



(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 I776024 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：108106585

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 02 月 26 日

(51)Int. Cl. :	<i>A61K38/20 (2006.01)</i>	<i>A61K47/68 (2017.01)</i>
	<i>C07K14/54 (2006.01)</i>	<i>C07K16/00 (2006.01)</i>
	<i>C07K19/00 (2006.01)</i>	<i>C12N15/24 (2006.01)</i>
	<i>C12N15/62 (2006.01)</i>	<i>C12N15/63 (2006.01)</i>
	<i>C12P21/02 (2006.01)</i>	<i>A61K39/395 (2006.01)</i>
	<i>A61P35/00 (2006.01)</i>	

(30)優先權：2018/02/28	美國	62/636,362
2018/02/28	美國	62/636,371
2018/12/21	美國	62/784,302

(71)申請人：美商輝瑞大藥廠(美國) PFIZER INC. (US)

美國

(72)發明人：楊翊 YEUNG, YIK ANDY (CN)；費德曼 瑞德 馬丁 瑞尼 FELDMAN, REID MARTIN RENNY (US)；朱靈翰 CHU, LING HON MATTHEW (CN)；查帕羅 李吉爾斯 佳薇爾 佛南度 CHAPARRO RIGGERS, JAVIER FERNANDO (DE)；德鳩瑞提克 艾瓦納 DJURETIC, IVANA (ME)；林 羅拉 LIN, LAURA (US)；莫斯亞克 莉迪雅 MOSYAK, LIDIA (US)

(74)代理人：陳長文

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：33 項 圖式數：16 共 383 頁

(54)名稱

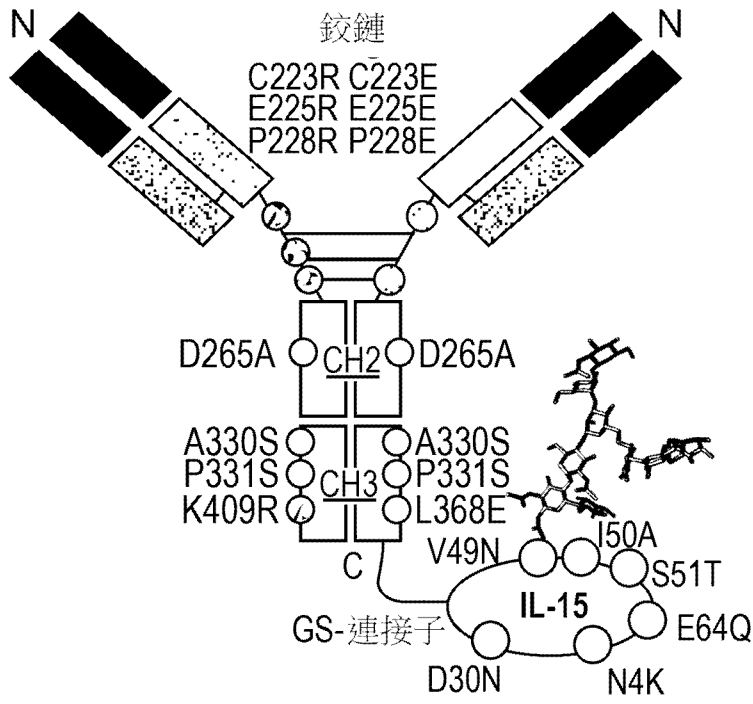
IL-15 變體及其用途

(57)摘要

本發明係關於具有治療及診斷用途之人類介白素 15 (IL-15)變體及其製造方法。本發明亦提供包含人類 IL-15 變體之融合蛋白。亦提供刺激或抑制哺乳動物之免疫反應的方法及使用 IL-15 變體或此類 IL-15 變體之融合蛋白治療病症(例如癌症)的方法。

The present invention relates to human interleukin 15 (IL-15) variants that have therapeutic and diagnostic use, and methods for making thereof. The present invention also provides fusion proteins comprising a human IL-15 variant. Also provided are methods of stimulating or suppressing immune responses in a mammal, and methods of treating a disorder (e.g., cancer) using the IL-15 variants or the fusion protein of such IL-15 variants.

指定代表圖：



【圖1A】



公告本

I776024

【發明摘要】

【中文發明名稱】

IL-15變體及其用途

【英文發明名稱】

IL-15 VARIANTS AND USES THEREOF

【中文】

本發明係關於具有治療及診斷用途之人類介白素15 (IL-15)變體及其製造方法。本發明亦提供包含人類IL-15變體之融合蛋白。亦提供刺激或抑制哺乳動物之免疫反應的方法及使用IL-15變體或此類IL-15變體之融合蛋白治療病症(例如癌症)的方法。

【英文】

The present invention relates to human interleukin 15 (IL-15) variants that have therapeutic and diagnostic use, and methods for making thereof. The present invention also provides fusion proteins comprising a human IL-15 variant. Also provided are methods of stimulating or suppressing immune responses in a mammal, and methods of treating a disorder (e.g., cancer) using the IL-15 variants or the fusion protein of such IL-15 variants.

【指定代表圖】

圖1A

【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

IL-15變體及其用途

### 【英文發明名稱】

IL-15 VARIANTS AND USES THEREOF

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於具有治療及診斷用途之介白素15 (IL-15)變體及其製造方法。本發明亦提供包含此類IL-15變體之融合蛋白。亦提供刺激或抑制哺乳動物之免疫反應的方法及使用IL-15變體或此類IL-15變體之融合蛋白治療病症(例如癌症)的方法。

### 【先前技術】

【0002】 細胞介素為免疫反應之強力調節劑且保持顯著影響免疫腫瘤學治療方法結果之可能性。然而，在人類個體中利用細胞介素之先前努力僅產生適度功效及顯著毒性。近期研究已表明，「靶向細胞介素」，諸如抗體-細胞介素融合蛋白可將細胞介素遞送至所需細胞類型，同時使外周曝露量及因此毒性最小化。參見例如Guo等人, Cytokine Growth Factor Rev. 38:10-21 (2017)；Jakobisiak M,等人, Cytokine Growth Factor Rev. 22(2):99-108 (2011)；Robinson, T. & Schluns, K.S., Immunol. Lett. 190:159-168 (2017)；Rhode等人, Cancer Immunol. Res. 4(1): 49-60 (2016)；Conlon等人, J Clin. Oncol. 33(1): 74-82 (2015)。因此，基於靶向細胞介素研發治療劑將在治療諸如癌症之各種疾病方面具有極大價值。

### 【發明內容】

【0003】 本文所揭示之本發明係關於人類介白素15 (IL-15)變體及

包含其之融合蛋白。已展現，相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，本發明之IL-15變體對IL-15受體 $\alpha$  (CD215)之結合性降低或沒有結合性，及/或IL-15與其信號傳導受體(由IL-2受體 $\beta$  (CD122)及共同 $\gamma$ 鏈(CD132)構成)之間的相互作用降低。在本發明之第二態樣中，此等親和力降低的IL-15變體(當呈現為抗體融合嵌合蛋白時)選擇性地靶向所需細胞類型(表現抗體標靶之彼等細胞)。相比於表現兩種組分之彼等細胞，表現IL-15受體複合物(而非抗體標靶)之細胞類型活化較少或未活化。因此，本發明之IL-15變體及IL-15融合蛋白選擇性地調節細胞亞群之活化以有效且安全地促進生物活性，諸如抗腫瘤活性。在本發明之第三態樣中，此等親和力降低的IL-15變體及IL-15融合蛋白(當表示為CAR (嵌合抗原受體) T細胞中之聚核苷酸時，呈分泌性或膜系留形式)用於增強CAR T功能，包括活性及增殖。

**【0004】** 因此，在一個態樣中，本發明提供一種經分離之人類介白素15 (IL-15)變體，其包含SEQ ID NO: 1之位置a) V49及I51或b) V49、I50及S51處的胺基酸取代，且進一步包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、L91、M109及/或I111處的一或多個胺基酸取代，其中相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，IL-15變體對人類IL-15受體 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )及人類IL-2受體 $\beta/\gamma$  (IL-2R $\beta\gamma$ )之結合性降低或沒有結合性，且其中位置V49處之胺基酸取代經糖基化。

**【0005】** 在另一態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1) 包含Fc域之抗體；及b)包含SEQ ID NO: 1之位置a) V49及I51或b) V49、I50及S51處的胺基酸取代之人類介白素15 (IL-15)變體，其中SEQ ID

NO: 1之位置V49處之胺基酸取代經糖基化，且進一步包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、L91、M109及/或I111處的一或多個胺基酸取代，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域，且其中相比於野生型Fc，Fc域之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性降低或沒有活性。

**【0006】** 在一些實施例中，IL-15變體包含V49N處之胺基酸取代，其中V49N經糖基化。在一些實施例中，SEQ ID NO: 1之E53及/或E89處的胺基酸取代亦經糖基化。

**【0007】** 在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之SEQ ID NO: 1之胺基酸取代：a) V49、I50、S51、N4、D30及E64；b) V49、I50、S51、N4、D30、E64及I68；c) V49、I50、S51、N4、D30、E64、M109；d) V49、I50、S51、N4、D30、E64、I68及M109；e) V49、I50、S51、D30、E64及I68；f) V49、I50、S51、D30、E64、M109；g) V49、I50、S51、D30、E64、I68及M109；h) N1、V49、I50及S51；i) N4、V49、I50及S51；j) S7、V49、I50及S51；k) K10、V49、I50及S51；l) K11、V49、I50及S51；m) S29、V49、I50及S51；n) V31、V49、I50及S51；o) H32、V49、I50及S51；p) V49、I50、S51及E64；q) V49、I50、S51及I68；r) V49、I50、S51及L69；s) V49、I50、S51及I111；t) N4、V49、I50、S51及E64；u) N1、D30、V49、I50及S51；v) N4、D30、V49、I50及S51；w) S7、D30、V49、I50及S51；x) K10、D30、V49、I50及S51；y) K11、D30、V49、I50及S51；z) S29、D30、V49、I50及S51；aa) D30、V49、I50、S51及E64；bb) D30、V49、I50、S51及I68；cc) D30、

V49、I50、S51及L69；及dd) D30、V49、I50、S51及I111。

**【0008】** 在一些實施例中，IL-15變體包含胺基酸取代，該等胺基酸取代包含以下位置處之一或多個特異性取代：a) V49N、V49K、V49E、V49H、V49Q或V49R；b) I50A或I50G；c) S51T；d) N1K、N1G、N1Q、N1R、N1E、N1A或N1D；e) N4K、N4G、N4A、N4S、N4D、N4E、N4L、N4R、N4T或N4Q；f) S7E、S7G、S7D、S7K、S7N、S7R、S7H或S7T；g) K10A、K10S、K10E、K10L、K10M、K10D或K10G；h) K11D、K11S或K11W；i) D30N；j) E64Q、E64K、E64A、E64S、E64N、E64H、E64T或E64R；k) E53N；l) G55S或G55T；m) E89N；n) L91S或L91T；o) Y26K、Y26R或Y26H；p) S29N；q) V31S、V31D或V31K；r) H32G；s) I68S、I68A、I68R、I68T、I68K、I68N、I68M、I68F、I68Y、I68E或I68H；t) L69A、L69S、L69D、L69T、L69M、L69G、L69Q、L69I、L69E或L69V；u) M109A、M109S、M109D或M109K；及/或v) I111A、I111K、I111S或I111D。在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之胺基酸取代：a) N4K、D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；b) N4Q、D30N、V49N、I50A及S51T；c) D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；d) N4Q、D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；e) N4Q、V49N、I50A及S51T；f) V49N、I50A、S51T及E64Q；及g) N4Q、V49N、I50A、S51T及E64Q。

**【0009】** 在另一態樣中，提供一種經分離之人類介白素15 (IL-15) 變體，其包含SEQ ID NO: 1之位置E46及V49處的胺基酸取代及SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、

H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處的至少一或多個胺基酸取代，其中相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，IL-15變體對人類IL-15受體 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )沒有結合性且對人類IL-2受體 $\beta/\gamma$  (IL-2R $\beta\gamma$ )之結合性降低。

**【0010】** 在另一態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1) 包含Fc域之抗體；及b)包含SEQ ID NO: 1之位置E46及V49處的胺基酸取代及SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處之至少一或多個胺基酸取代的人類介白素15 (IL-15)變體，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域，且其中相比於野生型Fc，Fc域之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性降低或沒有活性。

**【0011】** 在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之SEQ ID NO: 1中之胺基酸取代：a) N1、E46及V49；b) N4、E46及V49；c) S7、E46及V49；d) K10、E46及V49；e) K11、E46及V49；f) S29、E46及V49；g) V31、E46及V49；h) H32、E46及V49；i) E46、V49及E64；j) E46、V49及I68；k) E46、V49及L69；l) E46、V49及I111；m) N4、E46、V49及E64；n) E46、V49、N4、D30及E64；o) E46、V49、N4、D30、E64及I68；p) E46、V49、N4、D30、E64及M109；q) E46、V49、N4、D30、E64、I68及M109；r) N1、D30、E46及V49；s) N4、D30、E46及V49；t) S7、D30、E46及V49；u) K10、D30、E46及V49；v) K11、D30、E46及V49；w) S29、D30、E46及V49；x) D30、E46、V49及E64；y) D30、E46、V49R及I68；z) D30、E46、V49R及L69；aa) D30、E46、V49R及I111；bb) N1、D30、E46、

V49及M109；cc) N4、D30、E46、V49及M109；dd) S7、D30、E46、V49及M109；ee) K10、D30、E46、V49及M109；ff) K11、D30、E46、V49及M109；gg) D30、E46、V49、E64及M109；hh) D30、E46、V49、I68及M109；ii) D30、E46、V49、L69及M109；jj) D30、E46、V49、M109及I111；kk) D30、E46、V49、E64、I68及M109；ll) E46、V49、D30、E64及I68；mm) E46、V49、E64及M109；nn) E46、V49、D30、E64、I68及M109；oo) D22、Y26、V49、E46、E53、E89及E93；及pp) N1、D30、E46、V49及E64。

**【0012】** 在一些實施例中，IL-15變體包含胺基酸取代，該等胺基酸取代包含以下位置處之一或多個特異性取代：a) N1Q、N1K、N1R、N1E、N1A、N1D或N1G；b) N4K、N4G、N4A、N4S、N4D、N4E、N4R、N4T、N4I、N4L、N4W或N4Q；c) S7E、S7G、S7D、S7K、S7N、S7R、S7H或S7T；d) K10D、K10A、K10S、K10E、K10L、K10M、K10D或K10G；e) K11D、K11S或K11W；f) D22N；g) Y26K、Y26R或Y26H；h) S29N；i) D30N；j) V31S、V31D或V31K；k) H32G；l) E46G或E46Q；m) V49N、V49K或V49R V49E、V49H或V49Q；n) E53Q；o) G55S或G55T；p) E64Q、E64K、E64A、E64S、E64N、E64H、E64T或E64R；q) I68S、I68A、I68R、I68T、I68K、I68N、I68M、I68F、I68Y、I68E或I68H；r) L69S、L69A、L69D、L69T、L69M、L69G、L69Q、L69I、L69E或L69V；s) E89Q；t) E93Q；u) M109A、M109S、M109D或M109K；及/或v) I111A、I111K、I111S或I111D。在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之胺基酸取代：a) N1K、E46G及V49R；b) N4K、E46G

及V49R；c) N4Q、E46G及V49R；d) S7T、E46G及V49R；e) V31S、E46G及V49R；f) V31K、E46G及V49R；g) E46G、V49R及E64Q；h) E46G、V49R及E64K；i) N4Q、E46G、V49R及E64Q；j) N1G、D30N、E46G及V49R；k) N1K、D30N、E46G及V49R；l) N1Q、D30N、E46G及V49R；m) N4G、D30N、E46G及V49R；n) N4K、D30N、E46G及V49R；o) N4Q、D30N、E46G及V49R；p) S7E、D30N、E46G及V49R；q) S7G、D30N、E46G及V49R；r) S7T、D30N、E46G及V49R；s) K10D、D30N、E46G及V49R；t) D30N、E46G、V49R及E64A；u) D30N、E46G、V49R及E64Q；v) D30N、E46G、V49R及E64K；w) D30N、E46G、V49R及I68S；x) D30N、E46G、V49R及I68K；y) N4K、D30N、E46G、V49R及E64K；z) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64K；aa) N4K、D30N、E46G、V49R及E64Q；bb) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64Q；cc) N4K、D30N、E46G、V49R及I68S；dd) D30N、E46G、V49R、E64Q及I68S；ee) N1A、D30N、E46G及V49R；及ff) N1G、D30N、E46G、V49R及E64Q。

【0013】在另一態樣中，提供一種經分離之人類IL-15變體，其包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E46、E53、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處的一或多個胺基酸取代，其中相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，IL-15變體對人類IL-15受體 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )及/或人類IL-2受體 $\beta$  (IL-2R $\beta$ )及/或IL-2受體 $\gamma$  (IL-2R $\gamma$ )之結合性降低或沒有結合性。

【0014】 在另一態樣中，提供一種經分離之人類IL-15變體，其包含SEQ ID NO:93中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，IL-15變體進一步包含跨膜域。

【0015】 在另一態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1) 包含Fc域之抗體；及b)人類介白素15 (IL-15)變體，該變體包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E46、E53、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處之一或多個胺基酸取代，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域，且其中相比於野生型Fc，Fc域之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性降低或沒有活性。

【0016】 在另一態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1) 包含Fc域之IL-15抗體；及b) SEQ ID NO: 1之人類介白素15 (IL-15)蛋白質，其中IL-15共價連接至抗體之Fc域。

【0017】 在一些實施例中，本發明之IL-15融合蛋白中之抗體可為人類抗體、人類化抗體、嵌合抗體或雙特異性抗體。

【0018】 在一些實施例中，本發明之IL-15融合蛋白中之抗體具有人類IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>2Δa</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgG<sub>4Δb</sub>、IgG<sub>4Δc</sub>、IgG<sub>4</sub> S228P、IgG<sub>4Δb</sub> S228P及IgG<sub>4Δc</sub> S228P子類別。

【0019】 在一些實施例中，本發明之IL-15融合蛋白之抗體為a) IgG<sub>2</sub>，及包含人類IgG<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 3)之鉸鏈區中之位置223、225及228處及CH3區中之位置409或368 (EU編號方案)處之胺基酸修飾的抗體可變域；b) IgG<sub>1</sub>，及包含人類IgG<sub>1</sub> (SEQ ID NO: 2)之鉸鏈區中之位置221及228處及CH3區中之409或368 (EU編號方案)位置處之胺基酸修飾的抗體可變域；或c) IgG<sub>1</sub>，及包含人類IgG<sub>1</sub> (SEQ ID NO: 2)之CH3區中之

位置349、354、366、368及/或407 (EU編號方案)處之胺基酸修飾的抗體可變域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下位置處之胺基酸修飾：a) 人類IgG2 (SEQ ID NO: 3)之一或多個位置265、330及/或331；或b)人類IgG1 (SEQ ID NO: 2)之一或多個位置234、235、237及/或322。在一些實施例中，抗體進一步包含人類IgG1 (SEQ ID NO:74及75)之一或多個位置234、235、237、349、354、366、368及/或407處的胺基酸修飾。

**【0020】** 在一些實施例中，IL-15融合蛋白之抗體選自由以下組成之群：抗CTLA-4抗體、抗CD3抗體、抗CD4抗體、抗CD8抗體、抗4-1BB抗體、抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗TIM3抗體、抗LAG3抗體、抗TIGIT抗體、抗OX40抗體、抗IL-7R $\alpha$  (CD127)抗體、抗IL-8抗體、抗IL-15抗體、抗HVEM抗體、抗BTLA抗體、抗CD40抗體、抗CD40L抗體、抗CD47抗體、抗CSF1R抗體、抗CSF1抗體、抗MARCO抗體、抗CXCR4抗體、抗VEGF抗體、抗VEGFR1抗體、抗VEGFR2抗體、抗TNFR1抗體、抗TNFR2抗體、抗CD3雙特異性抗體、抗CD19抗體、抗CD20、抗Her2抗體、抗EGFR抗體、抗ICOS抗體、抗CD22抗體、抗CD 52抗體、抗CCR4抗體、抗CCR8抗體、抗CD200R抗體、抗VISG4抗體、抗CCR2抗體、抗LILRb2抗體、抗CXCR4抗體、抗CD206抗體、抗CD163抗體、抗KLRG1抗體、抗FLT3抗體、抗B7-H4抗體、抗B7-H3抗體、KLRG1抗體及抗GITR抗體。

**【0021】** 在一些實施例中，本發明之IL-15融合蛋白經由多肽連接子及/或多肽標記物共價連接至抗體。

**【0022】** 在另一態樣中，本發明提供一種包含治療有效量之如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合

物。

**【0023】** 在另一態樣中，本發明提供一種包含編碼如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白之核苷酸序列的經分離之聚核苷酸。在另一態樣中，本發明提供一種包含該聚核苷酸之載體。

**【0024】** 在另一態樣中，本發明提供重組產生如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白之經分離之宿主細胞或細胞株。在一些實施例中，宿主細胞或細胞株為經工程改造之免疫細胞，其中該經工程改造之免疫細胞包含嵌合抗原受體(CAR)。在一些實施例中，CAR表現細胞為T細胞，且T細胞表現如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白，其呈分泌性形式或膜系留形式。

**【0025】** 在另一態樣中，本發明提供一種產生IL-15變體或IL-15融合蛋白之方法，該方法包含：在其中產生蛋白質變體或融合蛋白之條件下培養重組產生如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白的細胞株；及回收蛋白質變體或融合蛋白。

**【0026】** 在另一態樣中，本發明提供一種用於治療個體之病況之方法，其包含向有需要之個體投與有效量之如本文所描述之醫藥組合物。在一些實施例中，該病況為癌症。在一些實施例中，癌症為液體癌症或固體癌症。在一些實施例中，癌症為復發性、難治性或轉移性的。

**【0027】** 在另一態樣中，本發明提供一種抑制患有腫瘤之個體之腫瘤生長或進展的方法，其包含向該個體投與有效量之如本文所描述之醫藥組合物。

**【0028】** 在另一態樣中，本發明提供一種抑制或預防個體之癌細胞之癌轉移的方法，其包含向有需要之個體投與有效量之如本文所描述之醫

藥組合物。

【0029】 在另一態樣中，本發明提供一種誘導有需要之個體之腫瘤消退的方法，其包含向該個體投與有效量之如本文所描述之醫藥組合物。

【0030】 在一些實施例中，本文所描述之IL-15變體及IL-15融合蛋白可在個體中非經腸投與。在一些實施例中，個體為人類。

【0031】 在一些實施例中，該方法可進一步包含投與有效量之第二治療劑。在一些實施例中，第二治療劑為生物治療劑。

【0032】 在一些實施例中，第二治療劑為細胞介素、免疫細胞介素(例如抗EDA-IL10融合蛋白)、TNF $\alpha$ 、PAP抑制劑、溶瘤病毒、激酶抑制劑、ALK抑制劑(例如舒尼替尼(sunitinib)或克卓替尼(crizotinib))、MEK抑制劑、IDO抑制劑、GLS1抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑(例如阿西替尼(axitinib)或帕博希布(palbociclib))、CAR (嵌合抗原受體)-T細胞或T細胞療法、PRR (模式辨識受體)促效劑(諸如TLR (Toll樣受體)促效劑(例如TLR3、TLR4、TLR5、TLR7、TLR9))或腫瘤疫苗。

【0033】 亦提供本文所提供之IL-15變體或IL-15融合蛋白中之任一者之用途，其用於製造供治療癌症或抑制有需要之個體之腫瘤生長或進展用之藥物。

【0034】 在一個態樣中，本發明提供一種用於治療個體之癌症之方法，其包含向該個體投與包含第一治療劑及第二治療劑之組合療法，其中第一治療劑為IL-15變體或IL-15融合蛋白。

【0035】 在一些實施例中，第一治療劑為IL-15變體。在一些實施例中，第一治療劑為IL-15融合蛋白。在一些實施例中，第一治療劑為本發明之任何IL-15變體或IL-15融合蛋白。在一些實施例中，第一治療劑包

含SEQ ID NO:84、85、86、87、89或90中所示之胺基酸序列。

**【0036】** 在一些實施例中，第二治療劑為免疫細胞介素。在一些實施例中，第二治療劑為包含共軛或融合至細胞介素(例如融合蛋白)之抗體或其片段之免疫細胞介素。在一些實施例中，抗體或其片段結合纖維結合蛋白之額外區域-A (EDA)同功異型物(例如抗EDA抗體)。在一些實施例中，抗EDA抗體其片段包含SEQ ID NO:94中所示之重鏈可變(VH)區之CDR1、CDR2及CDR3及/或SEQ ID NO:96中所示之輕鏈可變(VI)區之CDR1、CDR2及CDR3。在一些實施例中，抗EDA抗體或其片段包含具有SEQ ID NO:94之胺基酸序列之VH區及/或具有SEQ ID NO:96之胺基酸序列之VL區。在一些實施例中，細胞介素為IL-10。在一些實施例中，IL-10包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列。在一些實施例中，免疫細胞介素包含至少一個連接子。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO:95及/或97。在一些實施例中，免疫細胞介素為包含SEQ ID NO:99中所示之胺基酸序列之抗EDA-IL-10融合蛋白。

**【0037】** 在一些實施例中，本發明提供一種用於治療個體之癌症之方法，其包含向該個體投與包含第一治療劑及第二治療劑之組合療法，其中該第一治療劑為IL-15融合蛋白，且其中該第二藥劑為抗EDA-IL-10融合蛋白。在一些實施例中，IL-15融合蛋白包含SEQ ID NO:84、85、86、87、89或90中所示之胺基酸序列，且抗EDA-IL-10融合蛋白包含SEQ ID NO:99中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，組合療法可進一步包含1、2、3、4或5種額外治療劑。在一些實施例中，組合療法進一步包含抗PD-1或抗PD-L1抗體。在一些實施例中，抗PD-1抗體為BCD-100、坎立珠單抗(camrelizumab) (SHR-1210)、測米匹單抗(cemiplimab)

(REGN2810)、傑諾珠單抗(genolimzumab) (CBT-501)、MEDI0680、納武單抗(nivolumab) (OPDIVO<sup>®</sup>)、帕博利珠單抗(pembrolizumab) (KEYTRUDA<sup>®</sup>)、PF-06801591 (RN888)、斯迪利單抗(sintilimab) (IBI-308)、斯帕塔利單抗(spartalizumab) (PDR-001)、STI-A1110、緹勒珠單抗(tislelizumab) (BGB-A317)或TSR-042。在一些實施例中，抗PD-L1抗體為阿特珠單抗(atezolizumab) (TECENTRIQ<sup>®</sup>)、德瓦魯單抗(durvalumab) (IMFINZI<sup>®</sup>)、BMS-936559 (MDX-1105)或LY3300054。

【0038】 在一些實施例中，組合療法中之各治療劑可同時(例如在相同藥物中或在同一時間)、並行(亦即，在以任何次序一個緊接著另一個投與之單獨藥物中)或以任何次序依次投與。

#### 【圖式簡單說明】

#### 【0039】

圖1A為描繪包含以下之抗小鼠PD1抗體-IL-15融合蛋白構築體之示意圖：在N端具有二價Fab作為靶向抗體臂之全部人類hIgG2Δa；具有CH2及CH3 (D265A、A330S、P331S)處之消除FcγR結合之突變、鉸鏈(C223R/E、E225R/E及P228R/E)及CH3 (K409R或L368E)上之雙特異性突變的異二聚Fc，其用於經由可撓性甘胺酸-絲胺酸(GS)-連接子IL-15突變蛋白分子在C端之單價連接。IL-15蛋白質中之突變包括N4K、D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q (SEQ ID NO: 1)；V49N-I50A-S51T為N-連接糖基化位點(如伸出V49N位置之示意性碳水化合物基元所示)。

圖1B描繪在如圖1A中所示之抗體上具有相同突變之另一抗小鼠PD1抗體-IL-15突變融合蛋白構築體及包括N4K、D30N、E46G (或Y26K)、V49R (或V49K)及E64Q之IL-15蛋白質中之突變差異。

圖1C為描繪包含以下之抗小鼠PD1抗體-IL-15融合蛋白構築體(「M2」)之示意圖：在N端具有二價Fab作為靶向抗體臂之全部人類IgG1；鉸鏈(L234A、L235A及G237A)及CH3(Y349C、T366W、S354C、T366S、L368A及Y407V)上之雙特異性突變，其用於經由可撓性甘胺酸-絲胺酸(GS)-連接子IL-15突變蛋白分子在C端之單價連接。IL-15蛋白質中之突變包括E46G、V49R、E64Q、D30N及N1G (SEQ ID NO: 1)。

圖1D描繪在如圖1C中所示之抗體上具有相同突變之另一抗小鼠PD1抗體-IL-15突變融合蛋白構築體(「M1」)且差異在於包括E46G、V49R、D30N及N1A (SEQ ID NO: 1)之IL-15蛋白質中之突變。

圖2A、圖2B、圖2C及圖2D顯示抗體或抗體-細胞介素融合分子與表現IL-15受體(CD122加CD132)之細胞以及在一些情況下同樣PD-1的直接結合。分子包括：抗小鼠PD-1抗體(圖2A)；同型對照抗體(Ab8.8)-aSu-IL-15 (圖2B)；抗小鼠PD-1-IL-15RaSu-IL15 (圖2C)；及抗小鼠PD-1-IL-15 NQ (圖2D)。

圖3A、圖3B及圖3C藉由標繪在亦染色為藉由流動式細胞量測分析pSTAT5陽性之給定分析中PD-1+或PD-1 (較低)細胞之百分比，展示報導體分析中之非靶向IL-15、xmPD-1-IL-15RaSu-IL15 (野生型IL-15)及xmPD-1-IL15 NQ變體之比較。

圖4A、4B、4C、4D、4E、4F、4G及4H展示一系列突變蛋白(突變體或變體，可互換使用)之圖，其均係基於xmPD-1-IL15RaSu-IL15。在各圖中指明所分析之特異性分子。

圖5A、5B、5C、5D、5E、5F及5G展示一系列突變蛋白之圖，其皆

缺少IL-15RaSu區域且含有突變以降低或消除IL-15Ra結合。在各圖中指明所分析之特異性分子。

圖6A、6B、6C、6D、6E、6F及6G展示一系列突變蛋白之圖，其均具有相對於IL-15野生型改變的活性(pSTAT5活化)。在各圖中指明所分析之特異性分子。

圖7A、7B、7C、7D、7E、7F、7G及7H展示一系列突變蛋白之圖，其均具有相對於IL-15野生型改變的活性(pSTAT5活化)。在各圖中指明所分析之特異性分子。

圖8A、8B、8C及8D展示對經xmPD-1-IL15RaSu-IL15或xmPD1-IL15 NQ處理之小鼠之存活率及體重的影響。更具體言之，圖8A展示在箭頭指示之當天(d0、4、7)用2、1或0.2 mg/kg xmPD1-IL15RaSu-IL15給藥之動物的體重變化。圖8B展示此等相同動物之總存活率。圖8C展示在第0天、第3天及第6天用1、0.8或0.5 mg/kg xmPD1-IL15RaSu-IL15給藥之動物的體重變化。圖8D展示在第0天、第3天及第6天用3、2或1 mg/Kg xmPD1-IL15 NQ給藥之動物的體重變化。

圖9A及圖9B標繪閘控為CD4+或CD8+細胞或NK細胞且評分為PD-1+之脾臟細胞或腫瘤浸潤淋巴細胞之百分比(圖9A)；圖9B展示標繪為實際平均螢光強度之相同研究。

圖10A、10B及10C展示經5、3、1或0.3 mg/kg xmPD1-IL15 NQ或0.3 mg/kg xmPD1-IL15RaSu-IL15處理之小鼠的活體內B16F10腫瘤療效研究資料且與對照(PBS處理)組進行比較。更具體言之，在圖10A中，標繪所有組之原發性腫瘤體積。在圖10B中，標繪研究組中之動物之總存活率。在圖10C中，標繪各組之體重變化(相對於研究起始體重)。

圖11A及11B展示各自以1或0.3 mg/kg經抗PD-1抗體、xmPD1-IL15 NQ或同型對照(Ab8.8)-IL15 NQ處理之小鼠之活體內B16F10腫瘤療效研究資料。

圖11C、11D、11E及11F展示各自以0.1、0.3、1或5 mg/kg經抗PD1-IL15 M1或M2 (分別如圖1D及1C中所描繪)處理之小鼠之活體內B16F10腫瘤療效研究資料。

圖11G及11H展示各自以1 mg/Kg經抗PD-1抗體或抗PD1-IL15 M1處理之小鼠之活體內B16F10腫瘤療效研究資料。

圖11I、11J、11K及11L展示各自以0.1、0.3、1或5 mg/kg經抗PD1-IL15 M1或M2處理之小鼠之活體內MC38腫瘤療效研究資料。圖11A、11C、11E、11G、11I及11K標繪各組隨時間推移之原發性腫瘤塊之體積；X軸以下箭頭指明給藥時程。圖11B、11D、11F、11H、11J及11L標繪各組之基線之體重之平均變化(在給藥早期階段，d=0)。

圖12A、12B、12C及12D展示歸因於IL-15藥物投與分析脾臟及TIL淋巴細胞之變化之實驗結果。圖12A展示經由抗PD-1、Ab8.8-IL15 NQ或xmPD1-IL15 NQ之抗人類Fc偵測來自經前述分子處理之動物之細胞。上排：如所指示之TIL CD8+ (左側)或CD4+ (右側)細胞之柱狀圖。下排：如所指示之脾臟CD8+ (左側)或CD4+ (右側)細胞之柱狀圖。圖12B展示來自3次劑量之指定化合物之後1天取樣之動物的如所指示之脾臟T細胞、CD4+ T細胞及CD8+ T細胞之百分比。圖12C展示來自3次劑量之指定化合物之後1天取樣之動物的如所指示之TIL T細胞、CD4+ T細胞及CD8+ T細胞之百分比。圖12D標繪如自圖12B及12C計算之脾臟及腫瘤的CD8至CD4 T細胞之比率。

圖13A及13B展示在第6天外周血液或腫瘤浸潤性淋巴細胞中之NK、CD8<sup>+</sup> T及Treg細胞之絕對計數，其展示分別藉由xmPD1-IL15 M1及xmPD1-IL15 m2具有最大作用。

圖13C及13D展示在B16F10腫瘤療效模型上耗盡CD8<sup>+</sup> T及NK1.1<sup>+</sup>細胞之對應作用。亦展示研究期間小鼠之治療方案及平均重量。

