞介素(PG/ML)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Vh 0.01 0.03 0.1 0.3 1 3 5 mg/kg
4小時
34小時
72小時

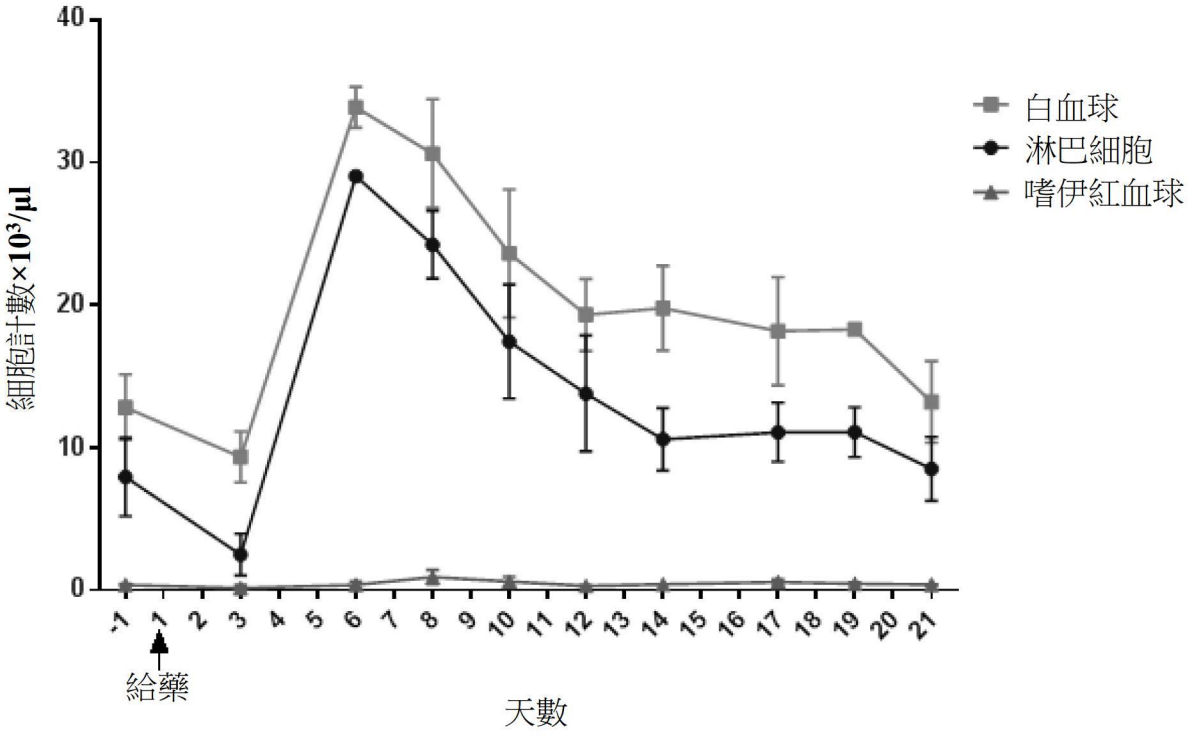
【圖13A】


P65_30kD
細胞介素(PG/ML)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Vh 0.01 0.03 0.1 0.3 1 3 5 mg/kg
4小時
34小時
72小時
IL-2
TNF-α
IFN-γ
IL-5
IL-6

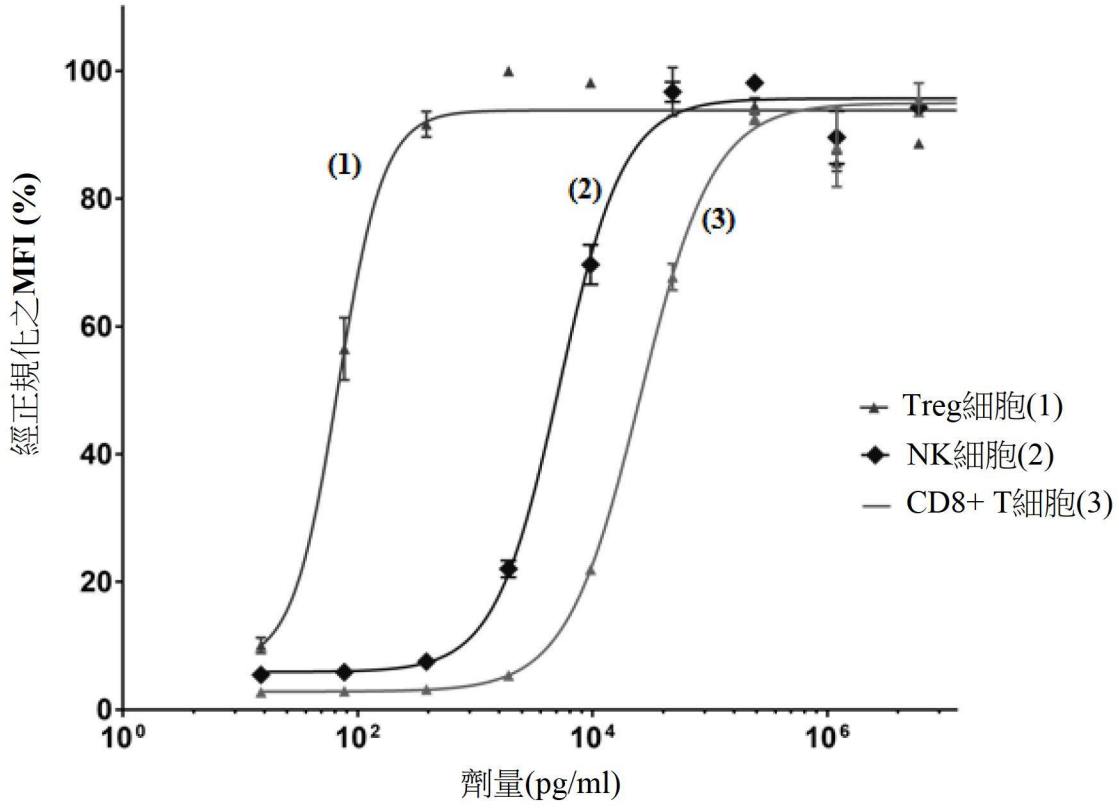
【圖13B】

向雄性食蟹獼猴單次**IV**給與**P65_30kD**之後的白血球、
淋巴細胞及嗜伊紅血球計數(平均值±**SD**)