圖13E展示在B16F10腫瘤療效模型上抑制T細胞釋放之FTY420治療之作用。亦展示研究期間小鼠之治療方案及平均重量。

圖14A及14B展示對給予含有IL-15之化合物之活體內細胞介素產量的作用。圖14A展示在單次劑量之指定IL-15化合物之後6、24、48、72、96及120小時的平均IFN $\gamma$ 水準(n=3隻動物)。圖14B展示在單次劑量之指定IL-15化合物之後6、24、48、72、96及120小時的平均IL-6水準(n=3隻動物)。

圖15A、15B、15C、15D、15E及15F展示將靶向抗人類PD-1(xhPD1)--IL15 M1或M2或非靶向同型對照-抗體--IL15嵌合分子添加至人類外周血液單核細胞中之作用，其中其分別對人類NK細胞、CD8<sup>+</sup>效應記憶T細胞及CD8<sup>+</sup>中樞記憶T細胞產生不同pSTAT5活化。

圖16A、16B及16C展示與抗EDA-IL-10融合蛋白組合之PD-1-靶向IL-15分子(xPD1-IL15 M1)之活體內療效研究。圖16A展示0.3 mg/kg xPD1-IL15 M1及5 mg/kg抗EDA-IL-10融合蛋白(xEDA-IL 10)之抗腫瘤功效。圖16B展示1 mg/kg xPD1-IL15 M1及5 mg/kg抗EDA-IL-10融合蛋白(xEDA-IL 10)之抗腫瘤功效。圖16C標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。

#### 【實施方式】

【0040】 本文所揭示之本發明係關於人類介白素15 (IL-15)變體及包含其之融合蛋白。已展現，相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，本發明之IL-15變體對IL-15受體 $\alpha$  (CD215)之結合性降低或沒有結合性，及IL-15與其信號傳導受體(由IL-2受體 $\beta$  (CD122)及共同 $\gamma$ 鏈(CD132)構成)之間的相互作用降低。在本發明之第二態樣中，此等親和力降低的IL-15變體(當呈現為抗體融合嵌合蛋白時)選擇性地靶向所需細胞類型(表現抗體標靶之彼等細胞)。相比於表現兩種組分之彼等細胞，表現IL-15受體複合物(而非抗體標靶)之細胞類型活化較少或未活化。另外，亦展現，本發明之IL-15融合蛋白優先活化人類外周CD8 T細胞而非自然殺手(NK)細胞中之下游生物標記物pSTAT5，且具有有效及優先的人類CD8腫瘤浸潤性T淋巴細胞(TIL)活化。因此，本發明之IL-15變體及IL-15融合蛋白選擇性地調節細胞亞群之活化以有效且安全地促進生物活性，諸如抗腫瘤活性。在本發明之第三態樣中，此等親和力降低的IL-15變體及IL-15融合蛋白(當表示為CAR T細胞中之聚核苷酸時，呈分泌性或膜系留形式)用於增強CAR T功能，包括活性及增殖。

#### 【0041】

##### 一般技術

除非另外指明，否則本發明之實踐將採用分子生物學(包括重組技術)、微生物學、細胞生物學、生物化學及免疫學之習知技術，其完全處於熟習此項技術者之範圍內。此類技術完整解釋於文獻中，諸如Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第二版(Sambrook等人, 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait 編, 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A

Laboratory Notebook (J.E. Cellis編, 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney 編, 1987) ; Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather及P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths及D.G. Newell 編, 1993-1998) J. Wiley 及 Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.) ; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir及C.C. Blackwell編) ; Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller 及M.P. Calos編, 1987) ; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel等人編, 1987) ; PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis 等人編, 1994) ; Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan等人編, 1991) ; Short Protocols in Molecular Biology (Wiley 及 Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway 及 P. Travers, 1997) ; Antibodies (P. Finch, 1997) ; Antibodies: a practical approach (D. Catty.編, IRL Press, 1988-1989) ; Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd 及 C. Dean 編, Oxford University Press, 2000) ; Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow及D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999) ; The Antibodies (M. Zanetti 及 J.D. Capra 編, Harwood Academic Publishers, 1995) 。

## 【0042】

### 定義

除非另外指明，否則以下術語將理解為具有以下含義：術語「經分離之分子」在藉助於其衍生物起源或來源指代分子(其中分子為例如多肽、聚核苷酸或抗體)時：(1)不與在其天然狀態下伴隨其之天然締合組分

締合，(2)實質上不含來自相同來源，例如物種、表現其之細胞、庫等的其他分子，(3)由來自不同物種之細胞表現，或(4)在自然界中不存在。因此，經化學合成或表現於與天然來源之系統不同之細胞系統中的分子將自其天然締合組分「分離」。使用此項技術中熟知之純化技術，藉由分離亦可使分子實質上不含天然締合組分。可藉由此項技術中熟知之多種方法分析分子純度或均勻性。舉例而言，多肽樣品之純度可使用聚丙烯醯胺凝膠電泳及凝膠染色以使用此項技術中熟知之技術使多肽顯現來分析。出於某些目的，可藉由使用HPLC或此項技術中用於純化之其他熟知方法提供更高解析度。

**【0043】** 如本文所使用，術語「IL-15」係指保留至少一部分IL-15活性之IL-15及其變體之任何形式。除非另有不同指示，諸如藉由特定參考人類IL-15，否則IL-15包括天然序列IL-15之所有哺乳動物物種，例如人類、犬、貓、馬及牛。一個例示性野生型人類IL-15發現為Uniprot寄存編號P40933 (SEQ ID NO: 5)。

**【0044】** 在本文中術語「多肽」、「寡肽」、「肽」及「蛋白質」可互換使用，係指任何長度之胺基酸鏈。鏈可為直鏈或分支鏈，其可包含經修飾之胺基酸，及/或可間雜有非胺基酸。術語亦涵蓋已經天然或藉由干預修飾之胺基酸鏈；該干預例如形成雙硫鍵、糖基化、脂質化、乙醯化、磷酸化或諸如與標記組份結合之任何其他操縱或修飾。定義內亦包括例如含有胺基酸之一或多種類似物(包括例如非天然胺基酸等)以及此項技術中已知之其他修飾的多肽。應理解，多肽可作為單一鏈或相關鏈出現。

**【0045】** 「抗體」為能夠經由至少一個位於免疫球蛋白分子之可變區之抗原識別位點特異性結合至諸如碳水化合物、聚核苷酸、脂質、多肽

等標靶之免疫球蛋白分子。如本文所使用，除非另外規定，否則術語不僅涵蓋完整多株或單株抗體，而且涵蓋與完整抗體競爭專一性結合之其任何抗原結合部分、包含抗原結合部分之融合蛋白及包含抗原識別位點之免疫球蛋白分子之任何其他修飾組態。抗原結合部分包括例如Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、域抗體(dAb，例如鯊魚及駱駝抗體)、包括互補決定區(CDR)之片段、單鏈可變片段抗體(scFv)、最大抗體、微型抗體、內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、v-NAR及雙-scFv及含有足以使得專一性抗原結合至多肽之免疫球蛋白之至少一部分的多肽。抗體包括任何類別之抗體，諸如IgG、IgA或IgM(或其子類)，且該抗體無需為任何特定類別。免疫球蛋白可視其重鏈之恆定區之抗體胺基酸序列而定歸為不同類別。存在五個主要類別之免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等抗體中之若干者可進一步分成亞類(同型)，例如IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgA<sub>1</sub>及IgA<sub>2</sub>。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定區分別稱為 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 及 $\mu$ 。不同類別之免疫球蛋白之子單元結構及三維組態為熟知的。

**【0046】** 抗體之「可變區」係指單獨或呈組合形式之抗體輕鏈之可變區或抗體重鏈之可變區。如此項技術中已知，重鏈及輕鏈之可變區各自由四個藉由亦稱為高變區之三個互補決定區(CDR)所連接之構架區(FR)組成；且促進形成抗體之抗原結合位點。若需要目標可變區之變體(尤其在CDR區域外部之胺基酸殘基中具有取代(亦即，在構架區中))，則可藉由比較目標可變區與其他抗體(其含有與目標可變區相同的典型類別中之CDR1及CDR2序列)之可變區來鑑別適當的胺基酸取代，較佳地，保守胺基酸取代(Chothia及Lesk, J Mol Biol 196(4): 901-917, 1987)。

【0047】 在某些實施例中，CDR之確定性描繪及包含抗體之結合位點之殘基的確認藉由求解抗體之結構及/或求解抗體-配體複合物之結構來實現。在某些實施例中，其可藉由熟習此項技術者已知之多種技術中任一者來實現，諸如X射線結晶法。在某些實施例中，可採用各種分析方法以鑑別或近似鑑別CDR區。在某些實施例中，可採用各種分析方法以鑑別或近似鑑別CDR區。此類方法之實例包括(但不限於)卡貝特(Kabat)定義、科西亞(Chothia)定義、AbM定義、接觸定義及構形定義。

【0048】 卡貝特定義為用於編號抗體中之殘基之標準且典型地用以鑑別CDR區。參見例如Johnson及Wu, 2000, *Nucleic Acids Res.*, 28: 214-8。科西亞定義類似於卡貝特定義，但科西亞定義考量某些結構迴路區之位置。參見例如Chothia等人, 1986, *J. Mol. Biol.*, 196: 901-17；Chothia等人, 1989, *Nature*, 342: 877-83。AbM定義使用藉由Oxford Molecular Group所產生之模擬抗體結構之計算機程式的整合套件。參見例如Martin等人, 1989, *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 86:9268-9272；「AbM™, A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies,」Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd。AbM定義使用知識資料庫與全始算法之組合模擬來自一級序列之抗體的三級結構，該等方法諸如藉由以下所描述之彼等：Samudrala等人, 1999, 「Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach,」in *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198。接觸定義係基於可用複合晶體結構之分析。參見例如MacCallum等人, 1996, *J. Mol. Biol.*, 5:732-45。在另一方法(在本文中稱為CDR之「構形定義」)中，CDR之位置可鑑別為向抗原結合貢獻焓之殘基。參見例如Makabe等人, 2008,

Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166。雖然其他CDR邊界定義可不嚴格遵循以上方法中之一者，但仍然將與卡貝特CDR之至少一部分重疊，但其可根據以下預測或實驗發現而縮短或延長：具體殘基或殘基組並不顯著影響抗原結合。如本文所使用，CDR可指由此項技術中已知之任何途徑，包括途徑之組合所定義之CDR。本文所使用之方法可利用根據此等途徑中任一者所定義之CDR。對於任何含有超過一個CDR的給定實施例，CDR可根據卡貝特、科西亞、伸展、AbM、接觸及/或構形定義中任一者定義。

**【0049】** 如此項技術中已知，抗體之「恆定區」係指單獨或呈組合形式之抗體輕鏈之恆定區或抗體重鏈之恆定區。

**【0050】** 如本文所使用，「單株抗體」係指自實質上同種之抗體群體獲得之抗體，亦即，除可以少量形式存在之有可能天然產生之突變外，構成此群體之個別抗體為相同的。單株抗體針對單一抗原位點具高度特異性。此外，與典型地包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相反，各單株抗體針對抗原上之單個決定子。修飾語「單株」指示抗體之特徵為自實質上均質之抗體群體獲得，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明所使用之單株抗體可藉由首先由Kohler及Milstein, 1975, Nature 256:495所描述之融合瘤方法製造，或可藉由諸如美國專利第4,816,567號中所描述之重組DNA方法製造。舉例而言，單株抗體亦可自使用McCafferty等人，1990, Nature 348:552-554中所描述之技術生成的噬菌體庫中分離。如本文所使用，「人類化」抗體係指以下非人類(例如鼠類)抗體形式：含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(諸如Fv、

Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>或抗體之其他抗原結合子序列)。較佳地，人類化抗體為具有所需特異性、親和力及能力之人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受體之CDR的殘基經來自諸如小鼠、大鼠或家兔之非人類物種(供體抗體)之CDR的殘基置換。人類化抗體可包含以下殘基：既不存在於受體抗體中亦不存在於所導入之CDR或構架序列中，但包括該等殘基以進一步改進且優化抗體效能。

**【0051】** 「人類抗體」為擁以下胺基酸序列者：對應於由人類所產生及/或已使用如本文所揭示之任一製造人類抗體之技術所製造的抗體胺基酸序列。人類抗體之此定義具體排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

**【0052】** 術語「嵌合抗體」意指可變區序列來源於一個物種且恆定區序列來源於另一物種之抗體，諸如可變區序列來源於小鼠抗體且恆定區序列來源於人類抗體之抗體。

**【0053】** 如此項技術中已知，如在本文中可互換使用之「聚核苷酸」或「核酸」係指任何長度之核苷酸鏈，且包括DNA及RNA。核苷酸可為去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修飾核苷酸或鹼及/或其類似物或任何可藉由DNA或RNA聚合酶併入鏈中之受質。聚核苷酸可包含經修飾之核苷酸，諸如甲基化核苷酸及其類似物。若存在，可在鏈組合之前或之後賦予對核苷酸結構之修飾。核苷酸之序列可間雜有非核苷酸組分。聚核苷酸可進一步在聚合之後諸如藉由與標記組分結合而修飾。其他類型之修飾包括例如「帽」；天然存在之核苷酸中之一或多者經類似物取代；核苷酸間修飾，諸如不帶電荷的鍵聯(例如磷酸甲酯、磷酸三酯、胺基磷酸酯、胺基甲酸酯等)及帶電荷之鍵聯(例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)之修

飾、含有側接部分(諸如蛋白質(例如核酸酶、毒素、抗體、信號肽、聚-L-離胺酸等))之修飾、具有嵌入劑(例如吡啶、補骨脂素等)之修飾、含有螯合劑(例如金屬、放射性金屬、硼、氧化金屬等)之修飾、含有烷基化劑之修飾、具有經修飾之鍵聯(例如 $\alpha$ 變旋異構核酸等)之修飾，以及聚核苷酸之未修飾形式。另外，一般存在於糖中之任何羥基可例如藉由磷酸酯基、磷酸酯基置換，藉由標準保護基保護，或經活化以製備與額外核苷酸之額外鍵聯，或可結合至固體支撐物。5'及3'末端OH可經磷酸化或經1至20個碳原子之胺或有機封端基團取代。其他羥基亦可衍生成標準保護基。聚核苷酸亦可含有此項技術中一般已知之類似形式之核糖或去氧核糖，包括例如2'-O-甲基-、2'-O-烯丙基、2'-氟-或2'-疊氮基-核糖、碳環糖類似物、 $\alpha$ -或 $\beta$ -變旋異構糖、差向異構糖(諸如阿拉伯糖、木糖或來蘇糖)；嘧啶糖、呋喃糖、景天庚酮糖、非環類似物及無鹼基核苷類似物(諸如甲基核糖苷)。一或多個磷酸二酯鍵可藉由替代性鍵聯基團置換。此等替代鍵聯基團包括(但不限於)以下實施例，其中磷酸酯經P(O)S(「硫代酸酯」)、P(S)S(「二硫代酸酯」)、(O)NR<sub>2</sub>(「醯胺化物」)、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH<sub>2</sub>(「甲縮醛」)置換，其中各R或R'獨立地為H或經取代或未經取代之烷基(1-20個C)，其視情況含有醚(-O-)鍵、芳基、烯基、環烷基、環烯基或芳醛基。聚核苷酸中之所有鍵不需要一致。前述描述適用於本文所提及之所有聚核苷酸，包括RNA及DNA。

**【0054】** 「優先結合」或「特異性結合」(在本文中可互換使用)至抗原決定基之抗體為此項技術中已清楚理解之術語，且用以測定此類特異性或優先結合之方法亦為此項技術中所熟知。若分子與特定細胞或物質之反應或締合比其與替代性細胞或物質更頻繁、更快速，持續時間更長及/

或親和力更大，則稱其呈現「特異性結合」或「較佳結合」。若抗體與標靶結合比其與其他物質結合親和力/結合力更大、更容易及/或持續時間更久，則該抗體「特異性結合」或「優先結合」至標靶。舉例而言，特異性或優先結合至標靶(例如PD-1)抗原決定基之抗體為：結合此抗原決定基比其結合至其他標靶抗原決定基或非標靶抗原決定基具有更大親和力、親合力、更容易及/或持續時間更長的抗體。藉由閱讀此定義亦應理解，例如特異性或優先結合至第一標靶之抗體(或部分或抗原決定基)可能或可能不特異性或優先結合至第二標靶。因而，「特異性結合」或「優先結合」不一定要(儘管其可包括)排他式結合。一般而言，但不一定，提及結合意謂優先結合。

**【0055】** 如本文所使用，「基本上純」係指物質至少50%純(亦即，無污染物)、更佳至少90%純、更佳至少95%純、又更佳至少98%純、且最佳至少99%純。

**【0056】** 「宿主細胞」包括可為或已成為用於併入聚核苷酸插入物之載體之受體的個別細胞或細胞培養物。宿主細胞包括單個宿主細胞之後代，且後代可能歸因於自然、偶然或故意突變而不一定與原始母細胞完全一致(在形態或基因組DNA補體方面)。宿主細胞包括活體內經本發明之聚核苷酸轉染之細胞。

**【0057】** 如此項技術中已知，術語「Fc區」用於定義免疫球蛋白重鏈之C端區。「Fc區」可為天然序列Fc區或變異Fc區。雖然免疫球蛋白重鏈之Fc區邊界可變化，但人類IgG重鏈Fc區通常定義為自處於位置Cys226之胺基酸殘基或自Pro230至其羧基端伸展。Fc區中之殘基編號為如在Kabat中EU指數之編號。Kabat等人，Sequences of Proteins of

Immunological Interest,第5版. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991。免疫球蛋白之Fc區一般包含兩個恆定域：CH<sub>2</sub>及CH<sub>3</sub>。如此項技術中已知，Fc區可以二聚體或單體形式存在。

【0058】如此項技術中所用之「Fc受體」及「FcR」描述結合至抗體之Fc區的受體。較佳FcR為天然序列人類FcR。另外，較佳FcR為結合IgG抗體( $\gamma$ 受體)且包括Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RII及Fc $\gamma$ RIII子類之受體(包括此等受體之對偶基因變體及交替剪接形式)的FcR。Fc $\gamma$ RII受體包括Fc $\gamma$ RIIA(「活化受體」)及Fc $\gamma$ RIIB(「抑制受體」)，兩者具有主要在其細胞質結構域方面不同的類似胺基酸序列。FcR綜述於Ravetch及Kinet, 1991, *Ann. Rev. Immunol.*, 9:457-92；Capel等人, 1994, *Immunomethods*, 4:25-34；及de Haas等人, 1995, *J. Lab. Clin. Med.*, 126:330-41中。「FcR」亦包括新生兒受體FcRn，其負責輸送母體IgG至胎兒(Guyer等人, 1976, *J. Immunol.*, 117:587；及Kim等人, 1994, *J. Immunol.*, 24:249)。

【0059】如本文所使用之術語「競爭」關於抗體意謂以充分類似於第二抗體或其抗原結合部分之結合方式結合至抗原決定基之第一抗體或其抗原結合部分，使得第一抗體與其同源抗原決定基之結合的結果在第二抗體存在下相比於在第二抗體不存在下之第一抗體結合可偵測地減少。替代方案可能但無需如此：在第一抗體存在下第二抗體與其抗原決定基之結合率亦可偵測地降低。亦即，第一抗體可抑制第二抗體與其抗原決定基之結合，而第二抗體並不抑制第一抗體與其各別抗原決定基之結合。然而，在各抗體可偵測地抑制另一抗體與其同源抗原決定基或配位體結合的情況下，無論程度相同、更大或更小，稱該等抗體彼此「交叉競爭」結合其各

別抗原決定基。本發明涵蓋競爭及交叉競爭抗體兩者。無論該競爭或交叉競爭發生之機制(例如位阻、構形變化或結合至共同抗原決定基或其部分)如何，熟習此項技術者基於本文所提供之教示內容將瞭解，該等競爭及/或交叉競爭抗體涵蓋於且可適用於本文所揭示之方法中。

**【0060】** 「功能性Fc區」擁有至少一種天然序列Fc區之效應功能。例示性「效應功能」包括C1q結合；補體依賴性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導的細胞毒性；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)的下調等。此類效應功能一般需要Fc區與結合域(例如抗體可變域)組合且可使用此項技術中已知之各種分析評定以便評估此類抗體效應功能。

**【0061】** 「天然序列Fc區」包含與自然界中所發現之Fc區之胺基酸序列一致的胺基酸序列。「變異Fc區」包含藉助於至少一個胺基酸修飾而與天然序列Fc區之胺基酸序列不同但又保留天然序列Fc區之至少一種效應功能的胺基酸序列。較佳地，相比於天然序列Fc區或親本多肽之Fc區，變異Fc區在天然序列Fc區中或在親本多肽之Fc區中具有至少一個胺基酸取代，例如約一個至約十個胺基酸取代，且更佳約一個至約五個胺基酸取代。在本文中，變異Fc區與天然序列Fc區及/或親本多肽之Fc區較佳具有至少約80%序列一致性，且與其最佳具有至少約90%序列一致性、更佳至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%序列一致性。

**【0062】** 如本文所使用，「治療」為用於獲得有益或所需臨床結果之途徑。出於本發明之目的，有益或所需臨床結果包括(但不限於)以下中之一或多者：減少贅生性或癌細胞之增殖(或破壞)；抑制贅生性細胞之癌轉移；使腫瘤之尺寸縮小或降低；癌症緩解；減少癌症產生的症狀；提高

罹患癌症之彼等者之生活品質；減少治療癌症所需之其他藥物之劑量；延遲癌症進展；治癒癌症；及/或延長患有癌症之患者之存活期。

**【0063】** 「改善」意謂相比於未投與如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白，使一或多個症狀減輕或改善。「改善」亦包括縮短或降低症狀之持續時間。

**【0064】** 如本文所使用，藥物、化合物或醫藥組合物之「有效劑量」或「有效量」為足以影響任何一或多種有益或所需結果之量。在更具體態樣中，有效量預防、緩解或改善疾病之症狀及/或延長經治療之個體的存活期。對於預防用途，有益或所需結果包括消除或降低疾病之風險、減輕疾病之嚴重程度或延緩疾病發生，其中疾病包括疾病、其併發症及在疾病發展期間所呈現之中間病理性表型之生物化學、組織及/或行為症狀。對於治療用途，有益或所需結果包括臨床結果，諸如減少疾病之一或多個症狀，該疾病諸如固體癌症及液體癌症，包括例如(但不限於)胃癌、小腸癌、肉瘤、頭頸癌、胸腺癌、上皮癌、唾液腺癌、肝癌、膽癌、神經內分泌腫瘤、胃癌、甲狀腺癌、肺癌、間皮瘤、卵巢癌、乳癌、前列腺癌、食道癌、胰臟癌、神經膠瘤、腎癌(例如腎細胞癌)、膀胱癌、子宮頸癌、子宮癌、外陰癌、陰莖癌、睪丸癌、肛門癌、絨膜癌、結腸直腸癌、口腔癌、皮膚癌、梅克爾細胞癌(Merkel cell carcinoma)、神經膠母細胞瘤、腦瘤、骨癌、眼癌及黑色素瘤、多發性骨髓瘤、惡性漿細胞贅瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、結節性淋巴球為主型之霍奇金氏淋巴瘤、卡勒氏病(Kahler's disease)及骨髓性白血病、漿細胞白血病、漿細胞瘤、B細胞前淋巴球性白血病、毛細胞白血病、B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、急性骨髓白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、急性淋

巴球性白血病(ALL)、慢性骨髓性白血病(CML)、濾泡性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞淋巴瘤、骨髓白血病、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、黏膜相關淋巴組織淋巴瘤、小細胞淋巴球性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、原發性縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、淋巴漿細胞淋巴瘤、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia)、結邊緣區B細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、淋巴瘤樣肉芽腫、富T細胞/組織細胞大B細胞淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、原發性皮膚瀰漫性大B細胞淋巴瘤(腿型)、老年人之EBV陽性瀰漫性大B細胞淋巴瘤、與炎症相關之瀰漫性大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、ALK陽性大B細胞淋巴瘤、漿母細胞淋巴瘤、在HHV8相關之多中心卡斯特爾曼病(Castleman disease)中出現之大B細胞淋巴瘤、未用瀰漫性大B細胞淋巴瘤與伯基特淋巴瘤之間的特徵中間物分類之B細胞淋巴瘤、未用瀰漫性大B細胞淋巴瘤與典型霍奇金淋巴瘤之間的特徵中間物分類之B細胞淋巴瘤及其他造血細胞相關之癌症；降低治療疾病所需之其他藥物之劑量；增強另一藥物治療之作用；及/或延遲患者之癌症之進展。有效劑量可以一或多種投與形式投與。出於本發明之目的，藥物、化合物或醫藥組合物之有效劑量為足以直接或間接實現防治性或治療性治療之量。如在臨床情形下所理解，藥物、化合物或醫藥組合物之有效劑量可或不可連同另一藥物、化合物或醫藥組合物一起達成。因此，「有效劑量」可視為在投與一或多種治療劑之情形下，且若連同一或多種其他藥劑，可達成或已達成所需結

果，則單個藥劑可視為以有效量給出。

【0065】 「個體(individual)」或「個體(subject)」為哺乳動物，更佳為人類。哺乳動物亦包括(但不限於)農畜(例如母牛、豬、馬、雞等)、運動型動物、寵物、靈長類動物、馬、狗、貓、小鼠及大鼠。

【0066】 如本文所使用，「載體」意謂構築體，其能夠在宿主細胞中遞送，且較佳表現一或多個相關基因或序列。載體之實例包括(但不限於)病毒載體、裸DNA或RNA表現載體、質體、黏質體或噬菌體載體、與陽離子縮合劑結合之DNA或RNA表現載體、囊封於脂質體中之DNA或RNA表現載體，及某些真核細胞，諸如生產細胞。

【0067】 如本文所使用，「表現控制序列」意謂導引核酸轉錄之核酸序列。表現控制序列可為啟動子，諸如組成性或誘導性啟動子；或強化子。表現控制序列可操作地連接於待轉錄之核酸序列。

【0068】 如本文所使用，「醫藥學上可接受之載劑」或「醫藥可接受之賦形劑」包括在與活性成分組合時允許成分保留生物活性且不與個體之免疫系統反應的任何材料。實例包括(但不限於)標準醫藥載劑中任一者，諸如磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、乳液(諸如油/水乳液)及各種類型之濕潤劑。對於霧劑或非經腸投與之較佳稀釋劑為磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)或生理鹽水(0.9%)。包含此類載劑之組合物藉由熟知之習知方法調配(參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，A. Gennaro，編，Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990；及Remington, The Science and Practice of Pharmacy第20版，Mack Publishing, 2000)。

【0069】 術語「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區之生物活性。抗體效應功能之實例包括(但不限於)抗體依賴性細胞介導之細胞毒性

(ADCC)、Fc受體結合、補體依賴性細胞毒性(CDC)、吞噬作用、C1q結合及細胞表面受體(例如B細胞受體；BCR)之下調。參見例如美國專利第6,737,056號。此類效應功能一般需要Fc區與結合域(例如抗體可變域)組合且可使用此項技術中已知之各種分析評定以便評估此類抗體效應功能。效應功能之一種例示性量測係經由Fc $\gamma$ 3及/或C1q結合。

【0070】如本文所使用，「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指細胞介導之反應，其中表現Fc受體(FcRs)之非特異性細胞毒性細胞(例如自然殺手(NK)細胞、嗜中性白血球及巨噬細胞)識別靶細胞上之經結合抗體且隨後導致靶細胞溶解。相關分子的ADCC活性可使用活體外ADCC分析加以評估，諸如美國專利第5,500,362號或第5,821,337號中所描述之分析。此類分析中適用的效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及NK細胞。或者或另外，相關分子的ADCC活性可在活體內，例如在動物模型中評估，諸如Clynes等人, 1998, PNAS (USA), 95:652-656中所揭示之動物模型。

【0071】「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指標靶在補體存在下溶解。補體活化路徑起始於補體系統之第一組分(C1q)結合至與同源抗原複合的分子(例如抗體)。為了評估補體活化，可進行CDC分析，例如如Gazzano-Santoro等人, J. Immunol. Methods, 202:163 (1996)中所描述。

【0072】如本文所使用，術語「 $k_{\text{合}}$ 」或「 $k_{\text{a}}$ 」係指抗體與抗原締合的速率常數。具體言之，使用完全抗體(亦即，二價)及單體蛋白質來量測速率常數( $k_{\text{合}}$ 或 $k_{\text{a}}$ 及 $k_{\text{離}}$ 或 $k_{\text{d}}$ )及平衡解離常數。

【0073】如本文所使用，術語「 $k_{\text{離}}$ 」或「 $k_{\text{d}}$ 」係指抗體自抗體/抗原複合物中解離之速率常數。

【0074】如本文所使用，術語「 $K_D$ 」係指抗體-抗原相互作用之平衡解離常數。

【0075】本文中，對「約」一個值或參數之提及包括(及描述)針對該值或參數本身之實施例。舉例而言，提及「約X」之描述包括「X」之描述。數值範圍包括界定該範圍之數字。一般而言，術語「約」係指變量之指定值及在指定值之實驗誤差內變量之所有值(例如在平均值之95%置信區間內)或在指定值之10百分比內，無論哪個更大。在時間段(年、月、週、天等)之情境內使用術語「約」的情況下，術語「約」意謂時間段加或減下一從屬時間段的一個量(例如約1年意謂11-13個月；約6個月意謂6個月加或減1週；約1週意謂6-8天等)或在指定值之10百分比內，無論哪個更大。

【0076】術語「免疫效應細胞強化子」或「IEC強化子」係指能夠提高或增強哺乳動物之一或多種類型之免疫效應細胞之數目、品質或功能的物質。免疫效應細胞之實例包括細胞溶解CD8 T細胞、CD4 T細胞、NK細胞及B細胞。

【0077】術語「免疫調節劑」係指能夠改變(例如抑制、降低、提高、增強或刺激)免疫反應(如本文所定義)或加工宿主哺乳動物之先天性、體液或細胞免疫系統之任何組分的物質。因此，術語「免疫調節劑」涵蓋如本文所定義之「免疫效應細胞強化子」及如本文所定義之「免疫抑制細胞抑制劑」以及影響哺乳動物之免疫系統之其他組分的物質。

【0078】術語「免疫反應」係指藉由宿主哺乳動物之免疫系統對特定物質(諸如抗原或免疫原)之任何可偵測的響應，諸如先天性免疫反應(例如鐸受體信號級聯之活化)、細胞介導之免疫反應(例如藉由T細胞，諸

如抗原特異性T細胞及免疫系統之非特異性細胞介導之反應)及體液免疫反應(例如藉由B細胞介導之反應，諸如產生及分泌抗體至血漿、淋巴液及/或組織液中)。

【0079】術語「免疫原性」係指物質針對特定抗原造成、誘發、刺激或誘發免疫反應或改良、增強、提高或延長預先存在之免疫反應的能力，無論單獨或當連接至載劑時，在佐劑存在或不存在下。

【0080】術語「免疫抑制細胞抑制劑」或「ISC抑制劑」係指能夠降低或抑制哺乳動物之免疫抑制細胞之數目或功能的物質。免疫抑制細胞之實例包括調節T細胞(「Treg」)、骨髓衍生之抑制細胞及腫瘤相關巨噬細胞。

【0081】在向包括人類之哺乳動物投與物質之上下文中，術語「皮內投與」或「以皮內方式投與」係指將物質遞送至哺乳動物之皮膚之真皮層中。哺乳動物皮膚由表皮層、真皮層及皮下層構成。表皮層為皮膚之外層。真皮(其為皮膚之中間層)含有神經末梢、汗腺及油(皮脂)腺、毛囊及血管。皮下層由脂肪及容納較大血管及神經之結締組織構成。與皮內投與相反，「皮下投與」係指將物質投與至皮下層中且「局部投與」係指將物質投與至皮膚表面上。

【0082】術語「贅生性病症」係指細胞以異常高且不受控制的速率增殖之病況，該速率超過周圍正常組織之速率且與其不協調。其通常產生已知為「腫瘤」之固體病變或團塊。此術語涵蓋良性及惡性贅生性病症。可與本發明中的術語「癌症」互換使用之術語「惡性贅生性病症」係指特徵在於腫瘤細胞擴散至體內其他位置之能力(已知為「癌轉移」)的贅生性病症。術語「良性贅生性病症」係指腫瘤細胞缺乏轉移能力之贅生性病

症。

【0083】術語「預防(preventing)」或「預防(prevent)」係指(a)預防病症出現或(b)延遲病症發作或病症症狀發作。

【0084】術語「腫瘤相關抗原」或「TAA」係指由腫瘤細胞特異性表現或與相同組織類型之非腫瘤細胞相比由腫瘤細胞以更高頻率或密度表現的抗原。腫瘤相關抗原可為通常不由宿主表現之抗原；其可為通常由宿主表現之分子之突變、截短、錯誤摺疊或其他異常表現；其可與通常經表現但以異常高水準表現之分子一致；或其可在異常情境或環境下表現。腫瘤相關抗原可為例如蛋白質或蛋白質片段、複合碳水化合物、神經節苷脂、半抗原、核酸或此等或其他生物分子之任何組合。

【0085】術語「疫苗」係指用於向哺乳動物投與以便誘發針對哺乳動物中之特定抗原之免疫反應的免疫原性組合物。疫苗典型地含有類似於或來源於免疫反應標靶，諸如致病微生物體或腫瘤細胞之藥劑(已知為「抗原」或「免疫原」)。意欲用於治療腫瘤，諸如癌症之疫苗典型地含有來源於標靶腫瘤上發現之TAA之抗原且能夠誘發針對標靶腫瘤上之TAA之免疫原性。

【0086】應理解，在本文中任何地方之實施例皆用語言「包含」描述，或亦提供用術語「由組成」及/或「基本上由組成」所描述之類似實施例。

【0087】當本發明之態樣或實施例根據馬庫西群組(Markush group)或其他替代群組進行描述時，本發明不僅涵蓋整體列出之全部群組，而且涵蓋獨立群組之各成員及主群組之所有可能子組，且亦涵蓋缺乏一或多個群組成員之主群組。本發明亦設想明確排除所主張之發明中之任何群組成

員中之一或多者。

【0088】 除非另外定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域之一般技術者通常所理解相同之含義。在有衝突之情況下，將以本說明書(包括定義)為準。在整個本說明書及申請專利範圍中，措詞「包含(comprise)」或諸如「包含(comprises)」或「包含(comprising)」之變體應理解為意謂著包括所述整數或整數群但不排除任何其他整數或整數群。除非上下文另外需要，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。在術語「例如(e.g.)」或「例如(for example)」之後的任何實例並不意謂窮盡性或限制性。

【0089】 本文描述例示性方法及物質，但類似或等效於本文所描述之方法及物質之方法及物質亦可用於實施或測試本發明。該等材料、方法及實例僅具說明性且不意欲具有限制性。