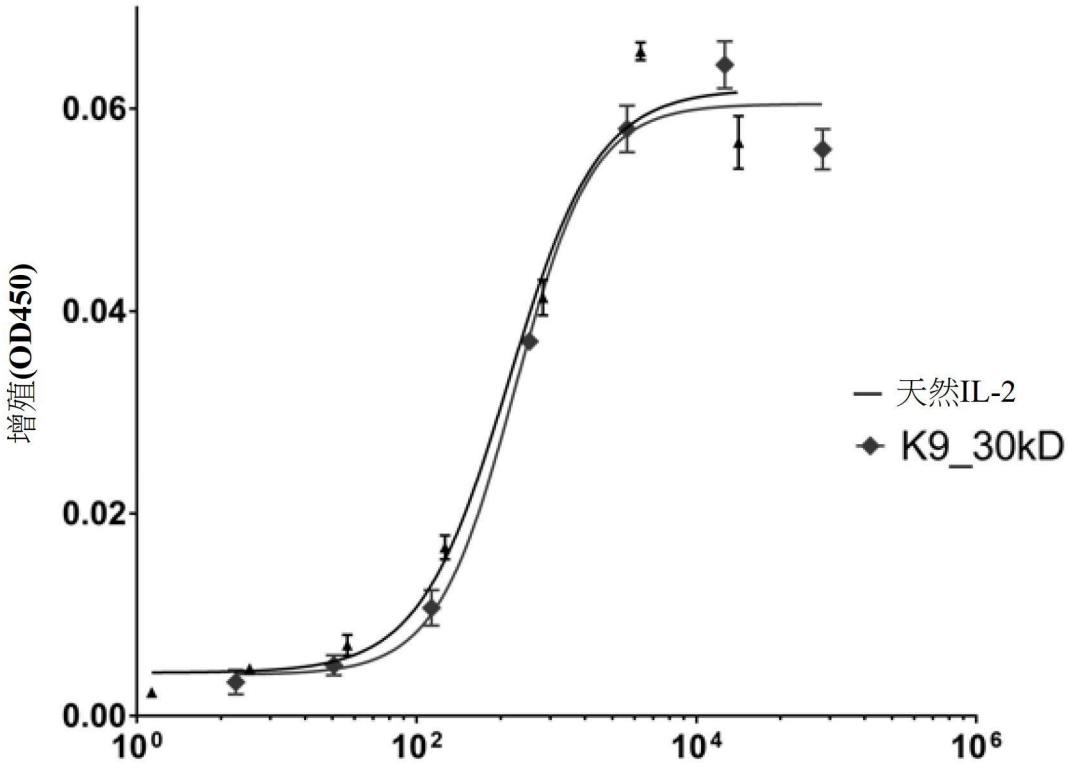
食蟹獼猴**0.3 mg/kg**單次給藥-血液學分析
(n=2)



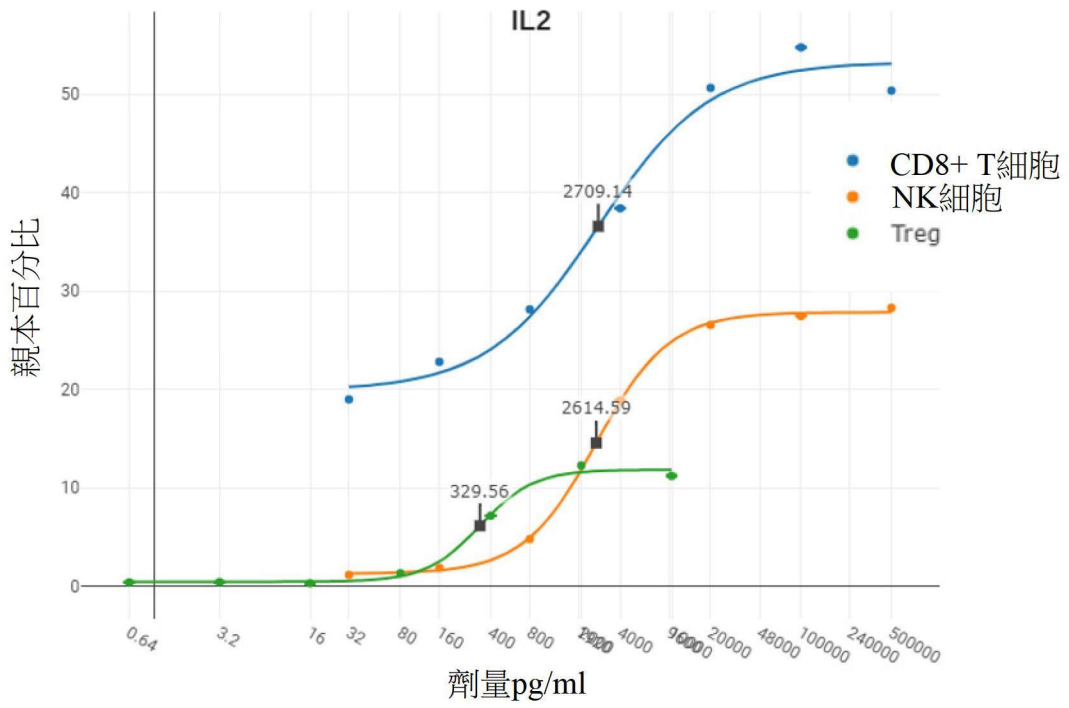
【圖14】


100
80
60
40
20
0
經正規化之MFI (%)
(1)
(2)
(3)
Treg細胞(1)
NK細胞(2)
CD8+ T細胞(3)
10^0
10^2
10^4
10^6
劑量(pg/ml)

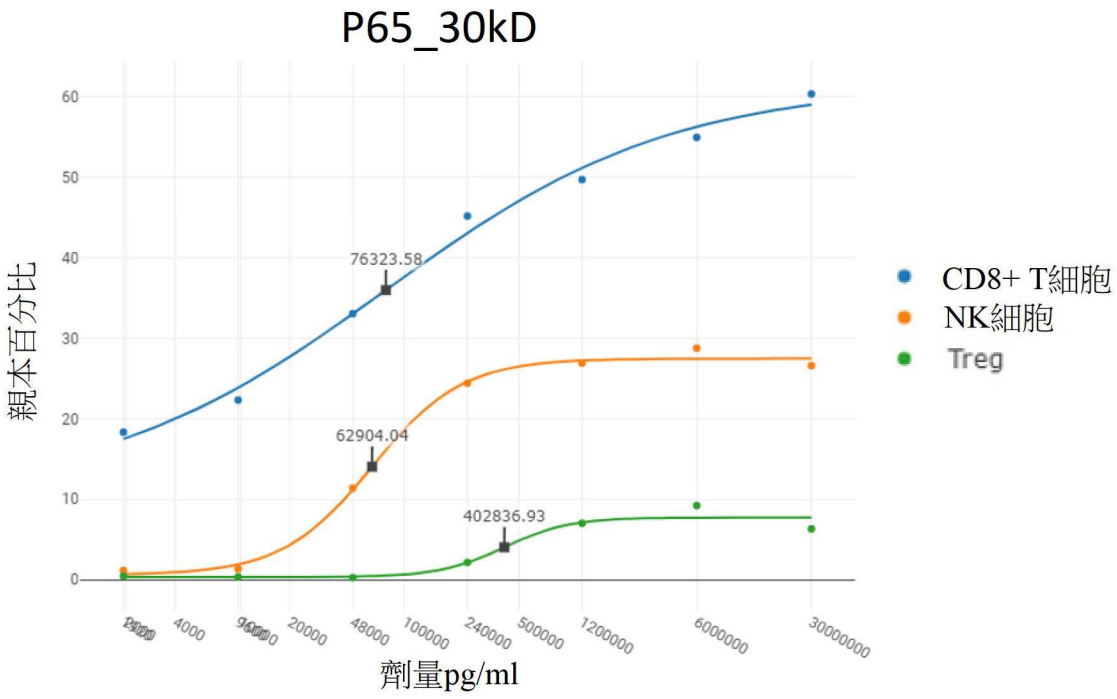
【圖15A】



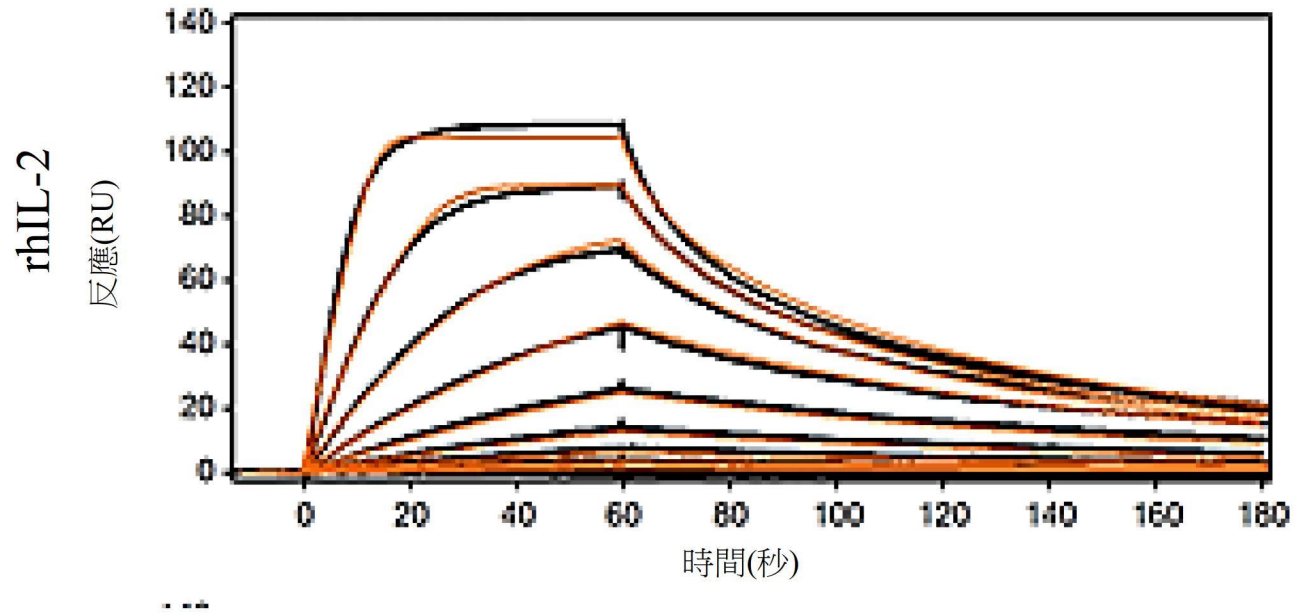
【圖15B】


IL2
親本百分比
劑量pg/ml
CD8+ T細胞
NK細胞
Treg