【0090】

### IL-15變體

本文提供相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，對IL-15受體 $\alpha$  (CD215)之結合性降低或沒有結合性及/或IL-15與其信號傳導受體(由IL-2受體 $\beta$  (CD122)及共同 $\gamma$ 鏈(CD132)構成)之間的相互作用降低的IL-15變體(例如人類IL-15變體)，如實例章節之下表1至2中所說明。

【0091】 在一個態樣中，本發明提供一種經分離之人類介白素15(IL-15)變體，其包含SEQ ID NO: 1之位置a) V49及I51或b) V49、I50及S51處的胺基酸取代，且進一步包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、

L69、E89、L91、M109及/或I111處的一或多個胺基酸取代，其中相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，IL-15變體對人類IL-15受體 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )及人類IL-2受體 $\beta/\gamma$  (IL-2R $\beta\gamma$ )之結合性降低或沒有結合性，且其中位置V49處之胺基酸取代經糖基化。

**【0092】** IL-15變體之糖基化典型地經N-連接或O-連接。N-連接係指碳水化合物部分與天冬醯胺殘基之側鏈附接。三肽序列天冬醯胺-X-絲胺酸、天冬醯胺-X-蘇胺酸及天冬醯胺-X-半胱胺酸(其中X為除了脯胺酸之外的任何胺基酸)為用於碳水化合物部分酶促附接至天冬醯胺側鏈之識別序列。因此，在多肽中此等三肽序列中之任一者的存在產生潛在糖基化位點。O-連接之糖基化係指糖N-乙醯基半乳胺糖、半乳糖或木糖中之一者附接至羥胺基酸，最常見為絲胺酸或蘇胺酸，儘管亦可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸。

**【0093】** 因此，在一些實施例中，IL-15變體包含V49N處之胺基酸取代，其中V49N經糖基化。在一些實施例中，SEQ ID NO: 1之E53及/或E89處的胺基酸取代亦經糖基化。

**【0094】** 在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之SEQ ID NO: 1之胺基酸取代：a) V49、I50、S51、N4、D30及E64；b) V49、I50、S51、N4、D30、E64及I68；c) V49、I50、S51、N4、D30、E64、M109；d) V49、I50、S51、N4、D30、E64、I68及M109；e) V49、I50、S51、D30、E64及I68；f) V49、I50、S51、D30、E64、M109；g) V49、I50、S51、D30、E64、I68及M109；h) N1、V49、I50及S51；i) N4、V49、I50及S51；j) S7、V49、I50及S51；k) K10、V49、I50及S51；l) K11、V49、I50及S51；m) S29、

V49、I50及S51；n) V31、V49、I50及S51；o) H32、V49、I50及S51；p) V49、I50、S51及E64；q) V49、I50、S51及I68；r) V49、I50、S51及L69；s) V49、I50、S51及I111；t) N4、V49、I50、S51及E64；u) N1、D30、V49、I50及S51；v) N4、D30、V49、I50及S51；w) S7D30、V49、I50及S51；x) K10、D30、V49、I50及S51；y) K11、D30、V49、I50及S51；z) S29、D30、V49、I50及S51；aa) D30、V49、I50、S51及E64；bb) D30、V49、I50、S51及I68；cc) D30、V49、I50、S51及L69；及dd) D30、V49、I50、S51及I111。

**【0095】** 在一些實施例中，IL-15變體包含胺基酸取代，該等胺基酸取代包含以下位置處之一或多個特異性取代：a) V49N、V49K、V49E、V49H、V49Q或V49R；b) I50A或I50G；c) S51T；d) N1K、N1G、N1Q、N1R、N1E、N1A或N1D；e) N4K、N4G、N4A、N4S、N4D、N4E、N4I、N4L、N4R、N4T、N4W或N4Q；f) S7E、S7G、S7D、S7K、S7N、S7R、S7H或S7T；g) K10A、K10S、K10E、K10L、K10M、K10D或K10G；h) K11D、K11S或K11W；i) D30N；j) E64Q、E64K、E64A、E64S、E64N、E64H、E64T或E64R；k) E53N；l) G55S或G55T；m) E89N；n) L91S或L91T；o) Y26K、Y26R或Y26H；p) S29N；q) V31S、V31D或V31K；r) H32G；s) I68S、I68A、I68R、I68T、I68K、I68N、I68M、I68F、I68Y、I68E或I68H；t) L69A、L69S、L69D、L69T、L69M、L69G、L69Q、L69I、L69E或L69V；u) M109A、M109S、M109D或M109K；及/或v) I111A、I111K、I111S或I111D。在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之胺基酸取代：a) N4K、D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；b) N4Q、

D30N、V49N、I50A及S51T；c) D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；  
d) N4Q、D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；e) N4Q、V49N、I50A  
及S51T；f) V49N、I50A、S51T及E64Q；及g) N4Q、V49N、I50A、  
S51T及E64Q。

**【0096】** 在另一態樣中，提供一種經分離之人類介白素15 (IL-15) 變體，其包含SEQ ID NO: 1之位置E46及V49處的胺基酸取代及SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處的至少一或多個胺基酸取代，其中相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，IL-15變體對人類IL-15受體 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )沒有結合性且對人類IL-2受體 $\beta/\gamma$  (IL-2R $\beta\gamma$ )之結合性降低。

**【0097】** 在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之SEQ ID NO: 1中之胺基酸取代：a) N1、E46及V49；b) N4、E46及V49；c) S7、E46及V49；d) K10、E46及V49；e) K11、E46及V49；f) S29、E46及V49；g) V31、E46及V49；h) H32、E46及V49；i) E46、V49及E64；j) E46、V49及I68；k) E46、V49及L69；l) E46、V49及I111；m) N4、E46、V49及E64；n) E46、V49、N4、D30及E64；o) E46、V49、N4、D30、E64及I68；p) E46、V49、N4、D30、E64及M109；q) E46、V49、N4、D30、E64、I68及M109；r) N1、D30、E46及V49；s) N4、D30、E46及V49；t) S7、D30、E46及V49；u) K10、D30、E46及V49；v) K11、D30、E46及V49；w) S29、D30、E46及V49；x) D30、E46、V49及E64；y) D30、E46、V49R及I68；z) D30、E46、V49R及L69；aa) D30、E46、V49R及I111；bb) N1、D30、E46、

V49及M109；cc) N4、D30、E46、V49及M109；dd) S7、D30、E46、V49及M109；ee) K10、D30、E46、V49及M109；ff) K11、D30、E46、V49及M109；gg) D30、E46、V49、E64及M109；hh) D30、E46、V49、I68及M109；ii) D30、E46、V49、L69及M109；jj) D30、E46、V49、M109及I111；kk) D30、E46、V49、E64、I68及M109；ll) E46、V49、D30、E64及I68；mm) E46、V49、E64及M109；nn) E46、V49、D30、E64、I68及M109；oo) D22、Y26、V49、E46、E53、E89及E93；及pp) N1、D30、E46、V49及E64。

**【0098】** 在一些實施例中，IL-15變體包含胺基酸取代，該等胺基酸取代包含以下位置處之一或多個特異性取代：a) N1Q、N1K、N1R、N1E、N1A、N1D或N1G；b) N4K、N4G、N4A、N4S、N4D、N4E、N4R、N4T、N4I、N4L、N4W或N4Q；c) S7E、S7G、S7D、S7K、S7N、S7R、S7H或S7T；d) K10D、K10A、K10S、K10E、K10L、K10M、K10D或K10G；e) K11D、K11S或K11W；f) D22N；g) Y26K、Y26R或Y26H；h) S29N；i) D30N；j) V31S、V31D或V31K；k) H32G；l) E46G或E46Q；m) V49N、V49K或V49R V49E、V49H或V49Q；n) E53Q；o) G55S或G55T；p) E64Q、E64K、E64A、E64S、E64N、E64H、E64T或E64R；q) I68S、I68A、I68R、I68T、I68K、I68N、I68M、I68F、I68Y、I68E或I68H；r) L69S、L69A、L69D、L69T、L69M、L69G、L69Q、L69I、L69E或L69V；s) E89Q；t) E93Q；u) M109A、M109S、M109S或M109K；及/或v) I111A、I111K、I111S或I111D。在一些實施例中，IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之胺基酸取代：a) N1K、E46G及V49R；b) N4K、E46G

及V49R；c) N4Q、E46G及V49R；d) S7T、E46G及V49R；e) V31S、E46G及V49R；f) V31K、E46G及V49R；g) E46G、V49R及E64Q；h) E46G、V49R及E64K；i) N4Q、E46G、V49R及E64Q；j) N1G、D30N、E46G及V49R；k) N1K、D30N、E46G及V49R；l) N1Q、D30N、E46G及V49R；m) N4G、D30N、E46G及V49R；n) N4K、D30N、E46G及V49R；o) N4Q、D30N、E46G及V49R；p) S7E、D30N、E46G及V49R；q) S7G、D30N、E46G及V49R；r) S7T、D30N、E46G及V49R；s) K10D、D30N、E46G及V49R；t) D30N、E46G、V49R及E64A；u) D30N、E46G、V49R及E64Q；v) D30N、E46G、V49R及E64K；w) D30N、E46G、V49R及I68S；x) D30N、E46G、V49R及I68K；y) N4K、D30N、E46G、V49R及E64K；z) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64K；aa) N4K、D30N、E46G、V49R及E64Q；bb) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64Q；cc) N4K、D30N、E46G、V49R及I68S；dd) D30N、E46G、V49R、E64Q及I68S；ee) N1A、D30N、E46G及V49R；及ff) N1G、D30N、E46G、V49R及E64Q。

**【0099】** 在一些實施例中，IL-15變體包含SEQ ID NO:84或85之胺基酸序列。

**【0100】** 在另一態樣中，提供一種經分離之人類IL-15變體，其包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E46、E53、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處的一或多個胺基酸取代，其中相比於野生型人類IL-15多肽或野生型IL-15受體 $\alpha$ -IL-15融合多肽，IL-15變體對人類IL-15受體 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )及

/或人類IL-2受體 $\beta$  (IL-2R $\beta$ )及/或IL-2受體 $\gamma$  (IL-2R $\gamma$ )之結合性降低或沒有結合性。舉例而言，特異性取代可包括(但不限於)N1K、N4K、N4Q、S7T、K10S、K11S、D22N、Y26F、D30N、V31S、H32G、M109A及/或I111A。

**【0101】** 在一些實施例中，經分離之人類IL-15變體包含位置D22N、Y26F、E46Q、E53Q、E89Q及E93Q (例如參見SEQ ID NO:76)處之胺基酸取代，其中相比於野生型人類IL-15多肽，IL-15變體對人類IL-15受體 $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )及/或人類IL-2受體 $\beta$  (IL-2R $\beta$ )及/或IL-2受體 $\gamma$  (IL-2R $\gamma$ )之結合性降低或沒有結合性。

**【0102】** 在另一態樣中，提供一種經分離之人類IL-15變體，其包含SEQ ID NO:93中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，IL-15變體進一步包含跨膜域。

### **【0103】**

#### **IL-15融合蛋白**

本文提供對IL-15受體 $\alpha$  (CD215)之結合性降低或沒有結合性及/或IL-15與其信號傳導受體(由IL-2受體 $\beta$  (CD122)及共同 $\gamma$ 鏈(CD132)構成)之間的相互作用降低的IL-15融合蛋白(例如抗體-IL-15融合蛋白)。此類IL-15融合蛋白可將細胞介素遞送至所需細胞類型，同時使外周曝露(例如為主要作用位點之NK細胞)及因此毒性最小化。另外，本發明之IL-15融合蛋白優先活化人類外周CD8 T細胞而非自然殺手(NK)細胞中之下游生物標記物pSTAT5，且具有有效及優先的人類CD8腫瘤浸潤性T淋巴細胞(TIL)活化。因此，在一些實施例中，IL-15變體可與PD-1抗體偶合，該抗體充當抗原特異性腫瘤駐留CD8+細胞之標記物，由此使抗腫瘤功效最大化且使

曝露於外周免疫細胞亞群最小化。

**【0104】** 在一個態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1) 包含Fc域之抗體；及b)如本文所描述之IL-15變體中之任一者，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域。

**【0105】** 在一些實施例中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1)包含Fc域之抗體；及b)包含SEQ ID NO: 1之位置a) V49及I51或b) V49、I50及S51處之胺基酸取代的人類介白素15 (IL-15)變體，其中SEQ ID NO: 1之位置V49處之胺基酸取代經糖基化，且進一步包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、L91、M109及/或I111處的一或多個胺基酸取代，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域，且其中相比於野生型Fc，Fc域之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性降低或沒有活性。在一些實施例中，IL-15變體包含V49N處之胺基酸取代，其中V49N經糖基化。在一些實施例中，SEQ ID NO: 1之E53及/或E89處的胺基酸取代亦經糖基化。

**【0106】** 在一些實施例中，IL-15融合蛋白包含：包含Fc域之抗體；及包含選自由以下組成之群的位置處之SEQ ID NO: 1之胺基酸取代的IL-15變體：a) V49、I50、S51、N4、D30及E64；b) V49、I50、S51、N4、D30、E64及I68；c) V49、I50、S51、N4、D30、E64、M109；d) V49、I50、S51、N4、D30、E64、I68及M109；e) V49、I50、S51、D30、E64及I68；f) V49、I50、S51、D30、E64、M109；g) V49、I50、S51、D30、E64、I68及M109；h) N1、V49、I50及S51；i) N4、V49、I50及S51；j) S7、V49、I50及S51；k) K10、V49、I50及

S51 ; l) K11 、 V49 、 I50 及 S51 ; m) S29 、 V49 、 I50 及 S51 ; n) V31 、 V49 、 I50 及 S51 ; o) H32 、 V49 、 I50 及 S51 ; p) V49 、 I50 、 S51 及 E64 ; q) V49 、 I50 、 S51 及 I68 ; r) V49 、 I50 、 S51 及 L69 ; s) V49 、 I50 、 S51 及 I111 ; t) N4 、 V49 、 I50 、 S51 及 E64 ; u) N1 、 D30 、 V49 、 I50 及 S51 ; v) N4 、 D30 、 V49 、 I50 及 S51 ; w) S7 D30 、 V49 、 I50 及 S51 ; x) K10 、 D30 、 V49 、 I50 及 S51 ; y) K11 、 D30 、 V49 、 I50 及 S51 ; z) S29 、 D30 、 V49 、 I50 及 S51 ; aa) D30 、 V49 、 I50 、 S51 及 E64 ; bb) D30 、 V49 、 I50 、 S51 及 I68 ; cc) D30 、 V49 、 I50 、 S51 及 L69 ; 及 dd) D30 、 V49 、 I50 、 S51 及 I111 。 在一些實施例中， IL-15 變體包含胺基酸取代，該等胺基酸取代包含以下位置處之一或多個特異性取代： a) V49N 、 V49K 、 V49E 、 V49H 、 V49Q 或 V49R ; b) I50A 或 I50G ; c) S51T ; d) N1K 、 N1G 、 N1Q 、 N1R 、 N1E 、 N1A 或 N1D ; e) N4K 、 N4G 、 N4A 、 N4S 、 N4D 、 N4E 、 N4I 、 N4L 、 N4R 、 N4W 、 N4T 或 N4Q ; f) S7E 、 S7G 、 S7D 、 S7K 、 S7N 、 S7R 、 S7H 或 S7T ; g) K10A 、 K10S 、 K10E 、 K10L 、 K10M 、 K10D 或 K10G ; h) K11D 、 K11S 或 K11W ; i) D30N ; j) E64Q 、 E64K 、 E64A 、 E64S 、 E64N 、 E64H 、 E64T 或 E64R ; k) E53N ; l) G55S 或 G55T ; m) E89N ; n) L91S 或 L91T ; o) Y26K 、 Y26R 或 Y26H ; p) S29N ; q) V31S 、 V31D 或 V31K ; r) H32G ; s) I68S 、 I68A 、 I68R 、 I68T 、 I68K 、 I68N 、 I68M 、 I68F 、 I68Y 、 I68E 或 I68H ; t) L69A 、 L69S 、 L69D 、 L69T 、 L69M 、 L69G 、 L69Q 、 L69I 、 L69E 或 L69V ; u) M109A 、 M109S 、 M109D 或 M109K ; 及/或 v) I111A 、 I111K 、 I111S 或 I111D 。

**【0107】** 在一些實施例中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：

1)包含Fc域之抗體；及b)共價連接至抗體之Fc域之IL-15變體，其中IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之胺基酸取代：a) N4K、D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；b) N4Q、D30N、V49N、I50A及S51T；c) D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；d) N4Q、D30N、V49N、I50A、S51T及E64Q；e) N4Q、V49N、I50A及S51T；f) V49N、I50A、S51T及E64Q；及g) N4Q、V49N、I50A、S51T及E64Q。

**【0108】** 在另一態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1)包含Fc域之抗體；及b)包含SEQ ID NO: 1之位置E46及V49處的胺基酸取代及SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處之至少一或多個胺基酸取代的人類介白素15 (IL-15)變體，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域，且其中相比於野生型Fc，Fc域之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性降低或沒有活性。

**【0109】** 在一些實施例中，IL-15融合蛋白包含：包含Fc域之抗體；及包含選自由以下組成之群的位置處之SEQ ID NO: 1之胺基酸取代的IL-15變體：a) N1、E46及V49；b) N4、E46及V49；c) S7、E46及V49；d) K10、E46及V49；e) K11、E46及V49；f) S29、E46及V49；g) V31、E46及V49；h) H32、E46及V49；i) E46、V49及E64；j) E46、V49及I68；k) E46、V49及L69；l) E46、V49及I111；m) N4、E46、V49及E64；n) E46、V49、N4、D30及E64；o) E46、V49、N4、D30、E64及I68；p) E46、V49、N4、D30、E64及M109；q) E46、V49、N4、D30、E64、I68及M109；r) N1、D30、E46及V49；s) N4、D30、E46及V49；t) S7、D30、E46及V49；u) K10、D30、E46及V49；v)

K11、D30、E46及V49；w) S29、D30、E46及V49；x) D30、E46、V49及E64；y) D30、E46、V49R及I68；z) D30、E46、V49R及L69；aa) D30、E46、V49R及I111；bb) N1、D30、E46、V49及M109；cc) N4、D30、E46、V49及M109；dd) S7、D30、E46、V49及M109；ee) K10、D30、E46、V49及M109；ff) K11、D30、E46、V49及M109；gg) D30、E46、V49、E64及M109；hh) D30、E46、V49、I68及M109；ii) D30、E46、V49、L69及M109；jj) D30、E46、V49、M109及I111；kk) D30、E46、V49、E64、I68及M109；ll) E46、V49、D30、E64及I68；mm) E46、V49、E64及M109；nn) E46、V49、D30、E64、I68及M109；oo) D22、Y26、V49、E46、E53、E89及E93；及pp) N1、D30、E46、V49及E64。在一些實施例中，IL-15變體包含胺基酸取代，該等胺基酸取代包含以下位置處之一或多個特異性取代：a) N1Q、N1K、N1R、N1E、N1A、N1D或N1G；b) N4K、N4G、N4A、N4S、N4D、N4E、N4L、N4I、N4R、N4T、N4W或N4Q；c) S7E、S7G、S7D、S7K、S7N、S7R、S7H或S7T；d) K10D、K10A、K10S、K10E、K10L、K10M、K10D或K10G；e) K11D、K11S或K11W；f) D22N；g) Y26K、Y26R或Y26H；h) S29N；i) D30N；j) V31S、V31D或V31K；k) H32G；l) E46G或E46Q；m) V49N、V49K或V49R V49E、V49H或V49Q；n) E53Q；o) G55S或G55T；p) E64Q、E64K、E64A、E64S、E64N、E64H、E64T或E64R；q) I68S、I68A、I68R、I68T、I68K、I68N、I68M、I68F、I68Y、I68E或I68H；r) L69S、L69A、L69D、L69T、L69M、L69G、L69Q、L69I、L69E或L69V；s) E89Q；t) E93Q；u) M109A、M109S、M109D或M109K；及/或v) I111A、

I111K、I111S或I111D。

**【0110】** 在一些實施例中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：  
 1)包含Fc域之抗體；及b)共價連接至抗體之Fc域之IL-15變體，其中IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之胺基酸取代：a) N1K、E46G及V49R；b) N4K、E46G及V49R；c) N4Q、E46G及V49R；d) S7T、E46G及V49R；e) V31S、E46G及V49R；f) V31K、E46G及V49R；g) E46G、V49R及E64Q；h) E46G、V49R及E64K；i) N4Q、E46G、V49R及E64Q；j) N1G、D30N、E46G及V49R；k) N1K、D30N、E46G及V49R；l) N1Q、D30N、E46G及V49R；m) N4G、D30N、E46G及V49R；n) N4K、D30N、E46G及V49R；o) N4Q、D30N、E46G及V49R；p) S7E、D30N、E46G及V49R；q) S7G、D30N、E46G及V49R；r) S7T、D30N、E46G及V49R；s) K10D、D30N、E46G及V49R；t) D30N、E46G、V49R及E64A；u) D30N、E46G、V49R及E64Q；v) D30N、E46G、V49R及E64K；w) D30N、E46G、V49R及I68S；x) D30N、E46G、V49R及I68K；y) N4K、D30N、E46G、V49R及E64K；z) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64K；aa) N4K、D30N、E46G、V49R及E64Q；bb) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64Q；cc) N4K、D30N、E46G、V49R及I68S；dd) D30N、E46G、V49R、E64Q及I68S；ee) N1A、D30N、E46G及V49R；及ff) N1G、D30N、E46G、V49R及E64Q。

**【0111】** 在一些實施例中，經分離之融合蛋白包含SEQ ID NO:86、87、89或90之胺基酸序列。

**【0112】** 在另一態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1)

包含Fc域之抗體；及b)包含SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E46、E53、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處之一或多個胺基酸取代的人類IL-15變體，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域，且其中相比於野生型Fc，Fc域之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性降低或沒有活性。在一些實施例中，人類IL-15變體包含位置D22N、Y26F、E46Q、E53Q、E89Q及E93Q(例如參見SEQ ID NO:76)處之胺基酸取代，且抗體為抗PD-1抗體。

**【0113】** 在另一態樣中，提供一種經分離之融合蛋白，其包含：1) 包含Fc域之IL-15抗體；及b) SEQ ID NO: 1之人類介白素15(IL-15)蛋白質，其中IL-15共價連接至抗體之Fc域。

**【0114】** 在一些實施例中，一或多個多肽(例如異源或同源序列)可插入於如本文所描述之抗體與IL-15融合蛋白之IL-15變體之間。在一些實施例中，多肽可插入或共軛於胺基端、羧基端或抗體之胺基端及羧基端兩者處。在一些實施例中，多肽包含共軛抗體及IL-15變體之多肽連接子，如圖1A、1B、1C及1D中所描繪。舉例而言，多肽連接子為甘胺酸-絲胺酸(GS)-連接子，如SEQ ID NO: 6、23、24、25或77中所示。

**【0115】** 在一些實施例中，多肽包含一或多種連接子及標記物。多肽標記物之實例包括(但不限於)FLAG標記物、6His標記物(亦即，SEQ ID NO: 27)、8His標記物(亦即，SEQ ID NO: 26)或AVI標記物(例如SEQ ID NO: 7)。

**【0116】** 具有多肽連接子及多肽標記物之例示性人類IL-15(hIL-15)變體提供於下。

hIL-15 V49R-GS-連接子-8xHis-Avi標記物 (SEQ ID NO: 9)  
 NWVNVISDLK KIEDLIQSMH IDATLYTESD VHPSCCKVTAM KCFLELQRISLES GDASI  
 H DTVENLIILA NNSLSSNGNV TEGSGCKECEE LEEKNIKEFL QSFVHIVQMF INTGGG  
GSGH HHHHHHHGGG LNDIFEAQKI EWHE

hIL-15 V49N/I50A/S51T-GS-連接子-8xHis-Avi標記物 (SEQ ID  
 NO: 10)

NWVNVISDLK KIEDLIQSMH IDATLYTESD VHPSCCKVTAM KCFLELQ**NAT**LES GDAS  
 IH DTVENLIILA NNSLSSNGNV TEGSGCKECEE LEEKNIKEFL QSFVHIVQMF INTGGG  
GSGH HHHHHHHGGG LNDIFEAQKI EWHE

hIL-15 V49N/I50A/S51T/N79Q-GS-連接子-8xHis-Avi標記物 (SEQ  
 ID NO: 11)

NWVNVISDLK KIEDLIQSMH IDATLYTESD VHPSCCKVTAM KCFLELQ**NAT**LES GDAS  
 IH DTVENLIILA NNSLSSNG**QV** TEGSGCKECEE LEEKNIKEFL QSFVHIVQMF INTGGG  
GSGH HHHHHHHGGG LNDIFEAQKI EWHE

\* 帶下劃線的序列表示連接子、8XHis及AVI標記物；加粗字母表示  
 hIL-15蛋白質序列上之胺基酸突變。

**【0117】** 適用於本發明之IL-15融合蛋白中之抗體可涵蓋單株抗  
 體、多株抗體、抗體片段(例如Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、Fc等)、嵌合抗  
 體、雙特異性抗體、異結合抗體、單鏈(ScFv)、其突變體、包含抗體部分  
 (例如域抗體)之融合蛋白、人類化抗體及包含具有所需特異性之抗原識別  
 位點之免疫球蛋白分子之任何其他經修飾之構形，包括抗體之糖基化變  
 體、抗體之胺基酸序列變體及經共價修飾之抗體。抗體可為小鼠、大鼠、  
 人類或任何其他來源(包括嵌合或人類化抗體)。

**【0118】** 在一些實施例中，本文所描述之抗體具有選自由以下組成  
 之群的同型：IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>2Δa</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgG<sub>4Δb</sub>、IgG<sub>4Δc</sub>、IgG<sub>4</sub>  
 S228P、IgG<sub>4Δb</sub> S228P及IgG<sub>4Δc</sub> S228P。

**【0119】** 在一些實施例中，如所描述之IL-15融合蛋白之抗體包含

Fc域。在一些實施例中，Fc域可為人類IgG1、IgG2或IgG4。

**【0120】** 在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG2 (SEQ ID NO: 3) 之鉸鏈區中之位置223、225及228 (例如(C223E或C223R)、(E225R)及(P228E或P228R))處及CH3區中之位置409或368 (例如K409R或L368E (EU編號方案))處的胺基酸修飾。在一些實施例中，本文所描述之抗體為雙特異性抗體。

**【0121】** 在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG1 (SEQ ID NO: 2) 之鉸鏈區中之位置221及228 (例如(D221R或D221E)及(P228R或P228E))處及CH3區中之位置409或368 (例如K409R或L368E (EU編號方案))處的胺基酸修飾。在一些實施例中，本文所描述之抗體為雙特異性抗體。

**【0122】** 在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG1 (SEQ ID NO: 2) 之CH3區中之位置349、354、366、368及/或407 (EU編號方案)處的胺基酸修飾。舉例而言，胺基酸修飾包含Y349C、S354C、T366W、T366S、L368A及/或Y407V。在一些實施例中，本文所描述之抗體為雙特異性抗體。

**【0123】** 在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG4 (SEQ ID NO: 4) 之鉸鏈區中之位置228 (例如(S228D、S228E、S228R或S228K))處及CH3區中之位置409或368 (例如R409K、R409或L368E (EU編號方案))處的胺基酸修飾。在一些實施例中，本文所描述之抗體為雙特異性抗體。

**【0124】** 在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG2 (SEQ ID NO: 3) 之位置265 (例如D265A)、330 (例如A330S)及331 (例如

P331S)中之一或多者；或人類IgG1 (SEQ ID NO: 2)之一或多個位置234、235、237及/或322處的胺基酸修飾。在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG2之位置265 (例如D265A)、330 (例如A330S)及331 (例如P331S)中之每一者處的胺基酸修飾。

**【0125】** 在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG1 (SEQ ID NO: 2)之位置234 (例如L234A)、235 (例如L235A)及237 (例如G237A)中之一或多者處的胺基酸修飾。在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG1 (SEQ ID NO: 2)之位置234 (例如L234A)、235 (例如L235A)及237 (例如G237A)中之每一者處的胺基酸修飾。舉例而言，如本文所描述之抗體包含SEQ ID NO:88之胺基酸序列。

**【0126】** 在一些實施例中，如本文所描述之抗體包含人類IgG4 (SEQ ID NO: 4)之胺基酸修飾 E233F234L235 至 P233V234A235 (IgG<sub>4Δc</sub>)。在又一實施例中，胺基酸修飾為人類IgG4 (SEQ ID NO: 4)之 E233F234L235至P233V234A235，缺失G236 (IgG<sub>4Δb</sub>)。

**【0127】** 用於本發明之例示性抗體包括(但不限於)下列序列。

**【0128】**

**表1.1**

SEQ ID NO:/	序列
64/ hIgG2Δa- D265A 之 CH1-鉸鏈 -CH2- CH3(帶下 劃線：鉸 鏈)	ASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKT <u>VERKCC</u> <u>VECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVQFN</u> WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQQDWLNGKEYKCKV NKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
65/ xhPD1 (VK1-39)-	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGK</u> <u>APKLLIYWTSYRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNDY</u> <u>FYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYREA</u> <u>KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC</u>

輕鏈 (加粗 : V-κ ; 帶下劃線 : C-κ)	<u>EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
66/ xhPD1 (VH1-69b)-hIgG1-AAA-Bsp-R-臂	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG NIYPGSSITNY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLTTGTFAYWGQGT LVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCRKTHTCPRCPAP EAAGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
74/ xhPD1 (VH1-69b)-hIgG1-AAA-『旋鈕』	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG NIYPGSSITNY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLTTGTFAYWGQGT LVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP EAAGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSREEMTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0129】 在一些實施例中，本文所描述之抗體包含經修飾之恆定區，其對人類Fc $\gamma$ 受體具有增加或減少之結合親和力；其為免疫學上惰性的或部分惰性的，例如不觸發補體介導之溶解，不刺激抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)或不活化微神經膠質細胞；或在以下中之任何一或多個方面具有降低之活性(相比於未經修飾之抗體)：觸發補體介導之溶解、刺激ADCC或活化微神經膠質細胞。恆定區之不同修飾可用於達成效應功能之最佳水準及/或組合。參見例如Morgan等人，Immunology

86:319-324, 1995 ; Lund 等人 , J. Immunology 157:4963-9 157:4963-4969, 1996 ; Idusogie 等人 , J. Immunology 164:4178-4184, 2000 ; Tao 等人 , J. Immunology 143: 2595-2601, 1989 ; 及 Jefferis 等人 , Immunological Reviews 163:59-76, 1998 。 在一些實施例中 , 恆定區如 Eur. J. Immunol., 1999, 29:2613-2624 ; PCT公開案第WO99/058572號中所描述經修飾。

**【0130】** 在一些實施例中 , 可修飾抗體恆定區以避免與Fc $\gamma$ 受體及補體及免疫系統之相互作用。用於製備此類抗體之技術描述於WO 99/58572中。舉例而言 , 若抗體用於人類之臨床試驗及治療 , 則恆定區可經工程改造以更類似於人類恆定區 , 從而避免免疫反應。參見例如美國專利第 5,997,867號及第5,866,692號。

**【0131】** 在其他實施例中 , 使恆定區去糖基化 , 以供N-連接糖基化。在一些實施例中 , 藉由使作為恆定區中之N-糖基化識別序列之部分的寡糖附接殘基及/或側接殘基突變 , 將恆定區去糖基化以供N-連接之糖基化。舉例而言 , N-糖基化位點N297可突變為例如A、Q、K或H。參見Tao 等人 , J. Immunology 143: 2595-2601, 1989 ; 及 Jefferis 等人 , Immunological Reviews 163:59-76, 1998 。 在一些實施例中 , 使恆定區去糖基化以供N-連接之糖基化。可以酶促方式(諸如藉由酶PNGase移除碳水化合物)或藉由有糖基化缺陷之宿主細胞之表現將恆定區去糖基化以供N-連接之糖基化。

**【0132】** 其他抗體修飾包括已如PCT公開案第WO 99/58572號中所描述經過修飾之抗體。除了針對靶分子之結合域之外 , 此等抗體亦包含胺基酸序列與人類免疫球蛋白重鏈之恆定區的全部或一部分實質上同源的功效

應域。此等抗體能夠結合標靶分子，而不觸發標靶之顯著補體依賴性溶胞或細胞介導之破壞。在一些實施例中，效應域能夠特異性結合FcRn及/或FcγRIIb。此等典型地基於來源於兩種或更多種人類免疫球蛋白重鏈CH2域的嵌合域。以此方式修飾之抗體尤其適用於慢性抗體療法，以避免對習知抗體療法之發炎性及其他不良反應。

**【0133】** 在一些實施例中，抗體包含經修飾之恆定區，該抗體相比於未經修飾之抗體，對FcRn具有增加的結合親和力及/或延長的血清半衰期。

**【0134】** 本發明之IL-15融合蛋白中所使用之抗體包括(但不限於)抗CTLA-4抗體、抗CD3抗體、抗CD4抗體、抗CD8抗體、抗4-1BB抗體、抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗TIM3抗體、抗LAG3抗體、抗TIGIT抗體、抗OX40抗體、抗IL-7R $\alpha$  (CD127)抗體、抗IL-8抗體、抗IL-15抗體、抗HVEM抗體、抗BTLA抗體、抗CD40抗體、抗CD40L抗體、抗CD47抗體、抗CSF1R抗體、抗CSF1抗體、抗MARCO抗體、抗CXCR4抗體、抗VEGFR1抗體、抗VEGFR2抗體、抗TNFR1抗體、抗TNFR2抗體、抗CD3雙特異性抗體、抗CD19抗體、抗CD20、抗Her2抗體、抗EGFR抗體、抗ICOS抗體、抗CD22抗體、抗CD 52抗體、抗CCR4抗體、抗CCR8抗體、抗CD200R抗體、抗VISG4抗體、抗CCR2抗體、抗LILRb2抗體、抗CXCR4抗體、抗CD206抗體、抗CD163抗體、抗KLRG1抗體、抗FLT3抗體、抗B7-H4抗體、抗B7-H3抗體、KLRG1抗體、抗BTN1A1抗體及抗GITR抗體。