2709.14
2614.59
329.56

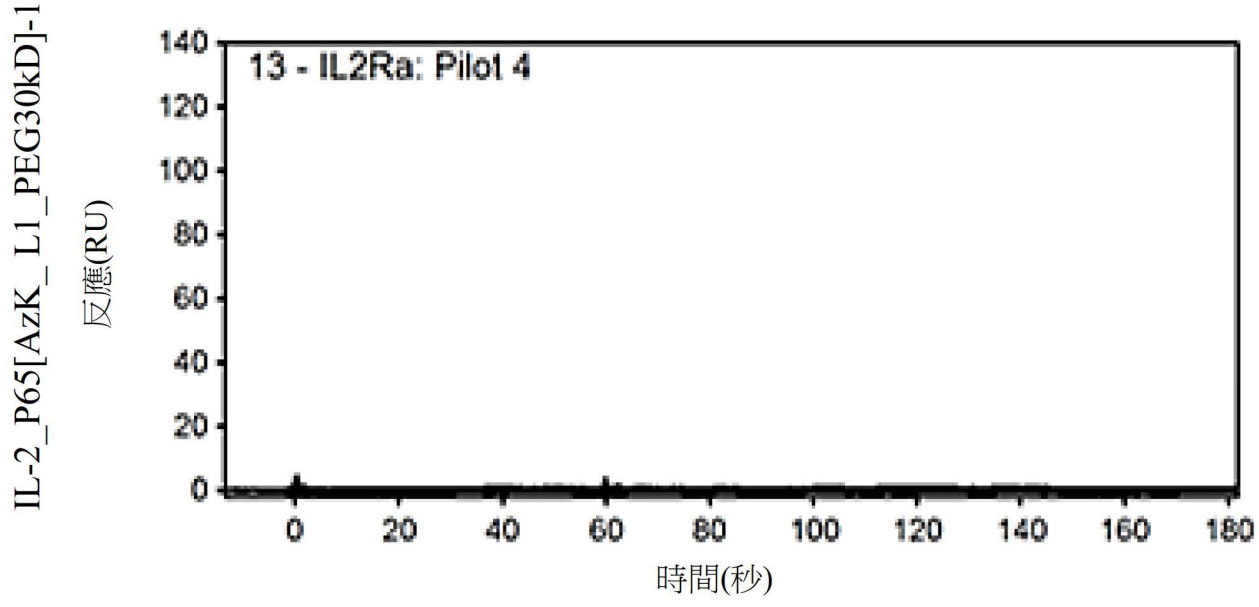
【圖16A】


P65_30kD
親本百分比
劑量pg/ml
CD8+ T細胞
NK細胞
Treg
76323.58
62904.04