**【0135】** 在一些實施例中，IL-15融合蛋白中之抗體為PD-1抗體。舉例而言，PD-1抗體包含：重鏈可變(VH)區，其包含(i) VH互補決定區

1(CDR1)，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14、15、80、81或91；VH CDR2，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:16、17、82或83；及VH CDR3，其包含SEQ ID NO:18或62中所示之胺基酸序列；及/或VL CDR1，其包含SEQ ID NO:19或31中所示之胺基酸序列；VL CDR2，其包含SEQ ID NO: 20或32中所示之胺基酸序列；及VL CDR3，其包含SEQ ID NO: 21或33中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，PD-1抗體包含：VH區，其包含具有SEQ ID NO: 12、34、78或36之胺基酸序列的VH之CDR1、CDR2及CDR3；及/或VL區，其包含具有SEQ ID NO: 13、35、79或37之胺基酸序列的VL之CDR1、CDR2及CDR3。

【0136】 例示性IL-15融合蛋白包括(但不限於)下列序列。IL-15變體呈粗體；且連接子帶下劃線。

【0137】

表1.2

SEQ ID NO:/名稱	序列
29/ xmPD1- hIL-15 NQ 突變 體 (E臂)	EVQLVESGGGLV <del>K</del> PGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGT <del>T</del> TVVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTS <del>G</del> VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVVPSNFGTQTYTCNV <del>D</del> HK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS <del>V</del> LTVVHQD WLN <del>G</del> KEYKCKVSNKGLPSSIEKTKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG <del>F</del> YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDS <del>D</del> GSFFLYSKLTVDKSR WQQGNV <del>F</del> SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGTATATPGANWV <del>N</del> VI <b>SDLKKIEDLIQSMHINATLFTESDVHPSCKVTAMKCFLLQLQVISLQSGD</b> <b>ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECCQELEQKNIKEFLQSFVHIV</b> <b>QMFINT</b>  (NQ之突變呈斜體)
38/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46G	EVQLVESGGGLV <del>K</del> PGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGT <del>T</del> TVVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTS <del>G</del> VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVVPSNFGTQTYTCNV <del>D</del> HK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS <del>V</del> LTVVHQD WLN <del>G</del> KEYKCKVSNKGLPSSIEKTKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS

	LTCEVKGFFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGTSAATATPGANWVNV <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLGLQRISLESGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINT</b>
39/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46G- E64Q- D30N	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQM TSLRSED TAMY YCAKESWG A YYDLWGQGT T V T V S S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S N F G T Q T Y T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C E V E C P E C P A P P V A G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V A V S H E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C E V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G S G G G G G T S A T A T P G A N W V N V <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFLLGLQRISLESGD ASIHDTVQNLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINT</b>
40/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46G- E64Q- I68S- D30N	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQM TSLRSED TAMY YCAKESWG A YYDLWGQGT T V T V S S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S N F G T Q T Y T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C E V E C P E C P A P P V A G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V A V S H E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C E V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G S G G G G G T S A T A T P G A N W V <b>NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF LLGLQRISLE SGDASIHDTV QNLISLANS LSSNGNVTES GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQMFINT</b>
41/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46G- N4K- E64Q- D30N	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQM TSLRSED TAMY YCAKESWG A YYDLWGQGT T V T V S S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S N F G T Q T Y T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C E V E C P E C P A P P V A G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V A V S H E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C E V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G S G G G G G T S A T A T P G A N W V <b>KVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF LLGLQRISLE SGDASIHDTV QNLILANS LSSNGNVTES GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQMFINT</b>
42/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46G- E64Q- I68S- D30N- M109A	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQM TSLRSED TAMY YCAKESWG A YYDLWGQGT T V T V S S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S N F G T Q T Y T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C E V E C P E C P A P P V A G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V A V S H E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C E V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G S G G G G G T S A T A T P G A N W V <b>NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF</b>

	<b>LLGLQRISLE SGDASHDTV QNLISLANNSSSSNGNVTES GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQAFINT</b>
43/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46G- E64Q- N4K- D30N- M109A	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGANWV <b>KVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF</b> <b>LLGLQRISLE SGDASHDTV QNLILANNSSSSNGNVTES</b> <b>GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQAFINT</b>
44/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46G- E64Q- D30N- M109A	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGANWV <b>NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF</b> <b>LLGLQRISLE SGDASHDTV QNLILANNSSSSNGNVTES</b> <b>GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQAFINT</b>
45/ xmPD1- hIL15_V 49R- Y26K	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGANWV <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLKTESDVHPSCKVTAMKCFLELQRISLESGD</b> <b>ASHDVTENLILANNSSSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV</b> <b>QMFINT</b>
46/ xmPD1- hIL15_V 49R- Y26K- E64Q- D30N	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGANWV <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLKTESNVHPSCKVTAMKCFLELQRISLESGD</b> <b>ASHDVTQNLILANNSSSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV</b> <b>QMFINT</b>
47	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI

<p>xmPD1-hIL15_V 49K-Y26K</p>	<p>SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG                  AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP                  VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK                  PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV                  VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTVVHQD                  WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS                  LTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFLLYKSLTVDKSR                  WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGGTSATATPGANWVNV  <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLKTESDVHPSCKVTAMKCFLELQKISLESG                  DASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHI                  VQMFINT</b></p>
<p>48/ xmPD1-hIL15_V 49K-E46G</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAI                  SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG                  AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP                  VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK                  PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV                  VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTVVHQD                  WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS                  LTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFLLYKSLTVDKSR                  WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGGTSATATPGANWVNV  <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLGLQKISLESGD                  ASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV                  QMFINT</b></p>
<p>49/ xmPD1-hIL15Ras u-hIL15(E6 4Q/D30N )</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAI                  SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG                  AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP                  VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK                  PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV                  VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTVVHQD                  WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS                  LTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFLLYKSLTVDKSR                  WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGGTSATATPGAITCPPP  <b>MSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA                  TNVAHWTTPS LKCIRDPALV HQRAPPSSG SGGGGSGGGS                  GGGGSGGNWV NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP                  SCKVTAMKCF LLELQVISLE SGDASIHDTV QNLILANNS                  LSSNGNVTES GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQMFINT</b></p>
<p>50/ xmPD1-hIL15Ras u-hIL15(E6 4Q/I68S/ D30N)</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAI                  SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG                  AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP                  VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK                  PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV                  VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTVVHQD                  WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS                  LTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFLLYKSLTVDKSR                  WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGGTSATATPGAITCPPP  <b>MSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA                  TNVAHWTTPS LKCIRDPALV HQRAPPSSG SGGGGSGGGS                  GGGGSGGNWV NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP                  SCKVTAMKCF LLELQVISLE SGDASIHDTV QNLISLANNS                  LSSNGNVTES GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQMFINT</b></p>

<p>51/ xmPD1- hIL15Ras u- hIL15(E6 4Q/N4K/ D30N)</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDG SFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGAITCPPP <b>MSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA</b> <b>TNVAHWTPS LKCIRD PALV HQR PAPPSSG SGGGGSGGGS</b> <b>GGGGSGGNWV KVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP</b> <b>SCKVTAMKCF LLELQVISLE SGDASHDTV QNLILANNS</b> <b>LSSNGNVTES GCKECEELEE KNIKEFLQSF VHIVQMFINT</b></p>
<p>52/ xmPD1- hIL15Ras u- hIL15(E6 4Q/D30N /M109A)</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDG SFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGAITCPPP <b>MSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA</b> <b>TNVAHWTPS LKCIRD PALV HQR PAPPSSG SGGGGSGGGS</b> <b>GGGGSGGNWV NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP</b> <b>SCKVTAMKCF LLELQVISLE SGDASHDTV QNLILANNS</b> <b>LSSNGNVTES GCKECEELEE KNIKEFLQSF VHIVQAFINT</b></p>
<p>53/ xmPD1- hIL15Ras u- hIL15(E6 4Q/I68S/ D30N/M 109A)</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDG SFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGAITCPPP <b>MSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA</b> <b>TNVAHWTPS LKCIRD PALV HQR PAPPSSG SGGGGSGGGS</b> <b>GGGGSGGNWV NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP</b> <b>SCKVTAMKCF LLELQVISLE SGDASHDTV QNLISLANNS</b> <b>LSSNGNVTES GCKECEELEE KNIKEFLQSF VHIVQAFINT</b></p>
<p>54/ xmPD1- hIL15Ras u- hIL15(E6 4Q/N4K/ D30N/M 109A)</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDG SFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGAITCPPP</p>

	<p><b>MSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA</b>  <b>TNVAHWTTPS LKCIRDPALV HQRPAPPSGG SGGGGSGGGS</b>  <b>GGGGSGGNWV KVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP</b>  <b>SCKVTAMKCF LLELQVISLE SGDASIHDTV QNLILANNS</b>  <b>LSSNGNVTES GCKECELEE KNIKEFLQSF VHIVQAFINT</b></p>
55/ xmPD1- hIL15_V 49R- E46Q	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI          SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG          AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP          VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPK          PSNTKVDKTKVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV          VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD          WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS          LTCEVKGFFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSR          WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGTSAATPGANWVNV  <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLQLQRISLESGD</b>  <b>ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV</b>  <b>QMFINT</b></p>
56/ xmPD1- hIL15_V 49R- E53Q	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI          SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG          AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP          VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPK          PSNTKVDKTKVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV          VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD          WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS          LTCEVKGFFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSR          WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGTSAATPGANWVNV  <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQRISLQSGD</b>  <b>ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV</b>  <b>QMFINT</b></p>
57/ xmPD1- hIL15_V 49R- E93Q	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI          SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG          AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP          VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPK          PSNTKVDKTKVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV          VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD          WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS          LTCEVKGFFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSR          WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGTSAATPGANWVNV  <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQRISLESGD</b>  <b>ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEQKNIKEFLQSFVHIV</b>  <b>QMFINT</b></p>
58/ xmPD1- hIL15 NQ-2a (E46Q/E 93Q)	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI          SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAKESWG          AYYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP          VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPK          PSNTKVDKTKVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV          VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD          WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS          LTCEVKGFFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSR          WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGTSAATPGANWVNV  <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLQLQVISLESGD</b></p>

	<b>ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEQKNIKEFLQSFVHIV QMFINT</b>
59/ xmPD1- hIL15 NQ-2b (E46Q/E 53Q)	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSED TAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFNGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGANWVNV <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLQLQVISLQSG DASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHI VQMFINT</b>
60/ xmPD1- hIL15 NQ-2c (E53Q/E 93Q)	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSED TAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFNGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGANWVNV <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLQSGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEQKNIKEFLQSFVHIV QMFINT</b>
61/ xmPD1- hIL15 NQ-3d (E46Q/E 53Q/E93 Q)	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSED TAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFNGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGT SATATPGANWVNV <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLQLQVISLQSG DASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEQKNIKEFLQSFVHI VQMFINT</b>
63/ xmPD-1- hIL-15 V49R 融 合物	EVQLVESGGGLV KPGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSED TAMYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFNGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKTVERKCEVECPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQD WLNKKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKG FYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGRTS ATATPGANWVNV <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLQSGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINT</b>
67/	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG

<p>xhPD1(V H1-69b)-hIgG1-AAA-Bsp-E-臂-3GS-hIL15Ras u-hIL15</p>	<p>NIYPGSSITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLTTGT                  FAYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT                  VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN                  TKVDKKVEPKSCEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC                  VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ                  DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ                  VSLTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS                  RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGG<b>ITCPP</b>  <b>PMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVA</b>  <b>HWTTPSLKCIRDPALVHQRPA<b>PPSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGN</b>WVN</b>  <b>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL<b>ELQVISLES</b>GD</b>  <b>ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV</b>  <b>QMFINTS</b></p>
<p>68/ xhPD1(V H1-69b)-hIgG1-AAA-Bsp-E-臂-3GS-hIL15 NQ</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG                  NIYPGSSITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLTTGT                  FAYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT                  VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN                  TKVDKKVEPKSCEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC                  VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ                  DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ                  VSLTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS                  RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGG<b>NWVN</b>  <b>VISDLKKIEDLIQSMHINATLFTESDVHPSCKVTAMKCFLL<b>QLQVISLQ</b>S</b>  <b>GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELE<b>QKNIKEFLQSFV</b></b>  <b>HIVQMFINTS</b></p>
<p>69/ xhPD1(V H1-69b)-hIgG1-AAA-Bsp-E-臂-3GS-hIL15 V49R-E46G-E64Q</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG                  NIYPGSSITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLTTGT                  FAYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT                  VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN                  TKVDKKVEPKSCEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC                  VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ                  DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ                  VSLTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS                  RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGG<b>NWVN</b>  <b>VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL<b>LGLQRISLES</b>G</b>  <b>DASIHDTVQN<b>LILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHI</b></b>  <b>VQMFINTS</b></p>
<p>70/ xhPD1(V H1-69b)-hIgG1-AAA-Bsp-E-臂-3GS-hIL15 V49R-E46G-E64Q-D30N</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG                  NIYPGSSITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLTTGT                  FAYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT                  VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN                  TKVDKKVEPKSCEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC                  VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ                  DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ                  VSLTCEVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS                  RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGG<b>NWVN</b>  <b>VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFLL<b>LGLQRISLES</b>G</b>  <b>DASIHDTVQN<b>LILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHI</b></b>  <b>VQMFINTS</b></p>
<p>71/ xhPD1(V</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG                  NIYPGSSITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLTTGT</p>

H1-69b)- hIgG1- AAA- Bsp-E- 臂 -3GS- hIL15 V49R- E46G- N4Q- D30N	FAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCEVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGNWV <b>QVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF</b> <b>LLGLQRISLE SGDASIHDTV ENLILANNS LSSNGNVTES GCKECEELEE</b> <b>KNIKEFLQSF VHIVQMFINTS</b>
72 xhPD1(V H1-69b)- hIgG1- AAA- Bsp-E- 臂 -3GS- hIL15 V49R- E46G- N1K- D30N	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG NIYPGSSITNYAQKFAQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLTTGT FAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCEVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGKWW <b>NVISDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF</b> <b>LLGLQRISLE SGDASIHDTV ENLILANNS LSSNGNVTES GCKECEELEE</b> <b>KNIKEFLQSF VHIVQMFINTS</b>
73 xhPD1(V H1-69b)- hIgG1- AAA- Bsp-E- 臂 -3GS- hIL15 V49R- E46G- S7T- D30N	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG NIYPGSSITNYAQKFAQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLTTGT FAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCEVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGNWV <b>NVITDLKKIE DLIQSMHIDA TLYTESNVHP SCKVTAMKCF</b> <b>LLGLQRISLE SGDASIHDTV ENLILANNS LSSNGNVTES GCKECEELEE</b> <b>KNIKEFLQSF VHIVQMFINTS</b>
75/ xhPD1(V H1-69b)- hIgG1- AAA- 『孔』 - 3GS- hIL15 V49R- E46G- E64Q- D30N	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG NIYPGSSITNYAQKFAQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLTTGT FAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGNWVN <b>VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFLLGLQRISLESG</b> <b>DASIHDTVQNLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHI</b> <b>VQMFINTS</b>
86 xmPD1- hIgG1- AAA-	EVQLVESGGGLVKPGGSLLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDVAVYYCAKESWG AAYDLWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV

<p>『孔』 - 3GS- hIL15 V49R- E46G- N1A- D30N (m1)</p>	<p>TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGA WVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFLLGLQRIS LESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFINTS</p>
<p>87 xmPD1- hIgG1- AAA- 『孔』 - 3GS- hIL15 V49R- E46G- N1G- E64Q- D30N (m2)</p>	<p>EVQLVESGGGLV<sup>K</sup>PGGSLELSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPEKGLEWVAAI SPSGGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSED<sup>T</sup>AMYYCAKESWG AAYDLWGQGT<sup>T</sup>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK 『孔』 - SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGG WVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFLLGLQRIS LESGDASIHDTVQNLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFINTS</p>
<p>89 xhPD1(V H1-69b)- hIgG1- AAA- 『孔』 - 3GS- hIL15 V49R- E46G- N1A- D30N (m1)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV<sup>S</sup>CKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG NIYPGSSITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED<sup>T</sup>AVYYCARLTTGT FAYWGQGT<sup>L</sup>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC 『孔』 - VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGAWV NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFLLGLQRISLES GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVH IVQMFINTS</p>
<p>90 xhPD1(V H1-69b)- hIgG1- AAA- 『孔』 - 3GS- hIL15 V49R- E46G- N1G- E64Q- D30N (m2)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV<sup>S</sup>CKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMG NIYPGSSITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED<sup>T</sup>AVYYCARLTTGT FAYWGQGT<sup>L</sup>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC 『孔』 - VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGGWV NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESNVHPSCKVTAMKCFLLGLQRISLES GDASIHDTVQNLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS</p>

【0138】 如本文所描述之IL-15融合蛋白可藉由此項技術中已知之

方法，例如以合成或重組方式產生。典型地，雖然本發明之融合蛋白藉由製備及表現使用本文所描述之重組方法表現編碼該等融合蛋白之聚核苷酸來製造，但其亦可藉由此項技術中已知之其他手段製備，包括例如化學合成。

**【0139】** 如本文所描述之抗體亦可藉由此項技術中已知之任何方法製造。為產生融合瘤細胞株，宿主動物免疫接種之途徑及時程一般與已建立及習知之用於抗體刺激及產生的技術一致，如本文中進一步描述。用於生產人類及小鼠抗體之通用技術為此項技術中已知的及/或描述於本文中。

**【0140】** 預期可操控包括人類之任何哺乳動物個體或自其產生細胞之抗體來充當產生包括人類之哺乳動物及融合瘤細胞株的基礎。典型地，宿主動物經腹膜內、經肌肉內、經口、經皮下、經足底內及/或經皮內接種一定量之包括如本文所描述之免疫原。

**【0141】** 融合瘤可使用Kohler, B.及Milstein, C., *Nature* 256:495-497, 1975之通用體細胞雜交技術或如藉由Buck, D. W.等人, *In Vitro*, 18:377-381, 1982所修改，由淋巴球及永生化骨髓瘤細胞製備。雜交可使用可獲得的骨髓瘤株，包括(但不限於) X63-Ag8.653及得自Salk Institute, Cell Distribution Center, San Diego, Calif., USA之彼等物。一般而言，技術涉及使用諸如聚乙二醇之促融劑或藉由熟習此項技術者熟知之電學方式使骨髓瘤細胞與淋巴細胞融合。融合之後，將細胞自融合培養基分離，且在諸如次黃嘌呤-胺基喋呤-胸苷(HAT)培養基之選擇性生長培養基中生長，以除去未雜交之母體細胞。本文所描述之補充有或無血清之培養基中之任一者可用於培養分泌單株抗體之融合瘤。作為細胞融合技術

之另一替代方案，EBV永生化B細胞可用於產生本發明之單株抗體。必要時，對融合瘤進行擴增且次選殖，且藉由習知免疫分析程序(例如放射免疫分析、酶免疫分析或螢光免疫分析)來分析上清液中的抗免疫原活性。

【0142】 可用作抗體來源之融合瘤涵蓋所有衍生物、產生單株抗體之母體融合瘤之後代細胞。

【0143】 產生用於本發明之抗體之融合瘤可使用已知程序活體外或活體內生長。若需要，可藉由諸如硫酸銨沈澱、凝膠電泳、透析、層析及超過濾之習知免疫球蛋白純化程序，自培養基或主體流體分離單株抗體。非所需活性(若存在)可移除，例如藉由使製劑在由免疫原連接至固相製成的吸附劑上運作且使所需抗體自免疫原溶離或釋放。用表現抗體標靶(例如PD-1)、人類靶蛋白(例如PD-1)或含有與待使用雙功能或衍生藥劑(例如順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基磺基丁二醯亞胺酯(共軛至半胱胺酸殘基)、N-羥基琥珀醯亞胺(至離胺酸殘基)、戊二醛、丁二酸酐、 $\text{SOCl}_2$  或  $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$  (其中R及 $\text{R}^1$ 為不同烷基))免疫物種中免疫原性之蛋白質(例如匙孔螺血氫蛋白、血清白蛋白、牛甲狀球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制劑)共軛之靶胺基酸序列之片段的細胞使宿主動物免疫可產生抗體(例如單株抗體)群體。

【0144】 必要時，可對相關抗體(單株或多株)進行測序且隨後可將聚核苷酸序列選殖至載體中表現或繁殖。編碼相關抗體的序列可在宿主細胞中、在載體中維持且宿主細胞隨後可擴增及冷凍供將來使用。細胞培養物中重組單株抗體之產生可經由利用此項技術中已知之方式自B細胞選殖抗體基因來進行。參見例如Tiller等人, *J. Immunol. Methods* 329, 112, 2008；美國專利第7,314,622號。

【0145】 在一些實施例中，抗體可使用融合瘤技術製造。預期可操控包括人類之任何哺乳動物個體或自其產生細胞之抗體來充當產生包括人類之哺乳動物、融合瘤細胞株的基礎。如本文中進一步所描述，寄主動物之免疫接種的路徑及時程一般與已建立及習知用於抗體刺激及產生技術一致。典型地，宿主動物經腹膜內、經肌肉內、經口、經皮下、經足底內及/或經皮內接種一定量之包括如本文所描述之免疫原。

【0146】 在一些實施例中，如本文所描述之抗體在其恆定區中之保守性位置處經糖基化(Jefferis 及 Lund, 1997, Chem. Immunol. 65:111-128; Wright 及 Morrison, 1997, TibTECH 15:26-32)。免疫球蛋白之寡醣側鏈影響蛋白質之功能(Boyd 等人, 1996, Mol. Immunol. 32:1311-1318; Wittwe 及 Howard, 1990, Biochem. 29:4175-4180)及醣蛋白之部分之間的分子內相互作用，該相互作用其可影響醣蛋白之構形及所呈現之三維表面(Jefferis 及 Lund, 見上文; Wyss 及 Wagner, 1996, Current Opin. Biotech. 7:409-416)。寡糖亦可用以使給定醣蛋白基於特異性識別結構而靶向某些分子。亦已報導抗體之糖基化影響抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。特定言之，據報導在 $\beta(1,4)$ -N-乙醯葡萄糖胺基轉移酶 III (GnTIII) (催化形成二等分GlcNAc之糖基轉移酶)之四環素調節之表現存在下，由CHO細胞所產生的抗體已提高ADCC活性(Umana 等人, 1999, Nature Biotech. 17:176-180)。

【0147】 抗體之糖基化典型地為N-連接或O-連接的。N-連接係指碳水化合物部分與天冬醯胺殘基之側鏈附接。三肽序列天冬醯胺-X-絲胺酸、天冬醯胺-X-蘇胺酸及天冬醯胺-X-半胱胺酸(其中X為除了脯胺酸之外的任何胺基酸)為用於碳水化合物部分酶促附接至天冬醯胺側鏈之識別序

列。因此，在多肽中此等三肽序列中之任一者的存在產生潛在糖基化位點。O-連接之糖基化係指糖N-乙醯基半乳糖、半乳糖或木糖中之一者附接至羥胺基酸，最常見為絲胺酸或蘇胺酸，儘管亦可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸。

**【0148】** 宜藉由改變胺基酸序列從而使其含有上述三肽序列(用於N-連接之糖基化位點)中之一或多者，來實現向抗體添加糖基化位點。亦可藉由向原始抗體之序列添加一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基或用該等殘基取代原始抗體之序列來進行改變(針對O-連接之糖基化位點)。

**【0149】** 亦可在不改變基本核苷酸序列之情況下改變抗體之糖基化模式。糖基化很大程度上視用以表現抗體之宿主細胞而定。因為用於重組型醣蛋白之表現的細胞類型(例如作為潛在治療劑之抗體)很少為天然細胞，所以可預期改變抗體之糖基化模式(參見例如Hse等人，1997, *J. Biol. Chem.* 272:9062-9070)。

**【0150】** 除了寄主細胞之選擇之外，在重組產生抗體期間影響糖基化之因素包括生長模式、培養基調配、培養物密度、加氧作用、pH、純化方案及其類似因素。已提出各種方法來改變在特定宿主生物體中達成之糖基化型式，包括引入或過度表現某些參與產生寡醣之酶(美國專利第5,047,335號；第5,510,261號及第5,278,299號)。糖基化或某些類型的糖基化可以酶促方式自醣蛋白移除，例如使用內切糖苷酶H(內H)、N-糖苷酶F、內切糖苷酶F1、內切糖苷酶F2、內切糖苷酶F3。另外，重組宿主細胞可經基因工程改造為在處理某些類型之多醣中有缺陷。此等及類似技術為此項技術中所熟知。

**【0151】** 其他修飾方法包括使用此項技術中已知之偶合技術，包括

(但不限於)酶促方式、氧化取代及螯合。修飾可用於例如附接免疫分析之標記。經修飾之多肽使用此項技術中已建立之程序製造且可使用此項技術中已知之標準分析來篩檢，其中一些描述於下文及實例中。

**【0152】** 本發明之IL-15融合蛋白或IL-15變體可連接至標記藥劑，諸如螢光分子、放射性分子或此項技術中已知之任何其他標記物。標記物為此項技術中已知的，其一般(直接或間接)提供信號。

### **【0153】**

#### **聚核苷酸、載體及宿主細胞**

本發明亦提供編碼如本文所描述之IL-15變體及IL-15融合蛋白中之任一者的聚核苷酸。在一個態樣中，本發明提供一種製造本文所描述之聚核苷酸中之任一者的方法。聚核苷酸可藉由此項技術中已知之程序製造及表現。

**【0154】** 在另一態樣中，本發明提供包含本發明之聚核苷酸中之任一者之組合物(諸如醫藥組合物)。在一些實施例中，該組合物包含一種包含編碼本文所描述之IL-15變體及IL-15融合蛋白中之任一者之聚核苷酸的表現載體。

**【0155】** 在另一態樣中，提供一種產生如本文所描述之IL-15變體及IL-15融合蛋白之經分離之細胞株。在一些實施例中，細胞株為經工程改造之免疫細胞，其中該經工程改造之免疫細胞包含嵌合抗原受體(CAR)。在一些實施例中，IL-15變體及IL-15融合蛋白(當表示為CAR T細胞中之聚核苷酸時，呈分泌性或膜系留形式)用於增強CAR T功能，包括活性及增殖。在一些實施例中，IL-15變體或包含其之IL-15融合蛋白包含位置D22N、Y26F、E46Q、E53Q、E89Q及E93Q (例如參見SEQ ID

NO:76)處之胺基酸取代。

**【0156】** 如本文所描述之產生IL-15變體及IL-15融合蛋白的免疫細胞可藉由將CAR引入免疫細胞及擴增細胞中來製造。舉例而言，免疫細胞可藉由以下經工程改造：提供細胞且在細胞表面處表現如本文所描述之至少一種CAR及至少一種IL-15變體或IL-15融合蛋白。用於工程改造免疫細胞之方法描述於例如PCT專利申請公開案第WO/2014/039523號、第WO/2014/184741號、第WO/2014/191128號、第WO/2014/184744號及第WO/2014/184143號中，該等申請案各自以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，可用至少一種編碼CAR之聚核苷酸、編碼如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白之一種聚核苷酸轉化細胞，繼而表現細胞中之聚核苷酸。

**【0157】** 本發明亦涵蓋與任何此類序列互補之聚核苷酸。聚核苷酸可為單股(編碼或反義)或雙股，且可為DNA(基因組、cDNA或合成)或RNA分子。RNA分子包括HnRNA分子，其含有內含子且以一對一方式對應於DNA分子；及mRNA分子，其不含內含子。額外編碼或非編碼序列可能(但不必須)存在於本發明之聚核苷酸內，且聚核苷酸可能(但不必須)連接至其他分子及/或支撐物質。

**【0158】** 聚核苷酸可包含天然序列(亦即，編碼抗體或其片段之內源序列)或可包含此類序列之變體。聚核苷酸變體含有一或多個取代、添加、缺失及/或插入以使得經編碼之多肽之免疫反應性相對於天然免疫反應性分子不降低。對於經編碼之多肽之免疫反應性的影響可通常如本文所描述評估。變體較佳展現與編碼天然抗體或其片段之聚核苷酸序列至少約70%一致性，更佳至少約80%一致性，又更佳至少約90%一致性，且最佳

至少約95%一致性。

【0159】 在如下文所描述之最大對應比對時，若兩個序列中之核苷酸或胺基酸序列相同，則兩個聚核苷酸或多肽序列稱為「一致」。兩個序列之間的比較典型地藉由在比較窗口比較序列以鑑別且比較局部區之序列相似性來進行。如本文所使用之「比較窗口」係指至少約20個連續位置，通常30至約75個，或40至約50個連續位置的區段，其中在最佳比對兩個序列之後，序列可與相同數目之連續位置的參考序列相比較。

【0160】 用於比較之最佳序列比對可使用生物資訊軟體之 Lasergene<sup>®</sup> 套件中之 MegAlign<sup>®</sup> 程式(DNASTAR<sup>®</sup>, Inc., Madison, WI) 使用預設參數來進行。此程序體現以下參考文獻中描述之若干比對方案：  
Dayhoff, M.O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships。在Dayhoff, M.O. (編) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC 第5卷, 第3增刊, 第345-358頁；Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenesis 第626-645頁 Methods in Enzymology 第183卷, Academic Press, Inc., San Diego, CA；Higgins, D.G. 及 Sharp, P.M., 1989, CABIOS 5:151-153；Myers, E.W. 及 Muller W., 1988, CABIOS 4:11-17；Robinson, E.D., 1971, Comb. Theor. 11:105；Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol. 4:406-425；Sneath, P.H.A. 及 Sokal, R.R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA；Wilbur, W.J. 及 Lipman, D.J., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730中。

**【0161】** 較佳地，「序列一致性百分比」藉由比較兩個最佳比對序列與至少20個位置之比較窗口來測定，其中相比於參考序列(其不包含添加或缺失)，比較窗口中之聚核苷酸或多肽序列之部分可包含20百分比或小於20百分比，通常5至15百分比，或10至12百分比添加或缺失(亦即，空位)以便兩個序列之最佳比對。藉由以下計算百分比：測定兩個序列中出現之相同核酸鹼基或胺基酸殘基所處的位置數目以得到匹配位置數，將匹配位置數除以參考序列中之位置之總數目(亦即，窗口大小)且將結果乘以100以得到序列一致性百分比。

**【0162】** 變體亦可或替代地實質上與天然基因或其部分或互補序列同源。此類聚核苷酸變體在適當嚴格條件下能夠與編碼天然抗體(或互補序列)之天然存在之DNA序列雜交。

**【0163】** 適合的「適度嚴格條件」包括在5 X SSC、0.5% SDS、1.0 mM EDTA (pH 8.0)之溶液中預洗滌；在50°C-65°C、5 X SSC下雜交隔夜；接著在65°C下用含有0.1%SDS之2X、0.5X及0.2X SSC中之每一者洗滌兩次，歷時20分鐘。

**【0164】** 如本文所使用，「高度嚴格條件」或「較高嚴格度條件」如下：(1)使用低離子強度及高溫用於洗滌，例如在50°C下0.015 M氯化鈉/0.0015 M檸檬酸鈉/0.1%十二烷基硫酸鈉；(2)在雜交期間使用變性劑，諸如甲醯胺，例如在42°C下具有0.1%牛血清白蛋白之50% (v/v)甲醯胺/0.1%菲科爾(Ficoll)/0.1%聚乙烯吡咯啶酮/具有750 mM氯化鈉、75 mM檸檬酸鈉之pH 6.5的50 mM磷酸鈉緩衝液；或(3)在42°C下使用50%甲醯胺、5 x SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M檸檬酸鈉)、50 mM磷酸鈉(pH 6.8)、0.1%焦磷酸鈉、5 x Denhardt氏溶液、音波處理鮭魚精子DNA (50

$\mu\text{g/ml}$ )、0.1% SDS及10%硫酸葡聚糖，其中在 $42^{\circ}\text{C}$ 下在 $0.2 \times \text{SSC}$  (氯化鈉/檸檬酸鈉)中及在 $55^{\circ}\text{C}$ 下在50%甲醯胺中洗液，隨後在 $55^{\circ}\text{C}$ 下用由含EDTA之 $0.1 \times \text{SSC}$ 組成的較高嚴格度洗液洗滌。熟習此項技術者將認識到如何視需要調節溫度、離子強度等以適應諸如探針長度及其類似物之因素。

**【0165】** 一般熟習此項技術者將瞭解，由於基因密碼之簡併，存在許多編碼如本文所描述之多肽之核苷酸序列。一些此等聚核苷酸攜帶與任何天然基因之核苷酸序列之最小同源性。儘管如此，本發明尤其預期因密碼子使用差異而改變之聚核苷酸。另外，包含本文所提供之聚核苷酸序列之基因的對偶基因在本發明範疇內。對偶基因為由於核苷酸之一或多個突變(諸如缺失、添加及/或取代)而變化的內源基因。所得mRNA及蛋白質可(但不必須)具有變化的結構或功能。對偶基因可使用標準技術(諸如雜交、擴增及/或資料庫序列比較)來識別。

**【0166】** 本發明之聚核苷酸可使用化學合成、重組方法或PCR獲得。化學聚核苷酸合成方法在此項技術中熟知且無需詳細描述於本文中。熟習此項技術者可使用本文所提供之序列及商用DNA合成器以產生所需DNA序列。

**【0167】** 為使用重組方法製備聚核苷酸，包含所需序列之聚核苷酸可插入適合載體中，且載體又可引入適合宿主細胞中進行複製及擴增，如本文中進一步論述。聚核苷酸可藉由此項技術中已知任何方法插入宿主細胞中。細胞藉由利用直接吸收、內吞作用、轉染、F-配對或電穿孔將外源性聚核苷酸引入來轉型。一旦引入，外源性聚核苷酸可作為非整合載體(諸如質體)維持在細胞內或整合至宿主細胞基因組中。如此擴增之聚核苷

酸可藉由此項技術中熟知之方法自宿主細胞分離。參見例如Sambrook等人, 1989。

**【0168】** 或者，PCR允許DNA序列複製。PCR技術在此項技術中熟知且描述於美國專利第4,683,195、4,800,159、4,754,065及4,683,202號以及PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis等人編, Birkauswer Press, Boston, 1994。

**【0169】** RNA可藉由使用適當載體中之經分離之DNA且將其插入適合宿主細胞內獲得。當細胞複製且DNA轉錄至RNA時，可隨後使用熟習此項技術者熟知方法分離RNA，例如，如Sambrook等人,1989前述所闡述。

**【0170】** 適合選殖載體可根據標準技術構築，或可選自大量在此項技術中可供使用之選殖載體。雖然所選選殖載體可根據意欲使用之宿主細胞變化，但適用選殖載體將一般能夠自我複製，可具有特定限制核酸內切酶之單一標靶，及/或可載有可用於選擇含有載體之純系的標記物之基因。適合實例包括質體及細菌病毒，例如pUC18、pUC19、Bluescript(例如pBS SK+)及其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌體DNA及穿梭載體，諸如pSA3及pAT28。此等及許多其他選殖載體可自諸如BioRad、Stratagene及Invitrogen之商業供應商獲得。

**【0171】** 進一步提供表現載體。表現載體通常為含有根據本發明之聚核苷酸之可複製聚核苷酸構築體。暗示表現載體作為游離基因體或作為染色體DNA之整體部分在宿主細胞中必須為可複製的。適合表現載體包括(但不限於)質體、病毒載體(包括腺病毒、腺相關病毒、反轉錄病毒)、

黏質體及PCT公開案第WO 87/04462號中所揭示之表現載體。載體組分可一般包括(但不限於)以下一或多者：信號序列；複製起點；一或多種標記物基因；適合轉錄控制元件(諸如啟動子、強化子及終止子)。對於表現(亦即，轉譯)而言，通常亦需要一或多種轉譯控制元件，諸如核糖體結合位點、轉譯起始位點及終止密碼子。

【0172】 含有相關聚核苷酸之載體可藉由許多適當手段中之任一者引入宿主細胞中，該等手段包括電穿孔、採用氯化鈣、氯化銣、磷酸鈣、DEAE-右旋糖苷或其他物質之轉染；微彈轟擊；脂質體轉染；及感染(例如其中載體為諸如痘瘡病毒之傳染劑)。引入載體或聚核苷酸之選擇將常常視宿主細胞之特徵而定。

【0173】 本發明亦提供包含本文所描述之聚核苷酸中之任一者的宿主細胞。能夠過度表現異源DNA之任何宿主細胞可用於分離編碼相關抗體、多肽或蛋白質之基因目標。哺乳動物宿主細胞之非限制性實例包括(但不限於) COS、HeLa及CHO細胞。亦參見PCT公開案第WO 87/04462號。適合非哺乳動物宿主細胞包括原核生物(諸如大腸桿菌(*E. coli*)或枯草芽胞細菌(*B. subtilis*)及酵母(諸如啤酒酵母(*S. cerevisiae*)、裂殖酵母(*S. pombe*)或乳酸克魯維酵母(*K. lactis*))。較佳地，宿主細胞表現cDNA的量為宿主細胞中之相關相應內源抗體或蛋白質(若存在)的約5倍，更佳10倍，甚至更佳20倍。篩選宿主細胞特異性結合至IL-15或IL-15區域藉由免疫分析或FACS來實現。可識別相關抗體或蛋白質之細胞過度表現。

【0174】 表現載體可用於直接表現IL-15變體或IL-15融合蛋白。熟習此項技術者熟悉表現載體之投與以在活體內實現外源性蛋白質之表現。參見例如美國專利第6,436,908號、第6,413,942號及第6,376,471號。表現

載體之投與包括局部或全身投與，包括注射、經口投與、粒子槍或導管投與及表面投與。在另一實施例中，將表現載體直接投與至交感神經幹或神經節，或冠狀動脈、心房、心室或心包中。

【0175】 亦可使用含有表現載體或亞基因組聚核苷酸之治療組合物的目標遞送。受體介導之DNA遞送技術描述於例如Findeis等人, Trends Biotechnol., 1993, 11:202 ; Chiou等人, Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer, J.A. Wolff編, 1994 ; Wu等人, J. Biol. Chem., 1988, 263:621 ; Wu等人, J. Biol. Chem., 1994, 269:542 ; Zenke等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990, 87:3655 ; Wu等人, J. Biol. Chem., 1991, 266:338中。對於基因治療方案中之局部投與，含有聚核苷酸之治療組合物以約100 ng至約200 mg範圍內之DNA投與。在基因治療方案期間亦可使用約500 ng至約50 mg、約1 µg至約2 mg、約5 µg至約500 µg及約20 µg至約100 µg DNA之濃度範圍。治療聚核苷酸及多肽可使用基因傳遞媒劑遞送。基因傳遞媒劑可為病毒或非病毒起點(一般參見Jolly, Cancer Gene Therapy, 1994, 1:51 ; Kimura, Human Gene Therapy, 1994, 5:845 ; Connelly, Human Gene Therapy, 1995, 1:185 ; 及Kaplitt, Nature Genetics, 1994, 6:148)。此類編碼序列之表現可使用內源哺乳動物或異源啟動子誘發。編碼序列之表現可具組成性或經調控。

【0176】 用於遞送所需聚核苷酸且在所需細胞中表現之病毒基載體為此項技術中熟知。例示性病毒基媒劑包括(但不限於)重組反轉錄病毒(參見例如, PCT公開案第WO 90/07936 ; WO 94/03622 ; WO 93/25698 ; WO 93/25234 ; WO 93/11230 ; WO 93/10218 ; WO 91/02805號 ; U.S美國專利第5, 219,740及4,777,127號 ; GB專利第

2,200,651號；及EP專利第0 345 242號)、 $\alpha$ 病毒基載體(例如，辛德比病毒載體 (Sindbis virus vector)、勝利基森林病毒 (Semliki forest virus)(ATCC VR-67；ATCC VR-1247)、羅斯河病毒 (Ross River virus)(ATCC VR-373；ATCC VR-1246)及委內瑞拉馬腦炎病毒 (Venezuelan equine encephalitis virus) (ATCC VR-923；ATCC VR-1250；ATCC VR 1249；ATCC VR-532))及腺相關病毒(AAV)載體(參見例如，PCT公開案第WO 94/12649、WO 93/03769；WO 93/19191；WO 94/28938；WO 95/11984及WO 95/00655號)。亦可如Curiel, Hum. Gene Ther., 1992, 3:147中所描述，採用DNA連接至經殺滅之腺病毒投與。

【0177】亦可採用非病毒遞送媒劑及方法，包括(但不限於)單獨連接或未連接至經殺滅之腺病毒的多陽離子縮合DNA(參見例如Curiel, Hum. Gene Ther., 1992, 3:147)；配位體連接之DNA(參見例如Wu, J. Biol. Chem., 1989, 264:16985)；真核生物細胞遞送媒劑細胞(參見例如美國專利第5,814,482號；PCT公開案第WO 95/07994號；第WO 96/17072號；第WO 95/30763號；及第WO 97/42338號)及核電荷中和或與細胞膜融合。亦可採用裸DNA。例示性裸DNA引入方法描述於PCT公開案第WO 90/11092號及美國專利第5,580,859號中。可充當基因遞送媒劑之脂質體描述於美國專利第5,422,120號；PCT公開案第WO 95/13796號；第WO 94/23697號；第WO 91/14445號；及第EP 0524968號中。額外方法描述於Philip, Mol. Cell Biol., 1994, 14:2411及Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci., 1994, 91:1581中。

### 【0178】

#### 組合物

本發明亦提供包含有效量之如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白的醫藥組合物。本文中亦描述此類組合物之實例以及如何調配此類組合物。在一些實施例中，該組合物包含一或多個IL-15變體或IL-15融合蛋白。在一些實施例中，該組合物包含：IL-15融合蛋白，其包含PD-1抗體；及人類IL-15變體，其包含位置V49、I50、S51、N4、D30及E64（例如V49N、I50A、S51T、N4K、D30N及E64Q）處之胺基酸取代，其中人類IL-15變體共價連接至抗體之Fc域。在一些實施例中，該組合物包含：人類IL-15融合蛋白，其包含PD-1抗體；及人類IL-15變體，其包含位置E46、V49、E64、D30及N4（例如E46G、V49R、E64Q、D30N及N4K）處之胺基酸取代，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域。在一些實施例中，該組合物包含：人類IL-15融合蛋白，其包含PD-1抗體；及人類IL-15變體，其包含位置N1、D30、E46及V49（例如N1A、D30N、E46G及V49R）處之胺基酸取代，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域。在一些實施例中，該組合物包含：人類IL-15融合蛋白，其包含PD-1抗體；及人類IL-15變體，其包含位置N1、D30、E46、V49及E64（例如N1G、D30N、E46G、V49R及E64Q）處之胺基酸取代，其中IL-15變體共價連接至抗體之Fc域。

**【0179】** 應理解，組合物可包含多於一種IL-15變體或IL-15融合蛋白（例如IL-15變體或包含不同IL-15變體及/或不同抗體之IL-15融合物之混合物）。舉例而言，該組合物包含1)包含PD-1抗體之人類IL-15融合蛋白及包含位置E46G、V49R、E64Q、D30N及N4K處之胺基酸取代之人類IL-15變體；及2)包含PD-1抗體之IL-15融合蛋白及包含位置V49N、I50A、S51T、N4K、D30N及E64Q處之胺基酸取代之人類IL-15變體。在另一實

例中，該組合物包含1)包含PD-1抗體之人類IL-15融合蛋白及包含位置N1A、D30N、E46G及V49R處之胺基酸取代之人類IL-15變體；及2)包含PD-1抗體之IL-15融合蛋白及包含位置N1G、D30N、E46G、V49R及E64Q處之胺基酸取代之人類IL-15變體。

**【0180】** 本發明中所使用之組合物可進一步包含呈凍乾調配物或水溶液形式之醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑(Remington: The Science and practice of Pharmacy 第20版, 2000, Lippincott Williams及Wilkins編 K. E. Hoover)。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在劑量及濃度上對受體無毒，且可包含緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨、苜索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、穀醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或聚葡萄糖；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。本文中將進一步描述醫藥學上可接受之賦形劑。

**【0181】** IL-15變體、IL-15融合蛋白及其組合物亦可與用以增強及/或補充藥劑效果之其他藥劑結合使用或與其他藥劑分開、同時或依次投與。

**【0182】** 本發明亦提供包括醫藥組合物、包含本發明之聚核苷酸中之任一者之組合物。在一些實施例中，該組合物包含一種包含編碼如本文所描述之IL-15變體及IL-15融合蛋白之聚核苷酸的表現載體。在其他實施例中，該組合物包含一種包含編碼本文所描述之IL-15變體及IL-15融合蛋白中之任一者之聚核苷酸的表現載體。

### **【0183】**

#### **使用IL-15變體及IL-15融合蛋白預防或治療病況之方法**

本發明之IL-15變體及IL-15融合蛋白適用於各種應用，包括(但不限於)治療性治療方法及診斷性治療方法。

**【0184】** 在一個態樣中，本發明提供一種用於治療癌症之方法。在一些實施例中，治療個體之癌症之方法包含向有需要之個體投與有效量之包含如本文所描述之IL-15變體及IL-15融合蛋白中之任一者的組合物(例如醫藥組合物)。如本文所使用，癌症可為固體癌症或液體癌症。固體癌症包括(但不限於)胃癌、小腸癌、肉瘤、頭頸癌(例如頭頸部鱗狀細胞癌)、胸腺癌、上皮癌、唾液腺癌、肝癌、膽癌、神經內分泌腫瘤、胃癌、甲狀腺癌、肺癌、間皮瘤、卵巢癌、乳癌、前列腺癌、食道癌、胰臟癌、神經膠瘤、腎癌(例如腎細胞癌)、膀胱癌、子宮頸癌、子宮癌、外陰癌、陰莖癌、睪丸癌、肛門癌、絨膜癌、結腸直腸癌、口腔癌、皮膚癌、梅克爾細胞癌、神經膠母細胞瘤、腦瘤、骨癌、眼癌及黑色素瘤。

**【0185】** 液體癌症包括(但不限於)多發性骨髓瘤、惡性漿細胞贅瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、結節性淋巴球為主型之霍奇金氏淋巴瘤、卡勒氏病(Kahler's disease)及骨髓性白血病、漿細胞白血病、漿細胞瘤、B細胞前淋巴球性白血病、毛細胞白血病、B細胞非霍奇

金氏淋巴瘤(NHL)、急性骨髓白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、急性淋巴球性白血病(ALL)、慢性骨髓性白血病(CML)、濾泡性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞淋巴瘤、骨髓白血病、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、黏膜相關淋巴組織淋巴瘤、小細胞淋巴球性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、原發性縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、淋巴漿細胞淋巴瘤、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia)、結邊緣區B細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、淋巴瘤樣肉芽腫、富T細胞/組織細胞大B細胞淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、原發性皮膚瀰漫性大B細胞淋巴瘤(腿型)、老年人之EBV陽性瀰漫性大B細胞淋巴瘤、與炎症相關之瀰漫性大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、ALK陽性大B細胞淋巴瘤、漿母細胞淋巴瘤、在HHV8相關之多中心卡斯特爾曼病(Castleman disease)中出現之大B細胞淋巴瘤、未用瀰漫性大B細胞淋巴瘤與伯基特淋巴瘤之間的特徵中間物分類之B細胞淋巴瘤、未用瀰漫性大B細胞淋巴瘤與典型霍奇金淋巴瘤之間的特徵中間物分類之B細胞淋巴瘤及其他造血細胞相關之癌症。

【0186】 在一些實施例中，癌症為復發性、難治性或轉移性的。

【0187】 在一些實施例中，提供一種抑制個體之腫瘤生長或進展的方法，其包含向有需要之個體投與有效量之包含如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白的組合物。在一些實施例中，提供一種抑制個體之癌細胞之癌轉移的方法，其包含向有需要之個體投與有效量之包含如本文所

描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白中之任一者的組合物。在其他實施例中，提供一種誘發個體之腫瘤消退之方法，其包含向有需要之個體投與有效量之包含如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白中之任一者的組合物。

**【0188】** 在另一態樣中，提供一種偵測、診斷及/或監測癌症之方法。舉例而言，如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白可用可偵測部分，諸如顯影劑及酶-受質標籤標記。如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白亦可用於活體內診斷分析，諸如活體內成像(例如PET或SPECT)或染色試劑。

**【0189】** 在一些實施例中，本文所描述之方法進一步包含用其他療法形式治療個體之步驟。在一些實施例中，其他療法形式為其他抗癌療法，包括(但不限於)化學療法、輻射、手術、激素療法及/或其他免疫療法。

**【0190】** 關於本文中所描述之所有方法，提及IL-15變體或IL-15融合蛋白亦包括包含一或多種額外藥劑之組合物。此等組合物可進一步包含此項技術中熟知之適合賦形劑，諸如醫藥學上可接受之賦形劑，包括緩衝劑。本發明可單獨使用或與其他治療方法組合使用。

**【0191】** 可經由任何適合的途徑向個體投與如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白。熟習此項技術者應顯而易知，本文所描述之實例不意欲限制而是說明可供使用之技術。因此，在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白根據已知方法向個體投與，該等方法諸如靜脈內投藥，例如作為大丸劑或藉由經一段時間之連續輸注、藉由肌肉內、腹膜內、腦脊髓內、經皮、皮下、關節內、舌下、滑膜內、藉由吹入、鞘內、

經口、吸入或局部途徑。投與可為全身性的(例如靜脈內投與)或局部的。包括噴嘴式噴霧器及超音波噴霧器之供液體調配物用之市售噴霧器適用於投與。液體調配物可直接霧化且凍乾粉末可在復原之後霧化。替代地，IL-15變體或IL-15融合蛋白可使用碳氟化合物調配物及定劑量吸入器霧化，或以凍乾及經研磨之粉末形式吸入。

**【0192】** 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白經由位點特異性或靶向局部遞送技術投與。位點特異性或靶向局部遞送技術之實例包括IL-15變體或IL-15融合蛋白之各種可植入貯存源；或局部遞送導管，諸如輸注導管、留置導管或針導管；合成移植物；外膜包覆；分流器及血管支架或其他可植入裝置；位點特異性載體，直接注射或直接施用。參見例如PCT公開案第WO 00/53211號及美國專利第5,981,568號。

**【0193】** IL-15變體或IL-15融合蛋白之各種調配物可用於投與。在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白可單獨投與。在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白及醫藥學上可接受之賦形劑可在各種調配物中。醫藥學上可接受之賦形劑為此項技術中已知，且為促進投與藥理學上有效物質之相對惰性物質。舉例而言，賦形劑可給予形式或稠度，或充當稀釋劑。適合賦形劑包括(但不限於)穩定劑、濕潤劑及乳化劑、改變容積滲透濃度之鹽、囊封劑、緩衝劑及皮膚滲透增強劑。賦形劑以及用於非經腸及經腸藥物遞送之調配物闡述於 Remington, *The Science and Practice of Pharmacy* 第20版 Mack Publishing, 2000中。

**【0194】** 在一些實施例中，調配此等試劑用於藉由注射(例如，經腹膜內、經靜脈內、經皮下、經肌內等)投與。因此，此等藥劑可與醫藥學上可接受之媒劑組合，諸如生理鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)、

右旋糖溶液及其類似物。特定劑量方案，亦即，劑量、時序及重複將視特定個體及彼個體之病史而定。

**【0195】** 本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白可使用任何適合之方法投與，包括藉由注射(例如腹膜內、靜脈內、皮下、肌內等)。IL-15變體或IL-15融合蛋白亦可局部或經由吸入投與，如本文所描述。一般而言，對於IL-15變體或IL-15融合蛋白之投與，可每日、每週、每隔一週、每三週、每四週、每五週、每六週、每七週、每八週、每十週、每十二週或多於每十二週投與候選劑量。經數日或更長時間重複投與時，視病況而定，持續治療直至症狀發生所需抑制或直至達成足夠治療水準，例如減輕與癌症相關之症狀。此療法之進程易於藉由習知技術及分析來監測。可隨時間推移改變給藥方案(包括所使用之特異性IL-15變體或IL-15融合蛋白)。

**【0196】** 在一些實施例中，視上文所提及之因素而定，每日投與候選劑量的劑量範圍為約1 µg/kg至30 µg/kg至300 µg/kg至3 mg/kg、至30 mg/kg、至100 mg/kg或更多中之任一者。舉例而言，可使用約0.01 mg/kg、約0.03 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約1 mg/kg、約2.5 mg/kg、約3 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg及約25 mg/kg之每日劑量。

**【0197】** 在一些實施例中，視上文所提及之因素而定，每週投與候選劑量的劑量範圍為約1 µg/kg至30 µg/kg至300 µg/kg至3 mg/kg、至30 mg/kg、至100 mg/kg或更多中之任一者。舉例而言，可使用約0.01 mg/kg、約0.03 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.5 mg/kg、約1 mg/kg、約2.5 mg/kg、約3 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg、約15

mg/kg、約25 mg/kg及約30 mg/kg之每週劑量。

【0198】 在一些實施例中，視上文所提及之因素而定，每兩週投與候選劑量的劑量範圍為約1 µg/kg至30 µg/kg至300 µg/kg至3 mg/kg、至30 mg/kg、至100 mg/kg或更多中之任一者。舉例而言，可使用約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約1 mg/kg、約2.5 mg/kg、約3 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg、約25 mg/kg及約30 mg/kg之每兩週一次劑量。

【0199】 在一些實施例中，視上文所提及之因素而定，每三週投與候選劑量的劑量範圍為約1 µg/kg至30 µg/kg至300 µg/kg至3 mg/kg、至30 mg/kg、至100 mg/kg或更多中之任一者。舉例而言，可使用約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約1 mg/kg、約2.5 mg/kg、約3 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg、約25 mg/kg、約30 mg/kg、約35 mg/kg、約40 mg/kg、約45 mg/kg及約50 mg/kg之每三週一次劑量。

【0200】 在一些實施例中，視上文所提及之因素而定，每月或每四週投與候選劑量的劑量範圍為約1 µg/kg至30 µg/kg至300 µg/kg至3 mg/kg、至30 mg/kg、至100 mg/kg或更多中之任一者。舉例而言，可使用約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約1 mg/kg、約2.5 mg/kg、約3 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg、約25 mg/kg、約30 mg/kg、約35 mg/kg、約40 mg/kg、約45 mg/kg及約50 mg/kg之每月劑量。

【0201】 在其他實施例中，視上文所提及之因素而定，每日投與候選劑量的劑量範圍為約0.01 mg至約1200 mg或更多。舉例而言，可使用約0.01 mg、約0.1 mg、約1 mg、約10 mg、約50 mg、約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800

mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg或約1200 mg之每日劑量。

【0202】 在其他實施例中，視上述因素而定，每週投與候選劑量的劑量範圍為約0.01 mg至約2000 mg或更多。舉例而言，可使用約0.01 mg、約0.1 mg、約1 mg、約10 mg、約50 mg、約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mg、約1400 mg、約1500 mg、約1600 mg、約1700 mg、約1800 mg、約1900 mg或2000 mg之每週劑量。

【0203】 在其他實施例中，視上文所提及之因素而定，每兩週投與候選劑量的劑量範圍為約0.01 mg至約2000 mg或更多。舉例而言，可使用約0.01 mg、約0.1 mg、約1 mg、約10 mg、約50 mg、約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mg、約1400 mg、約1500 mg、約1600 mg、約1700 mg、約1800 mg、約1900 mg或2000 mg之每兩週一次劑量。

【0204】 在其他實施例中，視上文所提及之因素而定，每三週投與候選劑量的劑量範圍為約0.01 mg至約2500 mg或更多。舉例而言，可以使用約0.01 mg、約0.1 mg、約1 mg、約10 mg、約50 mg、約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mg、約1400 mg、約1500 mg、約1600 mg、約1700 mg、約1800 mg、約1900 mg、約2000 mg、約2100 mg、約2200 mg、約2300 mg、約2400 mg或約2500 mg之每三週一次劑量。

【0205】 在其他實施例中，視上文所提及之因素而定，每四週或每月投與候選劑量的劑量範圍為約0.01 mg至約3000 mg或更多。舉例而言，可使用約0.01 mg、約0.1 mg、約1 mg、約10 mg、約50 mg、約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mg、約1400 mg、約1500 mg、約1600 mg、約1700 mg、約1800 mg、約1900 mg、約2000 mg、約2100 mg、約2200 mg、約2300 mg、約2400 mg、約2500 mg、約2600 mg、約2700 mg、約2800 mg、約2900 mg或約3000 mg之每月劑量。

【0206】 在一些實施例中，本發明之治療劑以約1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約600  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或更多，約6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約600  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，約6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，約30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約600  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或約30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 範圍內之劑量投與。舉例而言，可使用約1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約35  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約45  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約55  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約65  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約80  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約85  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約90  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約95  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約100  $\mu\text{g}$ 、約110  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約120  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約130  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約140  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約150  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約160  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約170  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約180  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約190  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約210  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約220  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約230  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約240  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約260  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約270  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約280  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約290  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約350  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約400  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約450  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約550  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或約600  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之投與劑量。

【0207】 出於本發明之目的，IL-15變體或IL-15融合蛋白之適當的劑量將視所採用之IL-15變體或IL-15融合蛋白(或其組合物)、待治療症狀之類型及嚴重程度、是否出於預防或治療目的投與藥劑、先前療法、患者之臨床病史及藥劑響應、所投與之藥劑之患者之清除率及主治醫師之判斷而定。典型地，臨床師將投與IL-15變體或IL-15融合蛋白直至達到實現所需結果之劑量。劑量及/或頻率可在治療過程內變化。經驗考慮因素，諸如半衰期一般將促進劑量之測定。投與頻率可加以確定且在治療過程中加以調整，且通常(但不一定)基於癌症之治療及/或抑制及/或改善及/或延遲。替代地，IL-15變體或IL-15融合蛋白之持久連續釋放調配物可為適當的。各種調配物及達成持續釋放之裝置為此項技術中已知。

【0208】 在一個實施例中，可憑經驗在已給予IL-15變體或IL-15融合蛋白之一或多次投與之個體中測定IL-15變體或IL-15融合蛋白之劑量。舉例而言，向個體給予遞增劑量之IL-15變體或IL-15融合蛋白。為評估療效，可根據疾病之指示物。

【0209】 根據本發明中之方法投與如本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白可為連續性或間歇性的，視例如接收者之生理條件、投與目的為治療劑或預防性及熟習從業者已知的其他因素而定。投與IL-15變體或IL-15融合蛋白可基本上在預選時間段內連續或可以一系列間隔劑量投與。

【0210】 在一些實施例中，可存在多於一種IL-15變體或IL-15融合蛋白。可存在至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種、至少五種不同或更多種IL-15變體或IL-15融合蛋白。一般而言，彼等IL-15變體或IL-15融合蛋白可具有不會不利地影響彼此之互補活性。

【0211】 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白可與一或多種額外治療劑之投與組合投與。此等包括(但不限於)投與生物治療劑、化學治療劑、疫苗、基於CAR-T細胞之療法、放射線療法、另一細胞介素療法(例如免疫刺激細胞介素，包括刺激免疫反應之各種信號傳導蛋白質，諸如干擾素、介白素及造血生長因子)、疫苗、其他免疫抑制路徑抑制劑、血管生成抑制劑、T細胞活化劑、代謝路徑抑制劑、mTOR (雷帕黴素(rapamycin)之機理性標靶)抑制劑(例如雷帕黴素、雷帕黴素衍生物、西羅莫司(sirolimus)、替西羅莫司(temsirolimus)、依維莫司(everolimus)及地磷莫司(deforolimus))、腺苷路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑(包括(但不限於)因塔(inlyta))、ALK (退行性淋巴瘤激酶)抑制劑(例如克卓替尼(crizotinib)、色瑞替尼(ceritinib)、艾樂替尼(alectinib)及舒尼替尼(sunitinib))、BRAF抑制劑(例如維羅非尼(vemurafenib)及達拉菲尼(dabrafenib))、表觀遺傳改質劑、Treg細胞及/或骨髓衍生之抑制細胞之抑制劑或耗竭劑(depletor)、JAK (傑納斯激酶(Janus Kinase))抑制劑(例如盧佐替尼(ruxolitinib)及托伐替尼(tofacitinib)、維力替尼(varicitinib)、非戈替尼(filgotinib)、甘多替尼(gandotinib)、來他替尼(lestaurtinib)、莫羅替尼(momelotinib)、帕瑞替尼(pacritinib)及烏帕替尼(upadacitinib))、STAT (信號轉導子及轉錄活化劑)抑制劑(例如STAT1、STAT3及STAT5抑制劑，諸如氟達拉濱(fludarabine))、週期蛋白依賴型激酶抑制劑、免疫原性劑(例如減毒癌細胞、腫瘤抗原、抗原呈遞細胞(諸如用腫瘤衍生抗原或核酸脈衝處理之樹突狀細胞)、MEK抑制劑(例如曲美替尼(trametinib)、考比替尼(cobimetinib)、畢尼替尼(binimetinib)及司美替尼(selumetinib))、GLS1抑制劑、PAP抑制劑、溶瘤病毒、IDO (吡嗪胺-吡

咯2,3-雙加氧酶)抑制劑、PRR (圖案辨識受體)促效劑及具有編碼免疫刺激細胞介素，諸如(但不限於) GM-CSF之基因的經轉染之細胞)。

【0212】 在一些實施例中，例示性免疫刺激細胞介素包括(但不限於)GM-CSF、G-CSF、IFN $\gamma$ 、IFN $\alpha$ ；IL-2 (例如地尼白介素)、IL-6、IL-7、IL-10、IL-11、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21及TNF $\alpha$ 。在一些實施例中，細胞介素為聚乙二醇化的(例如聚乙二醇化IL-2、IL-10、IFN $\gamma$ 及IFN $\alpha$ )。

【0213】 圖案辨識受體(PRR)為由免疫系統細胞表現且識別與病原體及/或細胞損傷或死亡相關之多種分子之受體。PRR涉及先天性免疫反應及後天性免疫反應兩者。PRR促效劑可用於刺激個體之免疫反應。存在多種類別之PRR分子，包括鐸樣受體(TLR)、RIG-I類受體(RLR)、核苷酸結合低聚區域(NOD)類受體(NLR)、C-類型凝集素受體(CLR)及干擾素基因(STING)蛋白質之刺激劑。

【0214】 術語「TLR」及「鐸樣受體」係指任何鐸樣受體。鐸樣受體為涉及活化免疫反應之受體。TLR識別例如微生物中表現之病原體相關分子模式(PAMP)以及自死亡或染色細胞釋放之內源性損傷相關分子圖案(DAMP)。

【0215】 活化TLR (且從而活化免疫反應)之分子在本文中稱作「TLR促效劑」。TLR促效劑可包括例如小分子(例如具有低於約1000道爾頓之分子量之有機分子)以及大分子(例如寡核苷酸及蛋白質)。某些TLR促效劑對單一類型之TLR (例如TLR3或TLR9)具有特異性，同時某些TLR促效劑活化兩種或多於兩種類型之TLR (例如TLR7及TLR8兩者)。

【0216】 本文所提供之例示性TLR促效劑包括TLR2、TLR3、

TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8及TLR9之促效劑。

【0217】 例示性小分子TLR促效劑包括例如美國專利第4,689,338號、第4,929,624號、第5,266,575號、第5,268,376號、第5,346,905號、第5,352,784號、第5,389,640號、第5,446,153號、第5,482,936號、第5,756,747號、第6,110,929號、第6,194,425號、第6,331,539號、第6,376,669號、第6,451,810號、第6,525,064號、第6,541,485號、第6,545,016號、第6,545,017號、第6,573,273號、第6,656,938號、第6,660,735號、第6,660,747號、第6,664,260號、第6,664,264號、第6,664,265號、第6,667,312號、第6,670,372號、第6,677,347號、第6,677,348號、第6,677,349號、第6,683,088號、第6,756,382號、第6,797,718號、第6,818,650號、第7,7091,214號；美國專利公開案第2004/0091491號、第2004/0176367號及第2006/0100229號；及國際公開案第WO 2005/18551號、第WO 2005/18556號、第WO 2005/20999號、第WO 2005/032484號、第WO 2005/048933號、第WO 2005/048945號、第WO 2005/051317號、第WO 2005/051324號、第WO 2005/066169號、第WO 2005/066170號、第WO 2005/066172號、第WO 2005/076783號、第WO 2005/079195號、第WO 2005/094531號、第WO 2005/123079號、第WO 2005/123080號、第WO 2006/009826號、第WO 2006/009832號、第WO 2006/026760號、第WO 2006/028451號、第WO 2006/028545號、第WO 2006/028962號、第WO 2006/029115號、第WO 2006/038923號、第WO 2006/065280號、第WO 2006/074003號、第WO 2006/083440號、第WO 2006/086449號、第WO 2006/091394號、第WO 2006/086633號、第WO 2006/086634號、第WO 2006/091567號、第WO 2006/091568號、

第WO 2006/091647號、第WO 2006/093514號及第WO 2006/098852號中揭示之彼等者。

**【0218】** 小分子TLR促效劑之額外實例包括某些嘌呤衍生物(諸如美國專利第6,376,501號及第6,028,076號中所描述之彼等者)、某些咪唑并噻啉醯胺衍生物(諸如美國專利第6,069,149號中所描述之彼等者)、某些咪唑吡啶衍生物(諸如美國專利第6,518,265號中所描述之彼等者)、某些苯并咪唑衍生物(諸如美國專利第6,387,938號中所描述之彼等者)、融合至五員含氮雜環之4-胺基嘧啶之某些衍生物(諸如美國專利第6,376,501號、第6,028,076號及第6,329,381號及WO 02/08905中所描述之腺嘌呤衍生物)及某些3-β-D-呋喃核糖基噻唑并[4,5-d]嘧啶衍生物(諸如美國公開案第2003/0199461號中所描述之彼等者)及某些小分子免疫增效劑化合物，諸如例如美國專利公開案第2005/0136065號中所描述之彼等者。

**【0219】** 例示性大分子TLR促效劑包括為寡核苷酸序列。某些TLR促效劑寡核苷酸序列含有胞嘧啶-鳥嘌呤二核苷酸(CpG)且描述於例如美國專利第6,194,388號、第6,207,646號、第6,239,116號、第6,339,068號及第6,406,705號中。某些含有CpG之寡核苷酸可包括合成免疫調節結構基元，諸如描述於例如美國專利第6,426,334號及第6,476,000號中之彼等者。其他TLR促效劑核苷酸序列缺少CpG序列且描述於例如國際專利公開案第WO 00/75304號中。又其他TLR促效劑核苷酸序列包括鳥苷及尿苷富集單股RNA (ssRNA)，諸如描述於例如Heil等人，*Science*, 第303卷，第1526頁至第1529頁, 3月5日, 2004中之彼等者。

**【0220】** 其他TLR促效劑包括生物分子，諸如胺基烷基胺基葡糖苷磷酸鹽(AGP)且描述於例如美國專利第6,113,918號、第6,303,347號、第

6,525,028號及第6,649,172號中。

【0221】 TLR促效劑亦包括不活化病原體或其溶離份，其可活化多種不同類型的TLR受體。例示性病原體衍生之TLR促效劑包括BCG、奧布分支桿菌(*mycobacterium obuense*)提取物、塔里穆尼拉赫帕雷普韋克(Talimogene laherparepvec, T-Vec) (來源於HSV-1)及Pexa-Vec (來源於牛痘病毒)。

【0222】 在一些實施例中，TLR促效劑可為特異性結合於TLR之促效劑抗體。

【0223】 在一些實施例中，生物治療劑為抗體，包括(但不限於)抗CTLA-4抗體、抗CD3抗體、抗CD4抗體、抗CD8抗體、抗4-1BB抗體、抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗TIM3抗體、抗LAG3抗體、抗TIGIT抗體、抗OX40抗體、抗IL-7R $\alpha$  (CD127)抗體、抗IL-8抗體、抗IL-15抗體、抗HVEM抗體、抗BTLA抗體、抗CD40抗體、抗CD40L抗體、抗CD47抗體、抗CSF1R抗體、抗CSF1抗體、抗IL-7R抗體、抗MARCO抗體、抗CXCR4抗體、抗VEGF抗體、抗VEGFR1抗體、抗VEGFR2抗體、抗TNFR1抗體、抗TNFR2抗體、抗CD3雙特異性抗體、抗CD19抗體、抗CD20、抗Her2抗體、抗EGFR抗體、抗ICOS抗體、抗CD22抗體、抗CD52抗體、抗CCR4抗體、抗CCR8抗體、抗CD200R抗體、抗VISG4抗體、抗CCR2抗體、抗LILRb2抗體、抗CXCR4抗體、抗CD206抗體、抗CD163抗體、抗KLRG1抗體、抗FLT3抗體、抗B7-H4抗體、抗B7-H3抗體、KLRG1抗體、BTN1A1抗體、BCMA抗體或抗GITR抗體。

【0224】 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與免疫細胞介素組合使用。在一些實施例中，免疫細胞介素包含共軛或融合至細胞介素(例如融合蛋白)之抗體或其片段。在一些實施例中，抗體或其片段結合

纖維結合蛋白之額外區域-A (EDA)同功異型物(例如抗EDA抗體)。舉例而言，抗EDA抗體或其片段包含SEQ ID NO:94中所示之重鏈可變(VH)區之CDR1、CDR2及CDR3及/或SEQ ID NO:96中所示之輕鏈可變(VL)區之CDR1、CDR2及CDR3。在一些實施例中，抗EDA抗體或其片段包含具有SEQ ID NO:94之胺基酸序列之VH區及/或具有SEQ ID NO:96之胺基酸序列之VL區。在一些實施例中，細胞介素為IL-10。舉例而言，IL-10可包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列。在一些實施例中，免疫細胞介素包含至少一個連接子。舉例而言，連接子可包含SEQ ID NO:95及/或97。在一些實施例中，免疫細胞介素為包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列之抗EDA-IL-10融合蛋白(表1.3，帶下劃線的CDR)。