402836.93

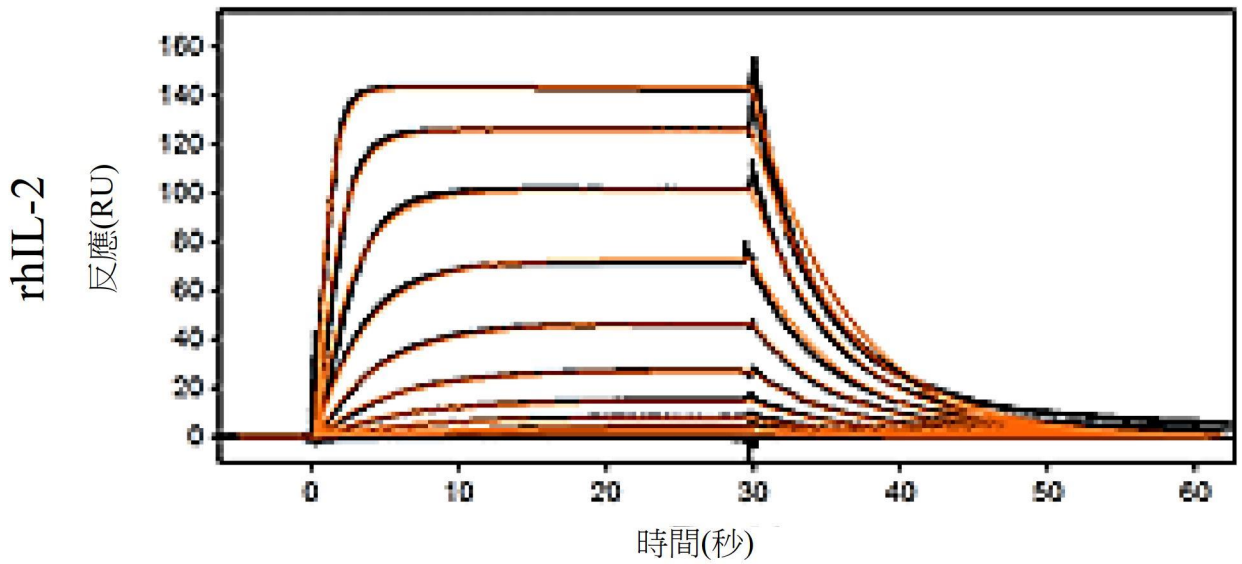
【圖16B】


rhIL-2
反應(RU)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
時間(秒)