## 【0225】

表1.3

SEQ NO:	ID	序列
94	抗 EDA Ab VH	EVQLLES <span style="text-decoration: underline;">GGGLVQPGGSLRLS</span> CAASGFTFS <span style="text-decoration: underline;">LFT</span> MSWVRQAPGKGLWVS A <span style="text-decoration: underline;">ISGSGGST</span> YYADSVKGRFTISRDN <span style="text-decoration: underline;">SKNTLYLQMN</span> SLRAEDTAVYYCAK <span style="text-decoration: underline;">STHLYL</span> FDYWGQGLTVSS
95	連接子	<i>ggsgg</i>
96	抗 EDA Ab VL	EIVLTQSPGTL <span style="text-decoration: underline;">SLSPGERATL</span> SCRASQSVS <span style="text-decoration: underline;">MPFLAWY</span> QQKPGQAPRLLIY <span style="text-decoration: underline;">GASSRAT</span> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <span style="text-decoration: underline;">QMRGRP</span> PTFG QGTKVEIK
97	連接子	<i>sssgsssgsssg</i>
98	IL-10	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLK ESLLEDFKGYLGCAQALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENL KTLRLRLRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFIN YIEAYMTMKIRN
99	抗 EDA-IL-10融合蛋白	EVQLLES <span style="text-decoration: underline;">GGGLVQPGGSLRLS</span> CAASGFTFS <span style="text-decoration: underline;">LFT</span> MSWVRQAPGKGLEWV SA <span style="text-decoration: underline;">ISGSGGST</span> YYADSVKGRFTISRDN <span style="text-decoration: underline;">SKNTLYLQMN</span> SLRAEDTAVYYCA K <span style="text-decoration: underline;">STHLYL</span> FDYWGQGLTVSS <i>ggsgg</i> EIVLTQSPGTL <span style="text-decoration: underline;">SLSPGERATL</span> SCRAS QSVS <span style="text-decoration: underline;">MPFLAWY</span> QQKPGQAPRLLIY <span style="text-decoration: underline;">GASSRAT</span> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <span style="text-decoration: underline;">QMRGRP</span> PTFGQGTKVEIK <i>sssgsssgsssg</i> SPGQGTQSEN SCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFK GYLGCAQALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLRLRLR RCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMT MKIRN

【0226】 因此，在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與例如以下結合使用：抗PD-L1拮抗劑抗體；抗PD-1拮抗劑抗體，諸如納武單抗 (nivolumab) (OPDIVO®)、帕博利珠單抗 (pembrolizumab) (KEYTRUDA®)、mAb7 (例如如以引用之方式併入本文中之美國公開案第US20160159905號中所描述)及皮立珠單抗(pidilizumab)；抗CTLA-4拮抗劑抗體，諸如伊派利單抗(ipilimumab) (YERVOY®)；抗LAG-3拮抗劑抗體，諸如BMS-986016及IMP701；抗TIM-3拮抗劑抗體；抗B7-H3拮抗劑抗體，諸如MGA271；抗VISTA拮抗劑抗體；抗TIGIT拮抗劑抗體；抗CD28拮抗劑抗體；抗CD80抗體；抗CD86抗體；抗B7-H4拮抗劑抗體；抗ICOS促效劑抗體；抗CD28促效劑抗體；先天性免疫反應調節劑 (例如TLR、KIR、NKG2A)及IDO抑制劑。在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與4-1BB (CD137)促效劑，諸如PF-05082566或烏瑞魯單抗(urelumab) (BMS-663513)結合使用。在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與OX40促效劑，諸如抗OX-40促效劑抗體結合使用。在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與GITR促效劑，諸如TRX518結合使用。在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與IDO抑制劑結合使用。在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與細胞介素療法，諸如(但不限於) (聚乙二醇化或未聚乙二醇化) IL-2、IL-10、IL-12、IL-7、IL-15、IL-21、IL-33、CSF-1、MCSF-1等結合使用。

【0227】 在一些實施例中，用於與本發明之IL-15變體或IL-15融合蛋白組合使用之抗體之其他實例可涉及5T4；A33； $\alpha$ -葉酸受體1 (例如米爾唯土西單抗索拉夫坦辛(mirvetuximab soravtansine))；Alk-1；CA-125 (例如阿巴伏單抗(abagovomab))；碳酸酐酶IX；CCR2；CCR4 (例如莫格

利珠單抗(mogamulizumab))；CCR5（例如勒榮單抗(leronlimab))；CCR8；CD3 [例如布林莫單抗(blinatumomab) (CD3/CD19雙特異性)、PF-06671008 (CD3/P-鈣黏素雙特異性)、PF-06863135 (CD3/BCMA雙特異性)、CD25；CD28；CD30（例如貝倫妥單抗維多汀(brentuximab vedotin))；CD33（例如吉妥珠單抗奧佐米星(gemtuzumab ozogamicin))；CD38（例如達雷木單抗(daratumumab)、伊薩土西單抗(isatuximab))、CD44v6；CD63；CD79（例如保納珠單抗維多汀(polatuzumab vedotin))；CD80；CD123；CD276/B7-H3（例如奧伯單抗(omburtamab))；CDH17；CEA；ClhCG；橋粒黏蛋白(desmoglein) 4；DLL3（例如若瓦匹珠單抗特西林(rovalpituzumab tesirine))；DLL4；E-鈣黏素；EDA；EDB；EFNA4；EGFR（例如西妥昔單抗(cetuximab)、德帕土西珠單抗馬佛多坦(depatuxizumab mafodotin)、萊西單抗(necitumumab)、帕尼單抗(panitumumab))；EGFRvIII；內皮唾酸蛋白(Endosialin)；EpCAM（例如奧普珠單抗莫納托克斯(oportuzumab monatox))；FAP；胚胎乙醯膽鹼受體；FLT3（例如參見WO2018/220584）；GD2（例如迪奴圖單抗(dinutuximab), 3F8)；GD3；GloboH；GM1；GM2；HER2/neu [例如馬爾吉土西單抗(margetuximab)、帕妥珠單抗(pertuzumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)；曲妥珠單抗-美坦新偶聯物、曲妥珠單抗多卡美辛(duocarmazine)、PF-06804103（參見US8828401)]；HER3；HER4；ICOS；IL-10；ITG-AvB6；LAG-3（例如瑞拉單抗(relatlimab))；路易斯-Y；LG；Ly-6；M-CSF [例如PD-0360324（參見US7326414)]；MCSP；間皮素；MUC1；MUC2；MUC3；MUC4；MUC5AC；MUC5B；MUC7；MUC16；

Notch1 ; Notch3 ; 黏附分子-4 (例如因福土單抗維多汀(enfortumab vedotin)) ; P-鈣黏著蛋白[例如PF-06671008 (參見WO2016/001810)] ; PCDHB2 ; PDGFRA (例如奧拉單抗(olaratumab)) ; 漿細胞抗原 ; PolySA ; PSCA ; PSMA ; PTK7 [例如PF-06647020 (參見US9409995)] ; Ror1 ; SAS ; SCR<sub>x</sub>6 ; SLAMF7 (例如埃羅妥珠單抗(elotuzumab)) ; SHH ; SIRPa (例如ED9、Effi-DEM) ; STEAP ; TGF- $\beta$  ; TIGIT ; TMPRSS3 ; TNF- $\alpha$ 前驅體 ; TROP-2 (例如薩西土珠單抗戈維特坎(sacituzumab govitecan)) ; TSPAN8 ; 及Wue-1 。

**【0228】** 化學治療劑之實例包括烷基化劑，諸如噻替派及環磷醯胺；磺酸烷基酯，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醯(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；仲乙亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺、曲他胺、三仲乙基磷醯胺、三仲乙基硫代磷醯胺及三甲基三聚氰胺；多聚乙醯(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))；喜樹鹼(包括合成類似物拓朴替康)；苔蘚蟲素；海洋抑素；CC-1065 (包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；念珠藻環肽(尤其克瑞托欣1及克瑞托欣8)；海兔毒素(dolastatin)；倍癌黴素(duocarmycin) (包括合成類似物KW-2189及CBI-TMI)；艾榴素(eleutherobin)；盤克斯塔叮(pancratistatin)；匍枝珊瑚醇(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥，諸如氮芥苯丁酸、萘氮芥、氮磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺、二氯甲二乙胺、氮芥氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新氮芥、苯芥膽甾醇(phenesterine)、潑尼氮芥(prednimustine)、曲磷胺、尿嘧啶芥(uracil

mustard)；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氮脲菌素、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素(calicheamicin)，尤其卡奇黴素 $\gamma$ II及卡奇黴素 $\phi$ II，參見例如Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)；達內黴素(dynemicin)，包括達內黴素A；雙膦酸鹽，諸如氮屈膦酸鹽；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新制癌菌素發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素色素體)、阿克拉黴素(aclacinomysins)、放射菌素、安麩黴素、偶氮絲胺酸、博來黴素(bleomycins)、放線菌素C(cactinomycin)、卡拉比辛(carabicin)、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycins)、放線菌素D(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓(doxorubicin)(包括嗎啉基-小紅莓、氰基-N-嗎啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓及去氧小紅莓)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾達黴素(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycins)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑菌素(streptonigrin)、鏈脲菌素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤、硫咪嘌呤、硫烏嘌呤；嘧啶類似物，諸如安

西他濱(ancitabine)、6-氮雜尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二去氧尿苷、去氧氟尿苷、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷；雄激素，諸如卡魯甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、辜內酯(testolactone)；抗腎上腺，諸如胺魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸；乙醯葡萄糖酯；醛磷醯胺糖苷；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比山群(bisantrene)；艾達曲克(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；地美可辛(demecolcine)；地吡醯(diaziquone)；艾福米辛(elformithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃坡黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；香菇多醣(lentinan)；氯尼達明(lonidamine)；類美登素(maytansinoids)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素(ansamitocins)；丙脒脞(mitoguazone)；米托蒽醯(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamol)；尼曲吡啶(nitracrine)；噴司他丁(pentostatin)；苯來美特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醯(losoxantrone)；鬼臼酸；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；雷佐生(razoxane)；根瘤菌素(rhizoxin)；西佐喃(sizofuran)；螺旋鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醯；2,2',2''-三氯三乙胺；單端孢黴烯(trichothecenes) (尤其T-2毒素、弗納庫林(verracurin) A、桿孢菌素(roridin) A及胺癸叮(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(「Ara-C」)；環磷醯

胺；噻替派(thiotepa)；類紫杉醇(taxoids)，例如太平洋紫杉醇(paclitaxel)及多西他賽(doxetaxel)；氮芥苯丁酸；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺喋呤；鉑類似物，諸如卡鉑(carboplatin)；長春鹼(vinblastine)；鉑；依託泊苷(VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌(mitoxantrone)；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)；諾安托(novantrone)；替尼泊甙(teniposide)；依達曲沙(edatrexate)；柔紅黴素(daunomycin)；胺基喋呤；希羅達(xeloda)；伊班膦酸鹽；CPT-11；拓樸異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視黃素，諸如視黃酸；卡培他濱(capecitabine)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。亦包括用來調節或抑制對腫瘤之激素作用之抗激素劑，諸如抗雌激素及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)、雷諾昔芬(raloxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、那洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及托瑞米芬(toremifene)(法樂通(Fareston))；抑制酶芳香酶之芳香酶抑制劑，其調控腎上腺體中之雌激素產生，諸如4(5)-咪唑、胺魯米特(aminoglutethimide)、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)、依西美坦(exemestane)、福美司坦(formestane)、法屈唑(fadrozole)、伏羅唑(vorozole)、來曲唑(letrozole)及阿那曲唑(anastrozole)；及抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯胺(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙立德(leuprolide)、氟羅地爾(fluridil)、阿帕魯胺(apalutamide)、恩雜魯胺(enzalutamide)、西咪替丁(cimetidine)及戈舍瑞林(goserelin)；KRAS抑制劑；MCT4抑制劑；MAT2a抑制劑；酪胺酸激酶抑制劑，諸如舒尼替尼(sunitinib)、阿西替尼

(axitinib)；alk/c-Met/ROS抑制劑，諸如克卓替尼(crizotinib)、勞拉替尼(lorlatinib)；mTOR抑制劑，諸如替西羅莫司(temsirolimus)、吉達力絲(gedatolisib)；src/abl抑制劑，諸如伯舒替尼(bosutinib)；週期蛋白依賴型激酶(CDK)抑制劑，諸如帕博希布(palbociclib)、PF-06873600；erb抑制劑，諸如達可替尼(dacomitinib)；PARP抑制劑，諸如他拉帕瑞(talazoparib)；SMO抑制劑，諸如格拉吉伯(glasdegib)、PF-5274857；EGFR T790M抑制劑，諸如PF-06747775；EZH2抑制劑，諸如PF-06821497；PRMT5抑制劑，諸如PF-06939999；TGFR $\beta$ r1抑制劑，諸如PF-06952229；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。

【0229】 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與一或多種靶向免疫檢查點調節劑之其他治療劑結合使用，該調節劑諸如(但不限於)靶向PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、B7-H3、B7-H4、B7-DC (PD-L2)、B7-H5、B7-H6、B7-H8、B7-H2、B7-1、B7-2、ICOS、ICOS-L、TIGIT、CD2、CD47、CD80、CD86、CD48、CD58、CD226、CD155、CD112、LAIR1、2B4、BTLA、CD160、TIM1、TIM-3、TIM4、VISTA (PD-H1)、OX40、OX40L、GITRL、CD70、CD27、4-1BB、4-BBL、DR3、TL1A、CD40、CD40L、CD30、CD30L、LIGHT、HVEM、SLAM (SLAMF1、CD150)、SLAMF2 (CD48)、SLAMF3 (CD229)、SLAMF4 (2B4、CD244)、SLAMF5 (CD84)、SLAMF6 (NTB-A)、SLAMCF7 (CS1)、SLAMF8 (BLAME)、SLAMF9 (CD2F)、CD28、CEACAM1(CD66a)、CEACAM3、CEACAM4、CEACAM5、CEACAM6、CEACAM7、CEACAM8、CEACAM1-3AS、CEACAM3C2、CEACAM1-15、PSG1-11、CEACAM1-4C1、

CEACAM1-4S、CEACAM1-4L、IDO、TDO、CCR2、CD39-CD73-腺苷路徑(A2AR)、BTKs、TIKs、CXCR2、CCR4、CCR8、CCR5、VEGF路徑、CSF-1之藥劑或先天性免疫反應調節劑。

**【0230】** 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白與生物治療劑及化學治療劑結合使用。舉例而言，提供一種用於治療有需要之個體之癌症的方法，其包含向該個體投與有效量之如其中所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白、抗PD-L1拮抗劑抗體及化學治療劑(例如吉西他濱、甲胺喋呤或鉑類似物)。在一些實施例中，提供一種用於治療有需要之個體之癌症的方法，其包含向該個體投與有效量之如其中所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白、抗PD-1拮抗劑抗體(例如納武單抗(OPDIVO®)、mAb7(例如如以引用之方式併入本文中之美國公開案第US20160159905號中所描述)或帕博利珠單抗(KEYTRUDA®)及化學治療劑(例如吉西他濱、甲胺喋呤或鉑類似物)。在一些實施例中，提供一種用於治療有需要之個體之癌症的方法，其包含向該個體投與有效量之如其中所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白、抗CTLA-4拮抗劑抗體(例如伊派利單抗(YERVOY®))及化學治療劑(例如吉西他濱、甲胺喋呤或鉑類似物)。

**【0231】** 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白療法可以數分鐘至數周範圍內之時間間隔在其他藥劑治療之前或之後。在單獨投與其他藥劑及/或蛋白質或聚核苷酸之實施例中，將一般確保在每次遞送之間有意義的時間段沒有到期，以使得藥劑及本發明之組合物將又能夠對個體發揮有利組合作用。在此類情況下，預期吾人可在彼此之約12-24小時內且更佳在彼此之約6-12小時內投與兩種模態。然而，在一些情況下，在各別投與之間有幾天(2、3、4、5、6或7)至幾週(1、2、3、4、5、6、7或8)

流逝時可能需要顯著延長投與時間段。

【0232】 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白組合物包含選自以下之第二藥劑：克卓替尼、帕博希布、吉西他濱、環磷醯胺、氟尿嘧啶、弗福克斯、醛葉酸、奧賽力鉑、阿西替尼、蘋果酸舒尼替尼、托法替尼、貝伐單抗、利妥昔單抗及曲妥珠單抗。

【0233】 在一些實施例中，IL-15變體或IL-15融合蛋白組合物與進一步包含選自由以下組成之群的傳統療法之治療方案組合：手術、輻射療法、化學療法、靶向療法、免疫療法、激素療法、血管生成抑制及姑息護理。

#### 【0234】

#### 調配物

藉由混合具有所需純度之蛋白質與視情況存在之醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑 (Remington, The Science and Practice of Pharmacy 第20版Mack Publishing, 2000)來製備根據本發明使用之IL-15變體或IL-15融合蛋白之治療劑調配物，以凍乾調配物或水溶液形式儲存。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑所採用之劑量及濃度對受體無毒，且可包含緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；鹽，諸如氯化鈉；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨、苜索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、穀醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、

精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

【0235】 藉由此項技術中已知之方法製備含有IL-15變體或IL-15融合蛋白之脂質體，該等方法諸如描述於Epstein等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985)；Hwang等人, Proc. Natl Acad. Sci. USA 77:4030 (1980)；及美國專利第4,485,045號及第4,544,545號中。具有增加之循環時間的脂質體揭示於美國專利第5,013,556號中。尤其適用之脂質體可藉由反相蒸發方法，使用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及PEG衍生之磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)的脂質組合物產生。脂質體經具有界定孔徑之過濾器擠出，產生具有所需直徑之脂質體。

【0236】 亦可例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合法，將活性成分包埋於所製備之微膠囊中，例如羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，分別包埋於膠體藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米囊劑)中或於巨乳液中。此類技術揭示於Remington, The Science and Practice of Pharmacy 第20版 Mack Publishing (2000)中。

【0237】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半通透性基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與7-L-麩胺酸乙酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降

解之乳酸-乙醇酸共聚物(諸如LUPRON DEPOT™)(由乳酸-乙醇酸共聚物及乙酸亮丙立德(Leuprolide Acetate)構成之可注射微球體)、蔗糖乙酸酯異丁酸鹽及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。

【0238】 用於活體內投與之調配物必須為無菌。此點易於藉由例如經由無菌過濾膜過濾來實現。治療劑IL-15變體或IL-15融合蛋白組合物一般置於具有無菌進入口之容器中，例如具有可由皮下注射針頭刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶。

【0239】 根據本發明之組合物可呈單位劑型，諸如錠劑、丸劑、膠囊、散劑、顆粒、溶液或懸浮液或栓劑，用於口服、非經腸或直腸投與或藉由吸入或吹入投與。

【0240】 對於製備諸如錠劑之固體組合物，將主要活性成分與醫藥載劑(例如習知製錠成分，諸如玉米澱粉、乳糖、蔗糖、山梨糖醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸鎂、磷酸二鈣或膠質)及其他醫藥稀釋劑(例如水)混合，形成含有本發明化合物或其醫藥學上可接受之無毒鹽之均質混合物的固體預調配組合物。當提及此等預調配組合物為均質時，意謂活性成分均勻分散在整個組合物中，使得組合物可易於再分為同等有效之單位劑型，諸如錠劑、丸劑及膠囊。隨後，此固體預調配組合物再分成含有約0.1 mg至約500 mg本發明活性成分之上文所描述之類型之單位劑型。新穎組合物之錠劑或丸劑可經包衣或另外經混配以提供具有延長作用之優勢的劑型。舉例而言，錠劑或丸劑可包含內部劑量及外部劑量組分，後者呈包覆前者之包膜形式。可藉由用以抵抗在胃中崩解且允許內部組分完整進入十二指腸或延遲釋放之腸溶性層將兩種組分隔開。各種材料可用於此類腸溶性層或包衣，該等材料包括多種聚合酸及聚合酸與諸如蟲膠、鯨蠟醇及乙

酸纖維素之材料的混合物。

【0241】 適合表面活性劑尤其包括非離子劑，諸如聚氧化乙烯脫水山梨糖醇(例如Tween™ 20、40、60、80或85)及其他脫水山梨糖醇(例如Span™ 20、40、60、80或85)。具有表面活性劑之組合物宜將包含0.05%與5%之間的表面活性劑，且可在0.1%與2.5%之間。應瞭解，必要時可添加其他成分，例如甘露糖醇，或其他醫藥學上可接受之媒劑。

【0242】 適合的乳液可使用市售脂肪乳液，諸如Intralipid™、Liposyn™、Infonutrol™、Lipofundin™及Lipiphysan™製備。活性成分可溶解於預混乳液組合物中，或者其可溶解於油(例如大豆油、紅花油、棉籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油)及在與磷脂(例如卵磷脂、大豆磷脂或大豆卵磷脂)及水混合時形成的乳液中。應瞭解，可添加其他成分，例如甘油或葡萄糖，以調節乳液張力。適合的乳液將典型地含有高達20%油，例如5%與20%之間。脂肪乳液可包含0.1與1.0 μm、尤其0.1與0.5 μm之間的脂肪滴且具有在5.5至8.0範圍內的pH值。

【0243】 乳液組合物可為藉由將IL-15變體或IL-15融合蛋白與Intralipid™或其組分(大豆油、卵磷脂、甘油及水)混合製備之彼等者。

【0244】 用於吸入或吹入之組合物包括醫藥學上可接受之水性或有機溶劑或其混合物中之溶液及懸浮液，及散劑。液體或固體組合物可含有如上文所闡述之適合的醫藥學上可接受之賦形劑。在一些實施例中，組合物藉由經口或經鼻呼吸途徑投與來達成局部或全身性作用。較佳無菌之醫藥學上可接受之溶劑中的組合物可藉由使用氣體來霧化。霧化溶液可自霧化裝置直接呼吸，或可使霧化裝置附接至面罩、塞條或間歇性正壓呼吸機。溶液、懸浮液或粉末組合物可自以適當方式遞送調配物之裝置較佳經

□或經鼻投與。

## 套組

【0245】本發明亦提供包含本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白任一者或全部的套組。本發明之套組包括一或多個包含本文所描述之IL-15變體或IL-15融合蛋白之容器及根據本文所描述之本發明之方法中之任一者的使用說明書。一般而言，此等說明書包含針對上文所描述之治療劑治療投與IL-15變體或IL-15融合蛋白的描述。在一些實施例中，提供套組用於產生單劑量投與單位。在某些實施例中，套組可含有具有乾燥蛋白質之第一容器及具有水性調配物之第二容器。在某些實施例中，包括含有單室及多室預填充注射器(例如液體注射器及冷凍乾燥物注射器)之套組。

【0246】涉及使用IL-15變體或IL-15融合蛋白之說明書通常包括關於預期治療之劑量、給藥時程及投與途徑的資訊。容器可為單位劑量、散裝(例如多劑量包裝)或次單位劑量。本發明之套組中供應之說明書為典型地在標籤或藥品說明書(例如套組中包括之紙片)上之書面說明書，但機器可讀說明書(例如磁化或光學儲存盤上載有的說明書)亦為可接受的。

【0247】本發明套組呈適合包裝形式。適合的包裝包括(但不限於)小瓶、瓶子、罐、可撓性包裝(例如密封Mylar或塑膠袋)及其類似物。亦涵蓋用於與特定裝置，諸如吸入器、經鼻投與裝置(例如，霧化器)或輸注裝置(諸如小型泵)組合之包裝。套組可具有無菌進入孔(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。容器亦可具有無菌進入孔(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為IL-15變體或IL-15融合蛋白。容器可進一步包含第二醫藥活性劑。

【0248】 套組可視情況提供諸如緩衝劑之額外組分及說明性資訊。通常，套組包含容器及在容器上或與容器相聯之標籤或藥品說明書。

【0249】 提供以下實例僅為達成說明之目的，且不意欲以任何方式限制本發明之範疇。實際上，除了本文所示及所述之修改之外，本發明之各種修改將由熟習此項技術者根據前文描述顯而易知，且屬於所附申請專利範圍之範疇內。

## 【0250】

### 實例

#### 實例1：在條件培養基中製備人類IL-15變體及純化抗體-IL-15融合蛋白

【0251】 此實例說明在條件培養基中產生人類IL-15變體及純化如本文所描述之各種IL-15融合蛋白。

【0252】 以每mL約 $3 \times 10^6$ 個細胞之密度在24孔方框之各孔中將四微克具有如表1至2中所示之突變之各羧基封端8-組胺酸-AVI-標記IL-15突變體之DNA暫時轉染至Expi-293細胞中。在轉染後五天之後，藉由離心採集含有分泌的IL-15突變體之細胞之條件培養基上清液，轉移至96孔方框中且隨後過濾且準備動力學及親和力測定。

【0253】 藉由在Expi-293細胞中以每mL約 $3 \times 10^6$ 個細胞之密度用具有抗體重鏈-IL-15嵌合體、抗體重鏈及抗體輕鏈之DNA質體暫時轉染產生抗體-IL-15融合蛋白(例如具有如表1至2中所示之IL-15突變之PD-1抗體)。在轉染後五天之後，藉由離心採集含有分泌的抗體-IL-15融合蛋白之細胞之上清液且隨後過濾。隨後使用MabSelectSuRe管柱(GE Lifesciences, Marlborough, MA)上之蛋白質A親和性層析、鎳親和性層析、Mono S 5/50 GL或Mono S 10/100 GL管柱(GE Lifesciences,

Marlborough, MA)上之離子交換層析法及HiLoad 16/600 Superdex 200製備級或HiLoad 26/600 Superdex 200製備級管柱(GE Lifesciences, Marlborough, MA)上之尺寸排阻層析，自細胞上清液純化抗體-IL-15融合蛋白。

#### 【0254】

**實例2：測定在37°C下之人類IL-15變體或抗PD-1-hIL-15融合蛋白之動力學及親和力/IL-15R $\alpha$ 及IL-2R $\beta$ 相互作用**

此實例說明在37°C下結合至人類IL-15R $\alpha$ 及人類IL-2R $\beta$ 之各種人類IL-15變體之動力學及親和力。

【0255】 在Biacore 8K或Biacore 4000基於表面電漿子共振之生物感測器(GE Lifesciences, Marlborough, MA)上進行所有實驗。在25°C下用10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05% (v/v)Tween-20之操作緩衝液(pH 7.4)製備抗AVI標記物感測器晶片。以10  $\mu$ L/min之流動速率用400 mM EDC及100 mM NHS之1:1 (v/v)混合物活化Biacore CM4感測器晶片之所有表面7分鐘。在10 mM乙酸鈉(pH 4.5)中將抗Avi試劑(家兔抗Avi標記物，Genscript目錄號A00674-200)稀釋至30  $\mu$ g/mL，且在20  $\mu$ L/min下在全部流量槽上注射7分鐘。全部流量槽均在10  $\mu$ L/min下用200 mM硼酸鹽緩衝液pH 8.5中之100 mM乙二胺封端，歷時7分鐘。

【0256】 所有蛋白質相互作用實驗均在37°C下使用10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05% (v/v) Tween-20 (pH 7.4)、1 mg/mL BSA之操作緩衝液進行。對於在Biacore 4000上進行之實驗，在10  $\mu$ L/min之流動速率下自未經稀釋之上清液於流量槽1、2、3及4上之點1及5上捕獲Avi標記之IL-15變體，歷時2分鐘。在各點上捕獲不同突變體。流

量槽1、2、3及4上之點2及4用作參考表面。在捕獲IL15變體之後，在30  $\mu\text{L}/\text{min}$ 之流動速率下在所有流量槽中注射分析物(緩衝液，12.3 nM、37 nM、111 nM、333 nM及1  $\mu\text{M}$ 濃度之人類IL-15R $\alpha$ 或人類IL-2R $\beta$ )，歷時兩分鐘。在每次分析物注射之後，持續5分鐘監測解離，繼而用三次75 mM磷酸之30秒注射使全部流量槽再生。出於雙重參考目的(如Myszka, D.G., Improving biosensor analysis. *J. Mol. Recognit.* 12, 279-284 (1999)中所描述之雙重參考)，收集各種捕獲的IL-15V49R突變體之循環緩衝液。對於動力學分析，使用Biacore 4000評估軟體版本1.1，使雙重參考感測器圖譜總體擬合單個1:1朗格繆爾(Langmuir)質量傳送結合模型。對於穩態親和力分析，使用Biacore 4000評估軟體版本1.1，使雙重參考均衡結合反應擬合1:1朗格繆爾穩態模型。

【0257】對於在Biacore 8K上進行之實驗，在10  $\mu\text{L}/\text{min}$ 下在各通道中之流量槽2上自未經稀釋之上清液捕獲Avi標記之IL-15變體，歷時2分鐘，同時流量槽1用作參考表面。在各通道中捕獲不同IL-15變體。在捕獲IL-15V49R突變體之後，在兩個流量槽上在30  $\mu\text{L}/\text{min}$ 之流動速率下注射分析物(緩衝液，3.2 nM、16 nM、80 nM、400 nM、1840 nM人類IL-15R $\alpha$ 及0.8 nM、4 nM、20 nM、100 nM、500 nM人類IL-2R $\beta$ )，歷時2分鐘。在每次分析物注射之後，持續10分鐘監測解離，繼而用三次75 mM磷酸之30秒注射使全部流量槽再生。出於雙重參考目的(如Myszka, D.G., Improving biosensor analysis. *J. Mol. Recognit.* 12, 279-284 (1999)中所描述之雙重參考)，收集各種捕獲的IL-15變體之循環緩衝液。對於動力學分析，使用Biacore 8K評估軟體版本1.1.1.7442，使雙重參考感測器圖譜總體擬合單個1:1朗格繆爾質量傳送結合模型。對於穩態親和力分析，使

用Biacore 8K評估軟體版本1.1.1.7442，使雙重參考均衡結合反應擬合1:1朗格繆爾穩態模型。

【0258】 所測試之IL-15變體之動力學及親和力參數展示於表1至2中。術語「IL-15R<sub>su</sub>」係指IL-15R $\alpha$  sushi區域。

【0259】 以下實例測定在37°C下結合至人類IL-15R $\alpha$ 及人類IL-2R $\beta$ 之各種抗PD-1-hIL-15融合蛋白之動力學及親和力。實驗在Biacore T200基於表面電漿子共振之生物感測器(GE Lifesciences, Marlborough, MA)上進行。

【0260】 在25°C下用10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05% (v/v) Tween-20 (pH 7.4)之操作緩衝液製備抗人類Fc感測器晶片。以10  $\mu$ L/min之流動速率用400 mM EDC及100 mM NHS之1:1 (v/v)混合物活化Biacore CM4感測器晶片之所有表面7分鐘。在10 mM乙酸鈉(pH 4.5)中將抗人類Fc試劑(山羊抗人類IgG Fc- $\gamma$ 特異性，SouthernBiotech, Birmingham, AL, 目錄號2014-01)稀釋至50  $\mu$ g/mL且在所有流量槽上在20  $\mu$ L/min下注射7分鐘。全部流量槽均在10  $\mu$ L/min下用200 mM硼酸鹽緩衝液pH 8.5中之100 mM乙二胺封端，歷時7分鐘。

【0261】 所有蛋白質相互作用實驗均在37°C下使用10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05% (v/v) Tween-20 (pH 7.4)、1 mg/mL BSA之操作緩衝液進行。在10  $\mu$ g/mL下以10  $\mu$ L/min之流動速率捕獲抗PD-1-hIL-15融合蛋白，歷時2分鐘。在流量槽2、3及4中捕獲不同融合蛋白。於用作參考表面之流量槽1上捕獲不到蛋白質。在捕獲融合蛋白之後，在所有流量槽中在30  $\mu$ L/min之流動速率下注射分析物(緩衝液，12.3 nM、37 nM、111 nM、333 nM、1000 nM及3000 nM濃度之人類IL-

15R $\alpha$ 或人類IL-2R $\beta$ )，歷時兩分鐘。在每次分析物注射之後，持續5分鐘監測解離，繼而用三次75 mM磷酸之60秒注射使全部流量槽再生。出於雙重參考目的(如Myszka, D.G., Improving biosensor analysis. *J. Mol. Recognit.* **12**, 279-284 (1999)中所描述之雙重參考)，收集各種捕獲的融合蛋白之循環緩衝液。對於動力學分析，使用Biacore T200評估軟體版本2.0，使雙重參考感測器圖譜總體擬合單個1:1朗格繆爾質量傳送結合模型。對於穩態親和力分析，使用Biacore T200評估軟體版本2.0，使雙重參考均衡結合反應擬合1:1朗格繆爾穩態模型。

【0262】 抗PD-1-hIL-15變體融合蛋白之動力學及親和力參數展示於表3-5中。

【0263】

表1.人類IL-15 $\alpha$ 結合降低之非融合人類IL-15變體之動力學及親和力參數：

突變體	hIL-15 $\alpha$ 動力學			hIL-15R $\alpha$ K <sub>D</sub> (nM)	hIL-2R $\beta$ K <sub>D</sub> (nM)	與V49R相比 hIL-15R $\alpha$ 親 和力更低?
	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	t <sub>1/2</sub> (min)			
IL-15Rasu-IL-15	N/A	N/A	N/A	無結合	69.6*	--
IL-15 (野生型)	9.0E+06	2.1E-04	55.85	0.023	31	--
V49R	N/A	N/A	N/A	91.9*	109*	--
V49A	1.27E+06	1.11E-03	10.42	0.874	N/A	否
V49E	N/A	N/A	N/A	43.4*	N/A	否
V49G	1.69E+06	7.33E-03	1.58	4.32	N/A	否
V49H	N/A	N/A	N/A	28.5*	N/A	否
V49K	N/A	N/A	N/A	241*	86.6*	是
V49N	2.07E+06	3.85E-03	3.00	1.86	N/A	否
V49Q	1.56E+06	1.28E-02	0.91	8.17	N/A	否
V49S	2.06E+06	2.77E-03	4.17	1.34	N/A	否
Y26H	N/A	N/A	N/A	10.9*	87*	否
Y26K	N/A	N/A	N/A	146*	75.7*	是
Y26R	N/A	N/A	N/A	96.8*	57.9*	是
E46G	N/A	N/A	N/A	267*	141*	是