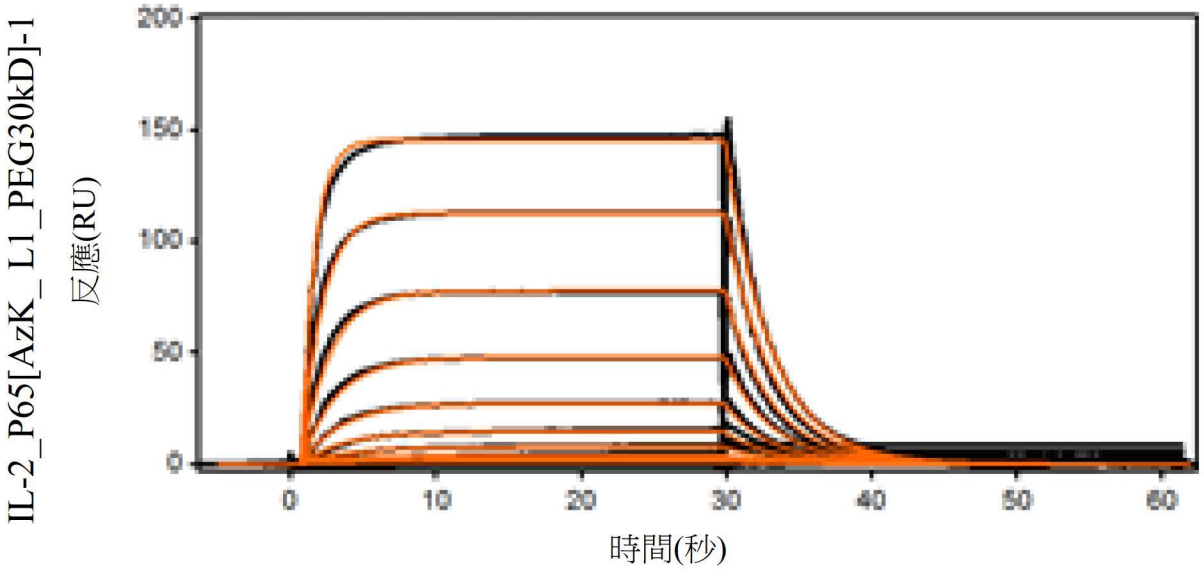
【圖17A】


IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1
反應(RU)
13 - IL2Ra: Pilot 4
140
120
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
時間(秒)

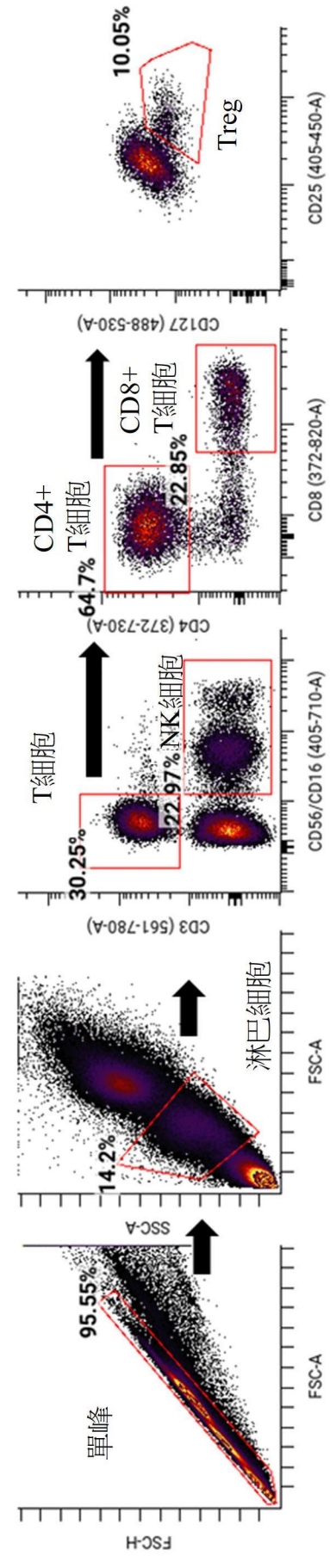
【圖17B】


rhIL-2
反應(RU)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
60
時間(秒)