\* 歸因於快速動力學使用穩態親和力分析

【0264】

表2.在人類IL-2R $\beta$ 結合降低之V49R突變之背景下非融合人類IL-15變體之親和力參數：

位置	突變	hIL-2R $\beta$ K <sub>D</sub> (nM)	hIL-15R $\alpha$ K <sub>D</sub> (nM)	降低的 hIL-2R $\beta$ K <sub>D</sub> 至>300nM
IL-15 ^	WT	21.6	0.023	N/A
IL-15Rasu-IL15 ^	WT	54.4	N/A	N/A
V49	R	97.5	94.2	否
N1	A	398	175	是
N1	D	311	105	是
N1	K	>500	264	是
N1	S	194	140	否
N1	H	235	151	否
N1	R	479 *	243	是
N1	E	340	171	是
N1	T	249	104	否
N1	Q	>500	115	是
N1	G	>500	160	是
N1	P	不明確(LC)	結合 <sup>#</sup> (LC)	N/A
N1	I	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
N1	L	結合 <sup>#</sup> (LC)	結合 <sup>#</sup> (LC)	N/A
N1	M	結合 <sup>#</sup> (LC)	結合 <sup>#</sup> (LC)	N/A
N1	F	結合 <sup>#</sup> (LC)	結合 <sup>#</sup> (LC)	N/A
N1	Y	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
N1	W	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
N1	V	結合 <sup>#</sup> (LC)	結合 <sup>#</sup> (LC)	N/A
N4	A	>500	98	是
N4	D	365	103	是
N4	K	無結合	73.1	是
N4	S	無結合	94.7	是
N4	H	96.4	81.5	否
N4	R	結合 <sup>#</sup>	56.1	N/A
N4	E	311	79.8	是
N4	T	不明確	88.6 (近似值)	否
N4	Q	>500	59.5	是
N4	G	>500	105	是
N4	P	結合 <sup>#</sup>	356	N/A
N4	I	無結合	結合 <sup>#</sup>	是
N4	L	429	98.6	是
N4	M	233	88.1	否
N4	F	247	結合 <sup>#</sup>	否

第 113 頁(發明說明書)

N4	Y	117*	結合 <sup>#</sup>	是
N4	W	438	143	否
N4	V	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
S7	A	220	84	否
S7	D	>500	121	是
S7	K	>500	103	是
S7	N	>500	93.2	是
S7	H	354	75.6	是
S7	R	>500	77	是
S7	E	>500	87.6	是
S7	T	>500	93.9	是
S7	Q	215	88.1	否
S7	G	>500	147	是
S7	P	結合 <sup>#</sup>	>500	N/A
S7	I	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
S7	L	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
S7	M	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
S7	F	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
S7	Y	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
S7	W	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
S7	V	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
D8	A	無結合	102	是
D8	K	無結合	101	是
D8	S	無結合	124	是
D8	N	無結合	119	是
K10	A	321	150	是
K10	D	>500	270	是
K10	S	496	195	是
K10	N	230	128	否
K10	H	114	85.6	否
K10	R	146	94.5	否
K10	E	360	126	是
K10	T	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
K10	Q	250	100	否
K10	G	>500	209	是
K10	P	無結合	結合 <sup>#</sup>	是
K10	I	不明確	結合 <sup>#</sup>	N/A
K10	L	348	124	是
K10	M	391	122	是
K10	F	結合 <sup>#</sup> (LC)	結合 <sup>#</sup> (LC)	N/A
K10	Y	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
K10	W	185	101	否
K10	V	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
K11	A	206	191	否

K11	D	>500	242	是
K11	S	453	194	是
K11	N	291	217	否
K11	H	104	147	否
K11	R	138	140	否
K11	E	160	159	否
K11	T	225	169	否
K11	Q	107	156	否
K11	G	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
K11	P	無結合	結合 <sup>#</sup>	N/A
K11	I	76	95.8	否
K11	L	92.2	142	否
K11	M	180	結合 <sup>#</sup>	否
K11	F	162	結合 <sup>#</sup>	否
K11	Y	143	219	否
K11	W	346 *	361	是
K11	V	110	142	否
S29	A	274	154	否
S29	D	238	121	否
S29	K	248	261	否
S29	N	322	154	是
D30	A	273	151	否
D30	K	351	158	是
D30	S	249	146	否
D30	N	163	94	否
D30	H	149	121	否
D30	R	290	155	否
D30	E	165	124	否
D30	T	269	184	否
D30	Q	197	111	否
D30	G	513 *	結合 <sup>#</sup>	是
D30	P	結合 <sup>#</sup>	無結合	N/A
D30	I	201	197	否
D30	L	277	237	否
D30	M	238	142	否
D30	F	213	166	否
D30	Y	231	159	否
D30	W	321	結合 <sup>#</sup>	是
D30	V	258	153	否
V31	A	269	129	否
V31	K	>500	無結合	是
V31	S	>500	265	是
V31	D	>500	>500	是
H32	A	218	152	否

H32	K	149	92.8	否
H32	S	176	110	否
H32	D	123	85.5	否
H32	N	124	85.9	否
H32	R	156	131 (近似值)	否
H32	E	130	108	否
H32	T	186	結合 <sup>#</sup>	否
H32	Q	147	64	否
H32	G	459	249	是
H32	P	146	162	否
H32	I	110	113	否
H32	L	159	189	否
H32	M	161	134	否
H32	F	315 *	結合 <sup>#</sup>	是
H32	Y	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
H32	W	376	結合 <sup>#</sup>	是
H32	V	247	99.8	否
D61	A	>500	78.2	是
D61	K	無結合	116	是
D61	S	無結合	102	是
D61	N	無結合	121	是
E64	A	>500	130	是
E64	K	無結合	164	是
E64	N/S	>500	130	是
E64	N	>500	115	是
E64	D	291	108	否
E64	H	>1000	112	是
E64	R	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
E64	T	>500	141	是
E64	Q	>500	127	是
E64	G	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
E64	P	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
E64	I	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
E64	L	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
E64	M	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
E64	F	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
E64	Y	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
E64	W	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
E64	V	不明確(LC)	結合 <sup>#</sup>	N/A
N65	A	無結合	202	是
N65	K	193	201	否
N65	S	無結合	158	是
N65	D	>500	121	是
I68	A	>500	113	是

I68	K	無結合	94.2	是
I68	S	無結合	104	是
I68	D	無結合	106	是
I68	H	>1000	87.6	是
I68	R	>500	102	是
I68	T	>500	76.3	是
I68	Q	不明確	132	N/A
I68	G	結合 <sup>#</sup>	101	N/A
I68	P	無結合	無結合	是
I68	N	>1000	85	是
I68	L	245	73.6	否
I68	M	≥1000	96.2	是
I68	F	>1000	78.5	是
I68	Y	>1000	92.9	是
I68	W	結合 <sup>#</sup>	93.7	N/A
I68	V	296	104	否
I68	E	結合 <sup>#</sup>	122	N/A
L69	A	>500	82.9	是
L69	K	無結合	無結合	是
L69	S	>500	78.2	是
L69	D	>500	65.6	是
L69	H	結合 <sup>#</sup>	54.5	N/A
L69	R	不明確	111	N/A
L69	T	>1000	63.6	是
L69	Q	結合 <sup>#</sup>	43.3 (近似值)	N/A
L69	G	結合 <sup>#</sup>	結合 <sup>#</sup>	N/A
L69	P	無結合	無結合	是
L69	I	306	93.1	是
L69	N	結合 <sup>#</sup>	44	N/A
L69	M	≥1000	74.5	是
L69	F	不明確	106	N/A
L69	Y	不明確	137	N/A
L69	W	不明確(LC)	不明確(LC)	N/A
L69	V	>1000	85.5	是
L69	E	>1000	47.8	是
N72	A	148	117	否
N72	D	101	105	否
N72	K	>500	101	是
N72	S	182	118	否
Q108	A	462	161	是
Q108	D	215	125	否
Q108	K	249	85.4	否
Q108	S	290	144	否
M109	A	>500	198	是

M109	K	>500	215	是
M109	S	362	190	是
M109	D	339	288	是
I111	A	375	173	是
I111	K	397	199	是
I111	S	>500	223	是
I111	D	>500	214	是

^ 野生型IL-15及IL-15R $\alpha$ -IL15並不含有V49R突變

\* 親和力報導為動力學擬合(提及的所有其他K<sub>D</sub>值為穩態K<sub>D</sub>值)

# 由於較低反應，未可獲得擬合

LC較低上清液捕獲

### 【0265】

表3.抗PD-1-hIL-15變體融合蛋白對人類IL-2R $\beta$ 結合之親和力參數：

突變體	hIL-2R $\beta$ 動力學			K <sub>D</sub> (nM)
	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	t <sub>1/2</sub> (s)	
xmPD-1-hIL15R $\alpha$ -hIL15	2.36E+06	9.88E-02	7.00	41.8
xmPD-1-hIL15R $\alpha$ -hIL15(E64Q/D30N)	N/A	N/A	N/A	271*
xmPD-1-hIL15R $\alpha$ -hIL15(E64Q/D30N/I68S)	N/A	N/A	N/A	>3000
xmPD-1-hIL15R $\alpha$ -hIL15(E64Q/D30N N4K)	N/A	N/A	N/A	767*
xmPD-1-hIL15R $\alpha$ -hIL15(E64Q/D30N/M109A)	N/A	N/A	N/A	315*
xmPD-1-hIL15R $\alpha$ -hIL15(E64Q/D30N/I68S/M109A)	N/A	N/A	N/A	>1500
xmPD-1-hIL15R $\alpha$ -hIL15(E64Q/D30N/N4K/M109A)	N/A	N/A	N/A	>3000
Ab8.8-hIL15R $\alpha$ -hIL15	2.62E+06	9.71E-02	7.14	37.1
xmPD-1-hIL15(野生型)	N/A	N/A	N/A	561
xmPD-1-hIL15 V49R	N/A	N/A	N/A	494*
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G	N/A	N/A	N/A	437*
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/N1A/D30N	N/A	N/A	N/A	433*
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/N1G/E64Q/D30N	N/A	N/A	N/A	>1500
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/N1G/N4Q/D30N	N/A	N/A	N/A	>1500
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N	N/A	N/A	N/A	>3000
xmPD-1-hIL15 V49R/Y26K/E64Q/D30N	N/A	N/A	N/A	>1500
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/I68S	N/A	N/A	N/A	無結合
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/N4K	N/A	N/A	N/A	無結合
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/M109A	N/A	N/A	N/A	>3000
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/I68S/M109A	N/A	N/A	N/A	無結合
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/N4K/M109A	N/A	N/A	N/A	無結合
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G	N/A	N/A	N/A	560*
xmPD-1-hIL15 V49R/E53Q	N/A	N/A	N/A	590*
xmPD-1-hIL15 V49R/E93Q	N/A	N/A	N/A	451*
xmPD-1-hIL15 NQ突變體	N/A	N/A	N/A	518*
xmPD-1-hIL15 NQ-3d	N/A	N/A	N/A	446*
xmPD-1-hIL15 NQ-2a	N/A	N/A	N/A	514*
xmPD-1-hIL15 NQ-2b	N/A	N/A	N/A	724*
xmPD-1-hIL15 NQ-2c	N/A	N/A	N/A	262*
Ab8.8-hIL15 NQ突變體	N/A	N/A	N/A	506*

\* 歸因於快速動力學使用穩態親和力分析

【0266】

表4.抗PD-1-hIL-15變體融合蛋白對人類IL-15R $\alpha$ 結合之親和力參數：

突變體	hIL-15R $\alpha$ 動力學			K <sub>D</sub> (nM)
	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	t <sub>1/2</sub> (s)	
xmPD-1-hIL15Rasu-hIL15	無結合			
xmPD-1-hIL15Rasu-hIL15(E64Q/D30N)	無結合			
xmPD-1-hIL15Rasu-hIL15(E64Q/D30N/I68S)	無結合			
xmPD-1-hIL15Rasu-hIL15(E64Q/D30N N4K)	無結合			
xmPD-1-hIL15Rasu-hIL15(E64Q/D30N/M109A)	無結合			
xmPD-1-hIL15Rasu-hIL15(E64Q/D30N/I68S/M109A)	無結合			
xmPD-1-hIL15Rasu-hIL15(E64Q/D30N/N4K/M109A)	無結合			
Ab8.8-hIL15Raus-hIL15	無結合			
xmPD-1-hIL15(野生型)	4.31E+06	3.63E-04	N/A	0.084
xmPD-1-hIL15 V49R	N/A	N/A	N/A	119*
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/N1A/D30N	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/N1G/E64Q/D30N	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/N1G/N4Q/D30N	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/Y26K/E64Q/D30N	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/I68S	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/N4K	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/M109A	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46G/E64Q/D30N/I68S/M109A	無結合			
xmPD-1-hIL15 Vs49R/E46G/E64Q/D30N/N4K/M109A	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E46Q	無結合			
xmPD-1-hIL15 V49R/E53Q	N/A	N/A	N/A	>1500
xmPD-1-hIL15 V49R/E93Q	N/A	N/A	N/A	943*
xmPD-1-hIL15 NQ突變體	無結合			
xmPD-1-hIL15 NQ-3d	無結合			
xmPD-1-hIL15 NQ-2a	N/A	N/A	N/A	>3000
xmPD-1-hIL15 NQ-2b	無結合			
xmPD-1-hIL15 NQ-2c	1.06E+06	2.84E-02	24.4	26.8
Ab8.8-hIL15 NQ突變體	無結合			

\* 歸因於快速動力學使用穩態親和力分析

【0267】

表5.抗人類PD-1-hIL-15變體融合蛋白對人類PD-1結合之親和力參數：

突變體	hPD-1動力學			K <sub>D</sub> (nM)
	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	t <sub>1/2</sub> (s)	
Ab8.8-hIL15Raus-IL15	N/A	N/A	N/A	無結合
xhPD1-hIL15Rasu-IL15	1.63E+05	5.41E-04	1281.2	3.32
xhPD1-hIL15 NQ突變體	1.73E+05	5.96E-04	1163.8	3.44

## 【0268】

**實例3：構築具有IL-15受體之組成性表現及PD-1之誘導性表現之報導體細胞株**

此實例展現一種用於建立適用的報導體細胞株以評估基於IL-15之分子之生物活性的方法。

【0269】 為了分析本文所描述之基於IL-15之分子，具有IL-15功能性響應之報導體細胞株產生且用於分析PD-1標靶驅動活性之作用。為此目的，構築具有以下特性之報導體細胞株：(1)功能性IL-15信號傳導受體：IL-2R $\beta$  (亦稱為CD122)及共同 $\gamma$ 鏈(亦稱為CD132)之組成性表現；及(2)人類或小鼠PD-1之誘導性表現。

【0270】 慢病毒系統如此前Metzger, T.等人, *Cancer Res.* 7月1日;76(13):3684-9. (2016))所描述使用。為了表現全長人類IL-2R $\beta$ ，亦產生質體pRF791。簡言之，編碼TurboGFP螢光蛋白之cDNA序列，繼而短甘胺酸-絲胺酸連接子序列、病毒T2A序列及全長人類CD122 (IL-2R $\beta$ )序列選殖至慢病毒轉移載體中以使得其在EF1 $\alpha$ 啟動子的控制下表現。pRF791用於產生慢病毒粒子，如T.等人(2016)中所描述，且所得病毒用於轉導小鼠32D細胞株，其通常在如藉由美國菌種保存中心(ATCC)所描述之培養基中生長。選擇此細胞株，因為其僅表現共同 $\gamma$ 鏈，且不表現小鼠IL2Rb或小鼠IL-15R $\alpha$ ，且亦用作此前分析IL-15生物活性之宿主。(參見例如Zhu, X.等人, *J Immunol.* 2009年9月15日;183(6):3598-607。經轉導的細胞藉由對100  $\mu$ g/mL殺稻瘟菌素之耐受性及GFP螢光鑑別。選擇殺稻瘟菌素耐受性表現GFP之細胞群且保持為株系多株系32D [pRF791]。

【0271】 為了在多西環素誘導性TetOn3G啟動子的控制下表現人類或小鼠PD-1，將編碼mCherry螢光蛋白之cDNA序列，繼而短甘胺酸-絲胺酸連接子序列、病毒T2A序列及全長人類或小鼠PD-1選殖至慢病毒轉移載體pLVX-SFFV-Puro-P2A-TetOn3G中 (參見例如Metzger等人(2016))。

所得載體pRF768 (表現人類PD-1)及pRF770 (表現小鼠PD-1)各自用於產生慢病毒粒子，如Metzger, T.等人 (2016)中所描述，且所得病毒用於轉導32D [pRF791]細胞株。經轉導的細胞藉由對100 µg/mL殺稻瘟菌素加10 ug/mL嘌呤黴素及GFP及mCherry螢光之耐受性鑑別。選擇殺稻瘟菌素耐受性、嘌呤黴素耐受性、表現GFP之細胞群且保持為多株株系32D [pRF768+pRF791]或32D [pRF770+[pRF791]，視其是否經分別來自pRF768或pRF770之病毒轉導而定。

【0272】 mCherry--PD-1之誘導性表現在32D [pRF768+pRF791]及32D [pRF770+pRF791]中藉由添加多西環素(至1 ug/mL最終濃度)確認12-16小時，繼而藉由流式細胞測量術分析mCherry表現。IL-2Rb及PD-1之表現亦藉由用分別對CD122 (IL-2Rβ)或PD-1具有特異性的抗體染色確認。

【0273】 為了建立純系細胞株，用1 ug/mL多西環素誘發32D [pRF768+pRF791]或32D [pRF770+pRF791]細胞12-16小時，且隨後藉由流式細胞測量術分析GFP及mCherry螢光。將前四分之一螢光強度內各細胞株之單個單元分選至96孔盤之特有孔中且培養2週直至出現較小菌落之細胞。此等菌落擴增產生單一細胞選殖株，其藉由流式細胞測量術確認轉基因表現。

【0274】

#### 實例4：抗體-IL15嵌合分子對報導體細胞株之結合分析

此實例描述一種在具有或不具有抗體結合標靶之表現之情況下，分析抗體-細胞介素融合分子對表現IL-15受體(CD122加CD132)之細胞的直接結合之方法。

【0275】 為了偵測抗體-IL-15分子對細胞之結合，使用Click-IT Alexa Fluor 647 sDIBO炔烴套組且遵循製造商之方案將約200微克經純化之重組分子中之每一者用Alexa647螢光團標記。此實例及所有隨後實例中所描述之抗體及嵌合分子概述於以下表6中：

第 121 頁(發明說明書)

表6：所有以下實例中利用之分子之列表：

名稱	相關SEQ ID	簡要說明
xmPD-1	12 (VH) + 64 (CH1- 鉸 鏈 -IgG2dA- D265A-CH2-CH3) +30 (LC: VK-CK)	具有人類IgG2dA恆定區之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3)
xmPD-1- IL15RaSu-IL15*	28 (R-臂)+ 22 (E- 臂) + 30	具有人類IL15Ra Sushi區域-人類IL15 (野生型成熟蛋白序列)之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3) IgG融合物
xmPD-1-IL15 NQ*	28 + 29 + 30	具有人類IL15 NQ變體(SEQ ID NO: 1 之 6 個 突 變 D22N/Y26F/E46Q/E53Q/E89Q/E93Q， 消除結合至IL-15R $\alpha$ )之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3) IgG融合物
xmPD-1-IL15 NQ- 2a	28 + 30 + 58	具有人類IL15 NQ-2a變體(降低結合至 IL-15R $\alpha$ )之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3) IgG融合物
xmPD-1-IL15 NQ- 2b	28 + 30 + 59	具有人類IL15 NQ變體(降低結合至IL- 15R $\alpha$ )之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3) IgG 融合物
xmPD-1-IL15 NQ- 3d	28 + 30 + 61	具有人類IL15 NQ變體(降低結合至IL- 15R $\alpha$ )之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3) IgG 融合物
xmPD-1-IL15 m1	86 + 30 + 88	具有人類IL15 m1變體(SEQ ID NO: 1 之4個突變V49R/E46G/N1A/D30N，消 除結合至IL-15R $\alpha$ ，降低結合至IL- 2R $\beta$ - $\gamma$ )之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3) IgG 融合物
xmPD-1-IL15 m2	87+ 30 + 88	具有人類IL15 m2變體(SEQ ID NO: 1 之 5 個 突 變 V49R/E46G/N1G/E64Q/D30N，消 除結合至IL-15R $\alpha$ ，降低結合至IL-2R $\beta$ - $\gamma$ )之抗小鼠PD-1 (選殖F12.3) IgG融 合物
xhPD-1-IL15 m1	74+65+89	具有人類IL15 m1變體(SEQ ID NO: 1 之4個突變V49R/E46G/N1A/D30N，消 除結合至IL-15R $\alpha$ ，降低結合至IL- 2R $\beta$ - $\gamma$ )之抗人類PD-1 (VH1-69b/VK1- 39) IgG融合物
xhPD-1-IL15 m2	74+65+90	具有人類IL15 m2變體(SEQ ID NO: 1 之 5 個 突 變 V49R/E46G/N1G/E64Q/D30N，消 除結合至IL-15R $\alpha$ ，降低結合至IL-2R $\beta$ - $\gamma$ )之抗人類PD-1 (VH1-69b/VK1-39) IgG融合物

\* 此等蛋白質之突變體形式以型式「初始胺基酸-殘基數目-新胺基酸」指定在文本中，其中殘基

數目對應於如SEQ ID 1中所示之人類IL-15之胺基酸序列列表。

【0276】 使以下細胞株懸浮於生長培養基中直至 $0.7 \times 10^6$ 個細胞/毫升，且培養16小時：1) 未轉導之32D（胃腸外株系）；2) 32D [pRF770+pRF791]；及3) 在1 ug/mL多西環素存在下生長32D [pRF770+pRF791]以誘發PD-1表現。隨後使培養物再懸浮至 $1.0 \times 10^6$ 個細胞/毫升之最終濃度，且將0.1 mL各懸浮液接種至實驗所需之足夠數目之96孔圓底培養盤之單獨孔中。隨後將各Alexa647標記之抗體或抗體-細胞介素嵌合蛋白添加至特有孔中以在給定孔中獲得500 nM、100 nM、10 mM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM或0.001 nM之最終濃度。在4°C下培育培養盤30'，且隨後藉由離心(300xg, 5')粒化細胞且再懸浮於0.2 mL PBS中。重複此洗滌步驟兩次。在最後再懸浮後，在LSRII流式細胞儀上分析細胞。使用FlowJo版本10分析資料。在上述背景之Alexa647通道中展現螢光之細胞(如藉由未添加經標記之抗體-細胞介素嵌合體的細胞所定義)評分為結合陽性。隨所添加之標記蛋白質濃度變化的Alexa647陽性細胞之百分比展示於圖2A-2D中。

【0277】 特徵在於抗小鼠PD-1部分之各經標記之分子能夠以濃度依賴性方式，甚至在較低皮莫耳最後濃度下結合至PD-1表現細胞(「[pRF770+pRF791]+Dox」)。xmPD1-IL15RaSu-IL-15融合分子(圖2C)亦展現對僅表現CD122加CD132(「[pRF770+pRF791]」)之細胞之更適度的結合；相比之下，抗小鼠PD1-IL15 NQ變體展示對此等相同類型之細胞之結合降低(圖2D)。同型對照抗體版本(Ab8.8-IL15RaSu-IL15)僅展現在最高測試最後蛋白質濃度下對細胞中之任一者之結合(圖2B)。所有四個測試的重組蛋白同樣展示在相對較高濃度( $\geq 10$ nM各化合物)下結合至32D母體株系之背景水準。

**【0278】** 此實例展現抗體-IL-15嵌合蛋白之抗PD-1抗體部分為引導蛋白質結合至細胞之關鍵決定子。分析亦揭示野生型IL-15及NQ突變蛋白在各自結合至表現CD122加CD132 (以抗體或PD-1非依賴性方式)之細胞之能力方面之間的差異。

**【0279】**

**實例5：使用報導體細胞株之抗小鼠PD-1-IL15嵌合分子之活體外功能性分析**

此實例描述一種在具有或不具有抗體結合標靶之表現之情況下，抗體-細胞介素融合分子至表現IL-15受體(CD122加CD132)之細胞的功能活性分析。

**【0280】** 在此實例中，量測抗小鼠PD-1--IL15嵌合融合蛋白觸發報導體細胞株32D [pRF770+pRF791]中之下游細胞內信號傳導之能力。細胞株32D [pRF770+pRF791]表現人類CD122以及內源性小鼠CD132 (共同 $\gamma$ 鏈)，且可表現多西環素誘導性小鼠PD-1。藉由監測磷酸化STAT5 (pSTAT5) (其已知為IL-15信號傳導之下游結果)之相對變化，量測CD122/CD132下游信號傳導之活化(參見例如：Steel JC, Waldmann TA, Morris JC. Trends Pharmacol Sci. 2012年1月;33(1):35-41)。在生長培養基中使32D [pRF770+pRF791]細胞再懸浮至 $0.4-0.8 \times 10^6$ 個細胞/毫升之濃度且在 $1 \mu\text{g/mL}$ 最終濃度之多西環素存在或不存在下生長隔夜(12-16小時)。藉由離心( $230 \times g$ ，5分鐘)收集細胞，洗滌一次至不具有IL-3及小牛血清之生長培養基中，且隨後再懸浮在 $1.0 \times 10^6$ 個細胞/毫升之最終濃度下且在 $37^\circ\text{C}$ 下培育4小時。在單細胞選殖株中，組合約40,000-50,000個多西環素誘發之細胞及150,000-160,000個非多西環素細胞且添加至各孔

中。對於非單細胞分選株，常規地利用細胞群，其在多西環素誘導後藉由流動式細胞量測分析展現約20-30%可偵測之mCherry表現。將相關重組蛋白化合物添加至各孔中以使得各自最終濃度在500 nM與0.1 pM之間。相同地設置各條件之三份孔。在細胞培養物培育箱中在37°C下培育培養盤30'，且細胞隨後藉由離心(230xg，5')粒化。多聚甲醛隨後緊接著添加至各孔(4%最終濃度，在PBS中)中，輕輕地藉由上下吸液混合細胞以預防結塊，且隨後在37°C下培育15分鐘。細胞隨後藉由離心(230xg，5')粒化且用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)溶液洗滌。再重複此步驟兩次。小心地抽吸殘餘PBS且添加0.1 mL冷(-20°C)甲醇，繼而輕微吸液一次以預防結塊。用箔密封培養盤且緊接著置放於-20°C冷凍器中至少1小時且直至若干天(一般12-16小時)。在分析當天，細胞用PBS或FACS緩衝液洗滌細胞三次(細胞在300xg RCF下旋轉以確保集結粒)。使最後細胞集結粒再懸浮於50 ul 1:50稀釋度之抗pSTAT5抗體(抗Stat5 (pY694)-A647 (BD Biosciences, Clone: 47/Stat5(pY694))中。在室溫下在暗處培育細胞1小時。培養盤隨後離心且用如上文所描述之FACS緩衝液洗滌三次。使細胞再懸浮於每孔125-150 µl FACS緩衝液中且在LSRII流式細胞儀上分析細胞。使用FlowJo版本10分析資料。

【0281】 因為質體pRF770含有用於mCherry，繼而小鼠PD-1 (藉由產生兩個非依賴性多肽之病毒2A裂解序列分離)之多西環素誘導性表現之卡匣，表現mCherry之細胞(如使用PE-Texas Red通道適當配備之流式細胞儀上所偵測到)可靠地評分為「PD-1+」；上述背景下此通道中並未發螢光之細胞考慮為「PD-1-」或「PD-1 (較低)」。當存在於相同實驗反應物內時，pSTAT5陽性細胞之分析因此在PD-1+或PD-1-(或PD-1 (較低))細胞

上閘控。

【0282】 圖3描繪根據上文所描述之方法使用32D [pRF770+791]報導體細胞株分析若干含有IL-15之分子。圖3A展示將Ab8.8-IL15RaSu-IL15添加至32D [pRF770+791]PD-1+及PD-1 (較低)報導體細胞之混合群體中之作用，其中其造成兩種PD-1+及PD-1 (較低)細胞之等效pSTAT5活化。圖3B描繪將xmPD-1-IL15RaSu-IL15添加至32D [pRF770+791] PD-1+及PD-1 (較低)報導體細胞之混合群體中之作用。在此情況下，相比於PD-1 (較低)細胞，PD-1+細胞展現對xmPD-1-IL15RaSu-IL15之大許多的敏感性及更低EC50，如藉由pSTAT5水準所量測。圖3C描繪將xmPD-1-IL15 NQ添加至32D [pRF770+791] PD-1+ (亦即，多西環素誘發)及PD-1 (較低) (亦即，非多西環素誘發)報導體細胞之混合群體中之作用。相比於PD-1 (較低)細胞，PD-1+細胞展現對xmPD-1-IL15 NQ之大許多的敏感性及更低EC50，如藉由pSTAT5水準所量測。另外，除了具有消除對CD215 (IL-15受體 $\alpha$ )之可偵測結合之特性之外，抗小鼠PD-1-IL15 NQ之EC50值比兩種PD-1+及PD-1 (較低)細胞上之xmPD-1-IL15RaSu-IL15之彼等者大約10倍，指示xmPD-1-IL15 NQ表示具有降低的活性(如藉由CD122/CD132依賴性pSTAT5活化所量測)之突變蛋白變體。以下表7概述前述分子之所計算之EC50值，且亦呈現隨著PD-1+與PD-1 (較低)細胞之間的EC50比率之倍數變化。

【0283】

表7.

分子	EC50 (nM)		
	PD-1+	PD-1(較低)	倍數變化*
Ab8.8-IL15RaSu-IL15	0.3	0.15	0.51
xmPD1-IL15RaSu-IL15	0.01	2.19	365.32
xmPD1-IL15 NQ	0.09	21.14	223.07

\* 倍數變化= EC50 (PD-1(較低)) / EC50 (PD-1+)

【0284】 為了鑑別抗體靶向IL-15之額外變體，其中IL-15部分含有賦予一系列功能性活性或結合至CD122及/或CD132之突變，進行以下實驗：

【0285】 如表8 (以下)中所列出及如圖4中所展現，產生xmPD1-IL15RaSu-IL15之各種IL-15突變蛋白形式且使用如上文所詳述之32D [pRF770+pRF791]報導體細胞株分析。應注意，對於各突變蛋白，表示相對於野生型成熟人類IL-15蛋白質序列存在之突變(在初始胺基酸型式中，如SEQ ID #1中存在之胺基酸殘基數目，該位置處之新胺基酸)。pSTAT5陽性(藉由流動式細胞量測分析)之PD-1+或PD-1 (較低)細胞之百分比標繪於圖4A-H中，且所得圖用於計算EC50值，如下文表8中所示。

【0286】

表8.

分子	EC50 (nM)		
	PD-1+	PD-1(較低)	倍數變化*
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15	0.05	5.42	108
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15 K11S/D30N	0.42	18.76	44
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15 D61N/D30N	0.16	22.04	139
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15 E64Q/D30N	0.069	24.89	360
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15 K11S/M109A	0.16	3.13	19
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15 D61N/M109A	0.07	12.88	193
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15 E64Q/M109A	0.06	10.05	163
xmPD1-hIL15Rasu-hIL-15 D61N	0.38	6.91	18

\* 倍數變化= EC50 (PD-1(較低)) / EC50 (PD-1+)

【0287】 因此，本發明活體外分析方法可鑑別具有不同於含有野生型IL-15序列之對應嵌合蛋白之非標靶驅動或抗體標靶驅動活性的彼等突變體。

【0288】 圖5描繪實驗結果，其中根據此實例中上文所描述之方法，32D [pRF770+791]報導體細胞株用於分析若干額外抗體-IL-15分

子。在此情況下，分子中無一者包括 IL-15 受體  $\alpha$  Sushi 區域 (IL-15RaSu)。pSTAT5 陽性之 PD-1+ 或 PD-1 (較低) 細胞百分比標繪在圖 5A-G 中，且所得圖用於計算 EC50 值，如下文表 9 中所示。

## 【0289】

表 9.

分子(所列出之相關突變)	EC50 (nM)		
	PD-1+	PD-1(較低)	倍數變化*
xmPD-IL15 NQ	0.00574	1.724	300.3484
xmPD-IL15 NQ2a	0.009495	2.939	309.5313
xmPD-IL15 NQ2b	0.01349	8.001	593.106
xmPD-IL15 NQ3d	0.02294	3.731	162.6417
xmPD-IL15 V49R	0.05476	1.511	27.59313
xmPD-IL15 V49R/E46G	0.01491	3.432	230.1811
xmPD-IL15 V49R/ E46G/ E64Q/ D30N	0.1371	97.98	714.6608

\* 倍數變化 = EC50 (PD-1(較低)) / EC50 (PD-1+)

【0290】 因此，活體外分析方法用於鑑別缺少 IL-15RaSu 且具有不同於比較器 xmPD1-IL15 NQ 之非標靶驅動或抗體標靶驅動活性之彼等突變體。

【0291】 圖 6 描繪額外實驗結果，其中根據此實例中上文所描述之方法，32D [pRF770+791] 報導體細胞株用於分析若干額外抗體-IL-15 分子。在此情況下，大部分分子缺乏 IL-15 受體  $\alpha$  Sushi 區域 (IL-15RaSu)；xmPD-1-IL15RaSu-IL15 包括為含有 IL15RsSu 之對照比較器。pSTAT5 陽性之 PD-1+ 或 PD-1 (較低) 細胞百分比標繪在圖 6A-G 中，且所得圖用於計算 EC50 值，如下文表 10 中所示。

## 【0292】

表 10.

分子(所列出之相關突變)	EC50 (nM)		
	PD-1+	PD-1(較低)	倍數變化*
xmPD-IL15 NQ	0.03026	7.29	240.91
xmPD1-V49R	0.1634	4.378	26.79
xmPD1-V49R/E64G	0.0188	5.45	289.75

<b>xmPD1-V49R/Y26K/E64Q/D30N</b>	0.05614	21.43	381.72
<b>xmPD1-IL15 V49R/E46Q</b>	0.002937	1.335	454.55
<b>xmPD1-IL15 V49R/Y26K</b>	0.00412	0.8539	207.21
<b>xmPD1-IL15Rasu-IL15</b>	0.0054	0.602	110.9

\* 倍數變化= EC50 (PD-1(較低)) / EC50 (PD-1+)

【0293】 圖7描繪額外實驗結果，其中根據此實例中上文所描述之方法，32D [pRF770+791]報導體細胞株用於分析若干額外抗體-IL-15分子。在此情況下，大部分分子含有位置V49處之突變，其調節IL-15與IL-15R $\alpha$ 之間的相互作用。pSTAT5陽性之PD-1+或PD-1 (較低)細胞百分比標繪在圖7A-7E中，且所得圖用於計算EC50值，如下文表11中所示。

### 【0294】

表11.