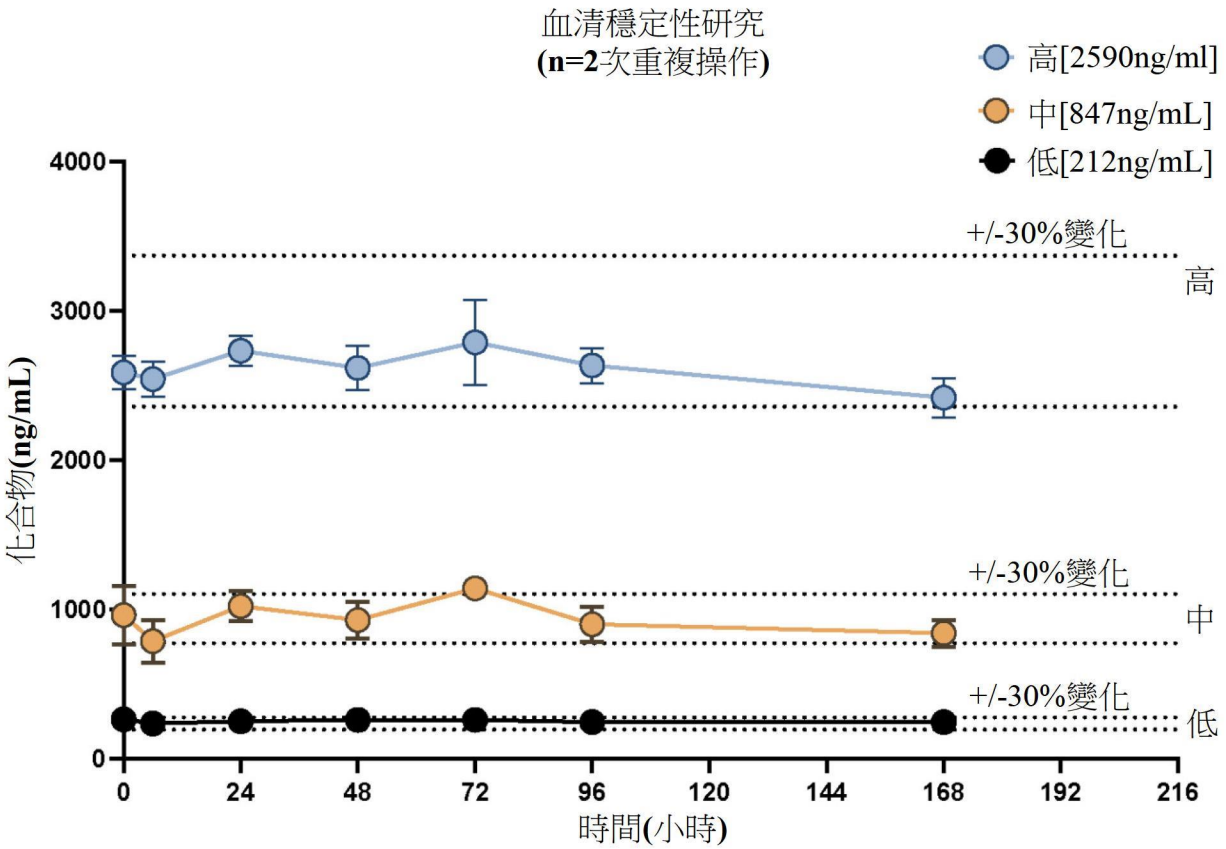
【圖17C】


IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1
反應(RU)
200
150
100
50
0
0
10
20
30
40
50
60
時間(秒)

【圖17D】


FSC-H
FSC-A
晶峰
95.55%
SSC-A
FSC-A
淋巴細胞
14.2%
CD3 (561-780-A)
CD56/CD16 (405-710-A)
T細胞
30.25%
NK細胞
22.97%
CD4 (372-730-A)
CD8 (372-820-A)
CD4+
T細胞
64.7%
CD8+
T細胞
22.85%
CD127 (488-530-A)
CD25 (405-450-A)
Treg
10.05%

【圖18】


血清穩定性研究
(n=2次重複操作)
高[2590ng/ml]
中[847ng/mL]
低[212ng/mL]
+/-30%變化
高
+/-30%變化
中
+/-30%變化
低
化合物(ng/mL)
4000
3000
2000
1000
0
0
24
48
72
96
120
144
168
192
216
時間(小時)

【圖19】