分子(所列出之相關突變)	EC50 (nM)		
	PD-1+	PD-1(較低)	倍數變化*
xmPD1-IL15 V49R	0.05573	0.3284	5.89
xmPD1-IL15 V49R E46G	0.01182	4.535	383.67
xmPD1-IL15 V49K E46G	0.007902	3.977	503.29
xmPD1-IL15 V49K Y26K	0.01751	3.975	227.01
xmPD1-IL15 V49NAT	0.04394	3.047	69.34

\* 倍數變化= EC50 (PD-1(較低)) / EC50 (PD-1+)

【0295】 圖7F-7H進一步描繪額外實驗結果，其中與IL-15 NQ相比，32D [pRF770+791]報導體細胞株用於分析若干額外抗體-IL-15分子，包括含有位置N1、D30及E64處之突變之分子，其調節IL-15與IL-2R $\beta$ - $\gamma$ 之間的相互作用。pSTAT5陽性之PD-1+或PD-1 (較低)細胞百分比標繪在圖7F-7H中，且所得圖用於計算EC50值，如下文表11A中所示。

### 【0296】

表11A.

分子(所列出之相關突變)	EC50 (nM)		
	PD-1+	PD-1(較低)	倍數變化*
xmPD1-IL15 NQ	0.01088	13.35	1227.02
xmPD1-IL15 M1 (V49R E46G N1A D30N)	0.05314	76.91	1447.31
xmPD1-IL15 M2 (V49K E46G N1G E64Q D30N)	0.3097	734.3	2371

\* 倍數變化= EC50 (PD-1(較低)) / EC50 (PD-1+)

## 【0297】

**實例6：測定帶有非腫瘤之小鼠中之最大耐受劑量(MTD)**

此實例描述如本文所描述之抗體-IL-15融合蛋白之活體內最大耐受劑量之測定。

【0298】 用3次劑量xmPD-1-IL-15RaSu-IL15或xmPD-1-IL-15 NQ中之每一者處理6-8週齡健康雌性C56/B16小鼠，如所指示。在實驗第0天、第3天及第6天，基於各動物之體重，用足夠的重組蛋白皮下注射小鼠(至頸背中)以得到指定濃度之各分子。向10隻動物群體投與各化合物。量測體重之各動物變化(相比於其在研究開始時的重量)且記錄各群組之平均值。圖8A及8B標繪以2 mg/kg、1 mg/kg或0.2 mg/kg給藥之xmPD1-IL15RaSu-IL15組中之動物之分別體重及總存活率變化。接受2 mg/kg或1 mg/kg之小鼠經歷急劇重量損失及隨之而來的死亡，使得截至研究第8天，此等群組中之所有動物均已死亡或需要處死。在圖8C中所示之額外研究中，以1 mg/kg、0.8 mg/kg或0.5 mg/kg之最後給藥濃度用xmPD1-IL15RaSu-IL15處理小鼠。1 mg/kg及0.8 mg/kg群組中之小鼠損失其開始體重之15-18%且出現駝背及痛苦；0.5 mg/kg給藥群組中之動物經歷更適度的暫時重量損失。xmPD1-IL15RaSu-IL15之MTD已確立為處於或低於0.5 mg/kg。圖8D描繪在以3 mg/kg、2 mg/kg或1 mg/kg之最終濃度投與xmPD1-IL15 NQ後之體重變化。所有群組中之動物經歷暫時重量損失(其在停止給藥之後反彈)，其比xmPD1-IL15RaSu-IL15之更低劑量所見更適度，且無任何痛苦之表觀跡象。xmPD1-IL15 NQ之MTD因此已確立為處於或低於3 mg/kg，指示其與xmPD1-IL15RaSu-IL15相比耐受更佳。

## 【0299】

## 實例7：B16F10小鼠同基因型腫瘤模型之表徵

各種小鼠腫瘤細胞株通常可供使用(例如購自美國菌種保存中心，ATCC)且已針對此等中之多者評估免疫細胞浸潤特徵(例如參見Mosley, S.I.,等人, *Cancer Immunol Res.* 2017年1月;5(1):29-41)。Mosley等人及其他人已展示，腫瘤細胞株B16F10在皮下植入至C57/B16小鼠中時產生含有相對較低T細胞豐度之腫瘤(如總免疫細胞浸潤分數)且亦對抗PD-1抗體療法起不良反應。為了評估PD-1在腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)以及外周免疫細胞上之表現，進行以下實驗：

向雌性C57/B16小鼠大腿中皮下植入約500,000個B16F10細胞，其自單一低代小瓶(具有 $1 \times 10^7$ 個細胞)新鮮解凍且培養建立植入足夠的細胞所需之最短時間。當獲得具有300-400 mm<sup>3</sup> (如(長度×寬度<sup>2</sup>)/2所定義)之可見腫瘤塊之動物群體時，將小鼠安樂死及處死，且獲得各動物之脾臟及原發性腫瘤塊。藉由通過40 uM目過濾器磨碎脾臟來獲得脾臟細胞，繼而添加10 mL PBS且藉由離心(250xg，5')收集。使細胞再懸浮於2 mL ACK緩衝液中5分鐘，繼而添加10 mL PBS且藉由如上所述之離心收集。使細胞集結粒再懸浮於2 mL PBS中，傳送通過40 uM目過濾器，且計數總細胞。使用Miltenyi小鼠腫瘤解離套組及Octomax解離劑，根據製造商的方案獲得腫瘤細胞懸浮液，不同之處在於利用第1/10的酶「R」量。在解離之後，在PBS中洗滌細胞且藉由離心收集，且隨後如上述計數。隨後使用如以下表12中所描述之抗體混合液染色來自各小鼠約5百萬脾臟細胞及整個收集量之腫瘤細胞(典型地，1-5百萬)：

## 【0300】

表12.用於針對流式細胞測量術染色脾臟細胞及腫瘤細胞懸浮液之抗體.

標靶	標籤	選殖	供應商
CD8a	APC-Cy7	53-6.7	Biologend
PD1	BV421	29F.1A12	Biologend
CD4	FITC	GK1.5	Biologend
NKp46	PerCP-Cy5.5	29A1.4	BD
CD45	BV786	30-F11	Biologend

【0301】對於流動式細胞量測分析，在細胞限定為活單重峰CD45+淋巴細胞之後，T細胞閘控為CD4+或CD8+；NK細胞定義為NKp46+細胞。圖9A展示前述細胞群中之每一者上之抗PD-1染色之平均螢光強度(MFI)；圖9B展示染色陽性之各群體之百分比(如藉由在FMO對照樣品上閘控所定義)。

【0302】因此，儘管報導B16F10 TIL當中T細胞之較低豐度，TIL及外周T細胞上之PD-1表現模式呈現評估IL-15部分之PD-1驅動靶向之作用的機會。

## 【0303】

### 實例8：小鼠同基因型B16F10黑色素瘤腫瘤模型中之靶向IL-15分子之抗腫瘤功效

此實例展現各種化合物(包括3 PD-1靶向IL-15突變蛋白)對小鼠同基因型B16F10黑色素瘤腫瘤模型中之小鼠之腫瘤生長、體重變化及總存活率之作用。為了評估此腫瘤模型中之PD-1靶向IL-15突變蛋白之作用，進行以下實驗：

向雌性C57/B16小鼠大腿中皮下植入約500,000個B16F10細胞，其自單一低代小瓶(具有 $1 \times 10^7$ 個細胞)新鮮解凍且培養建立植入足夠的細胞所需之最短時間。當獲得足夠的具有 $60-100 \text{ mm}^3$  (如(長度 $\times$ 寬度 $^2$ )/2所定義)

之可見腫瘤塊之動物時，緊接著在給藥之前將小鼠隨機分為群組(n=10隻動物)。每3-4天皮下注射(頸背)各相關化合物，持續總共3次劑量(第0天，定義為第一次給藥當天)，至給定群組之各動物中。在整個實驗過程中追蹤腫瘤體積、體重及動物存活率。一旦動物腫瘤體積量測為至少2000 mm<sup>3</sup>，處死動物。記錄各處理組中之小鼠之總存活率以及各處理組內動物之體重。

【0304】 圖10描繪研究結果，其中帶有腫瘤之小鼠以5、3、1或0.3 mg/kg 之濃度用 xmPD1-IL15 NQ 給藥；或以 0.3 mg/kg 用 xmPD1-IL15RaSu-IL15給藥；或用PBS給藥作為媒劑對照。圖10A標繪在第0天(藥物注射第一天)開始之植入腫瘤之尺寸。接受5、3、1或0.3 mg/kg抗小鼠PD-1-IL15 NQ之群組中之動物經歷平均腫瘤體積及每隻單獨動物之腫瘤體積之劑量依賴性抑制。此外，各種群組中之動物經歷持久腫瘤消退(自藥物投與完成超過45天不可偵測腫瘤塊)，其中長期存活率如以下表13所指示：

【0305】

表13.經抗PD-1-IL15化合物處理之動物之長期存活率

處理組*	長期存活動物*
PBS	0/10
xmPD-1-IL15 NQ, 5 mg/kg	5/6
xmPD-1-IL15 NQ, 3 mg/kg	8/10
xmPD-1-IL15 NQ, 1 mg/kg	6/10
xmPD-1-IL15 NQ, 0.3 mg/kg	5/9
xmPD-1-IL15RaSu-IL15, 0.3 mg/kg	3/8

\* 對各處理組中之小鼠之長期存活率進行評分(超過45天無腫瘤超出藥物治療停止)。

【0306】 在xmPD-1-IL15 NQ治療之後經歷長期存活期之動物用如此實例中所描述之B16F10腫瘤細胞再刺激。長期存活動物中之任一者中無可偵測的腫瘤生長(相反，同時100%植入有B16F10細胞之未經處理之

小鼠腫瘤生長)。

【0307】 圖 10B 標繪在整個研究中活的動物比例。在 5 mg/kg xmPD-1-IL15 NQ處理組中，10隻動物中4隻在研究中死亡，腫瘤體積小於500 mm<sup>3</sup>。圖10C標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均重量變化(相對於基線，在第0天)。5 mg/kg及3 mg/kg處理組中之動物經歷暫時重量損失(最大值，相對於第0天下降15%)，其在給藥完成後返回至基線(圖9C)。xmPD-1-IL15 NQ之最大耐受劑量定義為處於或低於3 mg/kg (與實例6中所描述之觀測結果一致)。

【0308】 為了比較及對比具有以下之帶有腫瘤之小鼠之作用：抗PD-1抗體；非靶向IL-15 NQ化合物；及PD-1靶向IL-15 NQ，進行以下實驗：

B16F10腫瘤模型研究已如前文所述確立。研究包括n=10隻動物之群組，如以下表14中所概述：

表14. B16腫瘤療效研究之處理組。

群組	處理
1	PBS
2	xmPD1-IL15 NQ, 1 mg/kg
3	xmPD1-IL15 NQ, 0.3 mg/kg
4	xmPD1, 1 mg/kg
5	xmPD1, 0.3mg/kg
6	Ab8.8-IL15 NQ, 1mg/kg
7	Ab8.8-IL15 NQ, 0.3mg/kg

【0309】 圖11描繪研究結果，其中帶有腫瘤之小鼠用表14中列出之化合物給藥。圖11A標繪在第0天(藥物注射第一天)開始之植入腫瘤之尺寸。相比於經PBS處理之動物，抗PD-1抗體或非靶向IL-15 NQ (Ab8.8-IL15 NQ)處理不會明顯改變腫瘤生長特性。相比之下，經xmPD1-IL15 NQ處理之小鼠以劑量依賴性方式展現顯著腫瘤生長抑制。圖11B標繪在

整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。在第6天，緊接著在接受第三劑量之前，在1 mg/kg下經xmPD1-IL15 NQ或Ab8.8-IL15 NQ處理之小鼠展現適度的體重損失(相對於基線，小於10%)。此重量損失為暫時的，其中動物在治療停止後返回至基線重量。

【0310】 因此，在等效劑量下，xmPD1-IL15 NQ提供相對於xPD-1或Ab8.8-IL15 NQ優良的腫瘤生長抑制且具有良好耐受性。

【0311】 為了測定單次劑量之xmPD1-IL-15 M1之作用，進行以下實驗。B16F10腫瘤模型研究已如前文所述確立，除了替代此前提供3次劑量之各化合物，在下文所描述之實驗中僅投與單次劑量。研究包括n=10隻動物之群組，如以下表15中所概述。

【0312】

表15. B16腫瘤療效研究之處理組。

群組	處理
1	PBS
2	xmPD1-IL15 M1 5 mg/kg
3	xmPD1-IL15 M1 1 mg/kg
4	xmPD1-IL15 M1 0.3 mg/kg
5	xmPD1-IL15 M1 0.1 mg/kg

【0313】 圖11C及11D描繪研究結果，其中帶有腫瘤之小鼠用表15中列出之任一濃度之xmPD1-IL-15 M1單獨給藥，或PBS作為媒劑對照。圖11C展現xmPD1-IL15 M1以劑量依賴性方式減少B16F10腫瘤生長。所有測試的xmPD1-IL15 M1劑量(0.1-5 mg/kg)展現相對於對照組腫瘤生長之顯著抑制。以下表15概述在研究結束時相對於每次處理測定為無腫瘤之小鼠之數目。5 mg/kg xmPD1-IL15 M1到研究結束時產生最高數目之無腫瘤小鼠(6/10)。圖11D標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。在第6天，在5 mg/kg下經單次劑量之xmPD1-

IL15 M1處理之小鼠展現相對於基線13.5%之平均體重損失。此重量損失為暫時的，其中截至下一次量測(3天後)體重升高且在處理停止後回到基線。研究持續時間無其他處理組展現任何重量損失。

### 【0314】

表16. 在研究結束時無腫瘤小鼠之數目。

處理組	無腫瘤小鼠*
PBS	0/10
xmPD1-IL15 M1 5 mg/kg	2/10
xmPD1-IL15 M1 1 mg/kg	3/10
xmPD1-IL15 M1 0.3 mg/kg	3/10
xmPD1-IL15 M1 0.1 mg/kg	6/10

\* 基於研究結束時之腫瘤尺寸不明顯或量測小於D0 (給藥開始)腫瘤體積之小鼠，測定無腫瘤小鼠。

【0315】 為了測定單次劑量之xmPD1-IL-15 M2之作用，進行以下實驗。B16F10腫瘤模型研究已如前文所述確立，除了替代此前提供3次劑量之各化合物，在下文所描述之實驗中僅投與單次劑量。此研究包括n=10隻動物之群組，如以下表17中所概述。

### 【0316】

表17. B16腫瘤療效研究之處理組。

群組	處理
1	PBS
2	xmPD1-IL15 M2 5 mg/kg
3	xmPD1-IL15 M2 1 mg/kg
4	xmPD1-IL15 M2 0.3 mg/kg
5	xmPD1-IL15 M2 0.1 mg/kg

【0317】 圖11E及11F描繪研究結果，其中帶有腫瘤之小鼠用表17中列出之任一濃度之xmPD1-IL-15 M2單獨給藥，或PBS作為媒劑對照。圖11E展現xmPD1-IL15 M2以劑量依賴性方式減少B16F10腫瘤生長。所有測試的xmPD1-IL15 M2劑量(0.1-5 mg/kg)展現相對於對照組腫瘤生長之顯著抑制。以下表18概述在研究結束時相對於每次處理測定為無腫瘤之小鼠

之數目。5 mg/kg xmPD1-IL15 M2到研究結束時產生最高數目之無腫瘤小鼠(4/10)。圖11F標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。在第6天，在5 mg/kg下經單次劑量之xmPD1-IL15 M2處理之小鼠展現相對於基線2.9%之平均體重損失。此重量損失為暫時的，其中截至下一次量測(3天後)體重返回至基線。研究持續時間無其他處理組展現任何重量損失。

### 【0318】

表18. 在研究結束時無腫瘤小鼠之數目.

處理組	無腫瘤小鼠*
PBS	0/10
xmPD1-IL15 M2 5 mg/kg	1/10
xmPD1-IL15 M2 1 mg/kg	1/10
xmPD1-IL15 M2 0.3 mg/kg	3/10
xmPD1-IL15 M2 0.1 mg/kg	4/10

\* 基於研究結束時之腫瘤尺寸不明顯或量測小於D0 (給藥開始)腫瘤體積之小鼠，測定無腫瘤小鼠。

【0319】 為了比較單次劑量之xmPD1-IL-15 M1與單獨xmPD1之作用，進行以下實驗。B16F10腫瘤模型研究已如前文所述確立，除了替代此前提供3次劑量之各化合物，在下文所描述之實驗中僅投與單次劑量。研究包括n=10隻動物之群組，如以下表19中所概述。

### 【0320】

表19. B16腫瘤療效研究之處理組.

群組	處理
1	PBS
2	xmPD1 1mg/kg
3	xmPD1-IL15 M1 1mg/kg

【0321】 如此前所展現，向帶有B16F10腫瘤之小鼠以單次劑量形式給予1 mg/kg xmPD1-IL15 M1展現顯著腫瘤抑制，而無任何體重損失。圖11G展現，當單次劑量之1 mg/kg xmPD1可損害B16F10腫瘤生長時，

xmPD1-IL15 M1 展現顯著改良大於單獨xmPD1。圖11H標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。在1 mg/kg 下經單次劑量之xmPD1-IL15 M1或1 mg/kg xmPD1處理之小鼠均不展現相對於基線之任何體重損失。

### 【0322】

#### 實例9：小鼠同基因型MC38結腸腺癌腫瘤模型中之標靶IL-15分子之抗腫瘤功效

此實例展現各種化合物(包括2 PD-1靶向IL-15突變蛋白)對小鼠同基因型MC38結腸腺癌腫瘤模型中之小鼠之小鼠腫瘤生長及體重變化之作用。為了評估此腫瘤模型中之PD-1靶向IL-15突變蛋白之作用，進行以下實驗。

【0323】 向雌性C57/B16小鼠大腿中皮下植入約500,000個MC38細胞，其自單一低代小瓶(具有 $1 \times 10^7$ 個細胞)新鮮解凍且培養建立植入足夠的細胞所需之最短時間。當獲得足夠的具有 $60-90 \text{ mm}^3$  (如(長度 $\times$ 寬度 $^2$ )/2所定義)之可見腫瘤質量之動物時，緊接著在給藥之前將小鼠隨機分為群組(n=10隻動物)。皮下注射(頸背)各相關化合物，一次(第0天，定義為第一次給藥當天)，至給定群組之各動物中。在整個實驗過程中追蹤腫瘤體積及體重。一旦動物腫瘤體積量測為至少 $2000 \text{ mm}^3$ ，處死動物。

【0324】 圖11I及11J描繪研究結果，其中帶有腫瘤之小鼠以5、1、0.3或0.1 mg/kg之濃度用xmPD1-IL15 M1給藥；或PBS作為媒劑對照。圖11I標繪在第0天(藥物注射第一天)開始之植入腫瘤之尺寸。接受5、1或0.3 mg/kg抗小鼠PD-1-IL15 M1之群組中之動物經歷平均腫瘤體積及每隻單獨動物之腫瘤體積之劑量依賴性抑制。以下表20概述在研究結束時相對

於每次處理測定為無腫瘤之小鼠之數目。5 mg/kg xmPD1-IL15 M1到研究結束時產生最高數目之無腫瘤小鼠(9/10)。圖11J標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。接受5 mg/kg xmPD1-IL15 M1之動物產生相對於D0暫時的13.2%體重損失，截至研究結束返回至基線水準。

### 【0325】

表20.在研究結束時無腫瘤小鼠之數目。

處理組	無腫瘤小鼠*
PBS	0/10
xmPD1-IL15 M1 0.1 mg/kg	0/10
xmPD1-IL15 M1 0.3 mg/kg	2/10
xmPD1-IL15 M1 1 mg/kg	4/10
xmPD1-IL15 M1 5 mg/kg	9/10

\* 基於研究結束時之腫瘤尺寸不明顯或量測小於D0 (給藥開始)腫瘤體積之小鼠，測定無腫瘤小鼠。

【0326】 圖11K及11L描繪研究結果，其中帶有腫瘤之小鼠以5、1、0.3或0.1 mg/kg之濃度用xmPD1-IL15 M2給藥；或PBS作為媒劑對照。圖11K標繪在第0天(藥物注射第一天)開始之植入腫瘤之尺寸。接受5、1或0.3 mg/kg抗小鼠PD-1-IL15 M2之群組中之動物經歷平均腫瘤體積及每隻單獨動物之腫瘤體積之劑量依賴性抑制。以下表21概述在研究結束時相對於每次處理測定為無腫瘤之小鼠之數目。5 mg/kg xmPD1-IL15 M2到研究結束時產生最高數目之無腫瘤小鼠(4/10)。圖11L標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。在整個研究中，上文所描述之劑量之xmPD1-IL15 M2不會產生任何體重損失。

### 【0327】

表21.在研究結束時無腫瘤小鼠之數目。

處理組	無腫瘤小鼠*
PBS	0/10
xmPD1-IL15 M2 0.1 mg/kg	0/10

xmPD1-IL15 M2 0.3 mg/kg	0/10
xmPD1-IL15 M2 1 mg/kg	3/10
xmPD1-IL15 M2 5 mg/kg	4/10

\* 基於研究結束時之腫瘤尺寸不明顯或量測小於D0 (給藥開始)腫瘤體積之小鼠，測定無腫瘤小鼠。

### 【0328】

#### 實例10.表徵靶向IL-15對小鼠免疫細胞群體之作用

此實例描述一種使用脾臟及腫瘤浸潤性淋巴細胞之免疫細胞表型，評定向小鼠投與PD-1靶向IL-15突變蛋白之功能性後果的方法。

【0329】 帶有B16F10腫瘤之小鼠已基本上如實例8表14中所描述確立，其中每個處理組n=4或5隻小鼠。當表22列出各群組接受之化合物及每組動物之數目時：

表22.用於免疫細胞剖析研究之處理組。

群組	處理
1	PBS, n=5
2	xmPD1-IL15 NQ, 0.3 mg/kg, n=4
3	xmPD1, 0.3 mg/kg, n=5
4	Ab8.8-IL15 NQ, 0.3 mg/kg, n=5

【0330】 脾臟細胞及腫瘤細胞懸浮液獲自如實例7中所描述之各動物。所得細胞懸浮液隨後用螢光標記之抗體或活力染料之以下混合液染色，如以下表23所指示：

表23.用於免疫細胞剖析研究之抗體及存活的/死亡的染料染色圖。

標靶	標籤	選殖	製造商	稀釋度
L/D Blue			Life Tech	1:100
CD45	A700	30-F11	Biolegend	1:100
CD90.2	BUV395	30-H12	Biolegend	1:100
CD4	PerCPCy5.5	GK1.5	Biolegend	1:100
CD8	BV785	53-6.7	Biolegend	1:100
FoxP3	Pac Blue	FJK-16s	eBiosciences	1:50
xhFc	APC	H2	Southern Biotech	1:500
CD16	APCe780	ebioCB16	Invitrogen	
穿孔素	PE	dG9	Biolegend	

【0331】 如實例7中所描述進行染色、洗滌及藉由流式細胞測量術

之細胞分析。

【0332】 圖12A展示經設計以偵測經分離之脾臟細胞或腫瘤浸潤性淋巴細胞上之Ab8.8-IL15 NQ、xmPD1-IL15 NQ或xPD-1之實驗結果。來自腫瘤(柱狀圖，展示於頂部列)或脾臟(展示於底部列)之T細胞(活的，單重峰，CD90.2+)進一步細分成CD8+ (左列)或CD4+ (右列)。各細胞群體之重疊柱狀圖展示用來自經如緊接於各圖列出之化合物處理之動物之抗人類Fc (以偵測重組分子中之每一者中存在之共同人類IgG Fc部分)染色彼等細胞之結果。xmPD1-NQ分子於CD8+ TIL上偵測到且於CD4+ TIL上程度更小，鏡像處理xmPD1分子之偵測，儘管具有更低強度。Ab8.8-IL15 NQ分子在上述背景水準下於CD8+ TIL上未偵測到。在分析時，對於來自CD4+或CD8+脾臟細胞之所有分子觀測到極少高於背景之染色信號。表24概述獲自此實驗中包括之所有動物之染色脾臟細胞及TIL的結果。

【0333】

表24.來自各種處理組之小鼠之抗人類Fc+脾臟細胞或TIL之概述。

腫瘤				脾臟			
樣品編號	處理組	xFc+CD8+%	xFc+CD4+%	樣品編號	處理組	xFc+CD8+%	xFc+CD4+%
T1	xPD1	85.9	70.3	S1	xPD1	3.84	4.75
T2	xPD1	68.6	87.1	S2	xPD1	1.64	15.5
T3	xPD1	87.4	57.4	S3	xPD1	1.98	7.64
T4	xPD1	81.1	69.7	S7	xPD1-IL15 NQ	0.25	1.39
T5	xPD1	88	66.7	S8	xPD1-IL15 NQ	0.48	0.91
T7	xPD1-IL15 NQ	63.2	22.5	S9	xPD1-IL15 NQ	0.27	0.84
T8	xPD1-IL15 NQ	39.8	12.8	S10	xPD1-IL15 NQ	0.23	2.17
T9	xPD1-IL15 NQ	51.7	22.5	S11	Ab8.8-IL15 NQ	0.049	0.28
T10	xPD1-IL15 NQ	23.8	12.9	S12	Ab8.8-IL15 NQ	0.074	0.2
T11	Ab8.8-IL15 NQ	0.68	1	S13	Ab8.8-IL15 NQ	0.44	0.32
T12	Ab8.8-IL15 NQ	2.06	5.88	S14	Ab8.8-IL15 NQ	13.1	0.23
T13	Ab8.8-IL15 NQ	1.1	3.5	S15	Ab8.8-IL15 NQ	0.84	0.14
T14	Ab8.8-IL15 NQ	2.09	3.56	S16	PBS	0.17	0.096
T15	Ab8.8-IL15 NQ	1.72	6.18	S17	PBS	0.07	0.089
T16	PBS	0.56	0.93	S18	PBS	0.092	0.14
T17	PBS	0.38	0.44	S19	PBS	0.089	0.14
T18	PBS	0.33	0.44	S20	PBS	0.031	0.12

T19	PBS	2.2	1.02				
T20	PBS	0.25	0.21				

【0334】 總之，抗PD1及xmPD1-IL15 NQ展示類似靶向模式：具體言之，其富集於腫瘤駐留CD8+ T細胞上。

【0335】 另外，分析此等相同染色脾臟細胞及TIL以評定歸因於前述處理之免疫細胞頻率變化。圖12B及圖12C分別描繪歸因於脾臟細胞或TIL之各種處理之免疫細胞亞群變化。圖12D標繪脾臟及腫瘤中之T細胞之CD8:CD4比率。值得注意的是，腫瘤中之CD8:CD4 T細胞比率因xmPD1-IL15 NQ處理而提高，但未因Ab8.8-IL15 NQ或xmPD1處理而提高。處理組中之任一者中之脾臟CD8:CD4比率均無變化。因此，使用IL-15 NQ突變蛋白之PD-1靶向版本導致CD8:CD4比率之顯著變化以及抗腫瘤功效之顯著差異(圖10A)。

【0336】 圖13描述一種評定使用外周血液及腫瘤浸潤性淋巴細胞之免疫細胞表型向小鼠投與PD-1靶向IL-15突變蛋白M1及M2之藥效動力學作用的方法。

【0337】 帶有B16F10腫瘤之小鼠已基本上如實例8表15中所描述確立，其中每個處理組n=5隻小鼠。當表25列出各群組接受之化合物及每組動物之數目時：

表25.用於免疫細胞剖析研究之處理組。

群組	處理
1	PBS , n=5
2	xmPD1-IL15 M1 , 0.3 mg/kg , n=5
3	xmPD1-IL15 M1 , 1 mg/kg , n=5
4	xmPD1-IL15 M2 , 1 mg/kg , n=5
5	xmPD1-IL15 M2 , 3 mg/kg , n=5

【0338】 外周血液及腫瘤細胞懸浮液在如實例7中所描述之xmPD1-IL15處理後第3天、第6天或第9天獲自各動物。所得細胞懸浮液隨後用螢

光標記之抗體或活力染料之混合液染色，如表23中所指示。如實例7中所描述進行染色、洗滌及藉由流式細胞測量術之細胞分析。

**【0339】** 圖13A及13B展示在第6天外周血液或腫瘤浸潤性淋巴細胞中之NK、CD8+ T及Treg細胞之絕對計數，其展示分別藉由xmPD1-IL15 M1及xmPD1-IL15 m2具有最大作用。xmPD1-IL15突變蛋白在外周血液及腫瘤中均未擴增Treg細胞。在外周血液中NK細胞擴增超過CD8+ T細胞，尤其在較高劑量下。此係由於NK細胞具有較高IL-2受體表現水準，而CD8+ T細胞不具有PD-1表現或具有較低PD-1表現。但在腫瘤中CD8+ T細胞擴增超過NK細胞，表明相對於NK細胞，xmPD1-IL15突變蛋白經由CD8+ TIL上之PD-1靶向腫瘤。

**【0340】** 進行三個研究以測定xmPD1-M1之抗腫瘤功效需要何種免疫細胞類型及療效是否需要T細胞遷移：NK1.1+耗盡、CD8 T細胞耗盡及FTY720 (T細胞遷移抑制劑)處理(展示於圖13C、13D及13E中)。用aCD8b抗體(選殖53-5.8，i.p.給藥350 mg，M1注射前第3天及第1天及其後每週)耗盡CD8 T細胞。用aNK1.1抗體(選殖PK136，i.p. 200 µg，1 mg/kg M1注射前2天及其後每週)耗盡NK細胞。對照組包括IgG2a同型(選殖C1.18.4)及IgG1同型(選殖TNP6A7)。在1 mg/kg M1注射之前第3天及第1天及其後每隔3天i.p. 1 mg/kg給藥FTY720化合物。

**【0341】** 圖13C及13D展示在含有NK及NK T細胞之1 mg/kg xmPD1-IL15 M1. NK1.1+細胞處理之後耗盡CD8 T及NK1.1+細胞對B16模型中之抗腫瘤功效之對應作用。此等研究表明在CD8 T細胞不存在但NK1.1+細胞存在下xmPD1-M1療效受損。

**【0342】** 圖13E展示在1 mg/kg xmPD1-IL15 M1處理之後抑制T細

胞釋放之FTY420處理對B16模型中之抗腫瘤功效之作用。結果展示療效不需要T細胞遷移。

### 【0343】

#### 實例11.表徵靶向IL-15對活體內細胞介素產生之作用

此實例描述一種評定向小鼠投與PD-1靶向IL-15突變蛋白之功能性後果的方法，其係藉由評定外周血液中存在之細胞介素。

【0344】 用化合物皮下給藥雌性(8週齡) C57B6/6J小鼠(Jackson Laboratories, Sacramento, CA)且劑量如以下表26中所列出：

表26.活體內細胞介素研究之處理組.

群組	處理
1	xmPD1-IL15 NQ, 1 mg/kg
2	xmPD1-IL15 NQ, 0.3 mg/kg
3	xmPD1-IL15RaSu, 1 mg/kg
4	xmPD1-IL15RaSu, 0.3 mg/kg
5	Ab8.8-IL15 NQ, 1mg/kg
6	Ab8.8-IL15 NQ, 0.3 mg/kg

【0345】 藉由頷下靜脈穿刺(活著)或藉由心臟穿刺(在用CO<sub>2</sub>安樂死之後立即)在給藥後0小時、2小時、4小時、6小時、24小時、48小時、72小時、96小時及120小時(每個時間點n=3隻小鼠)收集血液且在微1.1 ml Z凝膠管(Sarstedt, Numbrecht, Germany)中處理血清。根據小鼠及大鼠<http://oacu.od.nih.gov/ARAC/survival.pdf>之存活期出血NIH指南隨訪各小鼠中抽取之血液之適當體積。所有動物保持在AAALAC認可設備中且根據如實驗室動物護理及使用指南(Institute on Laboratory Animal Resources, Rockville, MD)中所描述之建議使用。

【0346】 使用多光點電化學發光U-叢分析(Meso Scale Discovery, Rockville, MD)來量測包括IFN $\gamma$ 及IL-6之多種血清細胞介素。在分析緩衝液中製得各小鼠樣品之1:5稀釋度之總血清且添加至培養盤中，在4°C下培

育隔夜。如製造商所描述遵循其餘步驟。資料標繪為SEM群組且當比較2個群組或雙向ANOVA時藉由t試驗，繼而杜凱氏(Tukey's)多次比較試驗(GraphPad Prism, La Jolla, CA)進行統計數據。

**【0347】** 圖14展示由分析各種處理組動物中之血清細胞介素水準獲得之結果。圖14A展示IFN $\gamma$ 之量測水準。值得注意的是，與其他處理組之動物相比，xmPD1-IL15RaSu-IL15處理組動物具有明顯更高的IFN $\gamma$ ，直至給藥後48小時。在第72小時，與xmPD1-IL15RaSu-IL15 0.3 mg/kg群組之動物相比，xmPD1-IL15 NQ處理之動物展現略微更高的IFN $\gamma$ ；且在第96小時，與任何其他群組之小鼠相比，兩個xmPD1-IL15 NQ群組之動物均具有略微更高的IFN $\gamma$ 。此差異保持直至研究結束(給藥後120小時)。相比之下，接受非靶向NQ突變體IL15之動物(亦即，Ab8.8-IL15 NQ動物)在48及72小時時間點產生明顯更低的IFN $\gamma$ 。因此，所測試之分子之間的IFN $\gamma$ 產量之動力學及最大響應不同，其中在等效劑量下，相比於含有野生型IL-15之分子，NQ變體產生降低的IFN $\gamma$ 水準。此外，抗PD-1靶向臂之存在導致IFN $\gamma$ 產量之顯著差異，突顯使用標靶驅動細胞介素模態之價值。

**【0348】** 圖14B展示如各種處理組中所量測之細胞介素IL-6之水準。在比較1 mg/kg下所有三個測試組時，與其他處理組之動物相比，mPD1-IL15RaSu-IL15處理組動物具有明顯更高的IL-6，直至給藥後48小時。在72-120小時時間點樣品中，群組xmPD1-IL15 NQ產生與xmPD1-IL15RaSu-IL15 1 mg/kg處理組之彼等者相當的IL-6水準。相比之下，Ab8.8-IL15 NQ群組之動物產生始終如一的IL-6量，其始終等效於或低於PD-1靶向形式所產生的水準。IL-6產生之類似模式見於0.3 mg/kg群組

中，其中xmPD1-IL15RaSu-IL15產生早期較高峰，繼而xmPD1-IL15 NQ產生稍後新出現且持續更長時間的峰。因此，NQ變體與其野生型IL-15部分對應物之不同之處在於在相當劑量下活體內產生之兩種發炎性細胞介素之動力學及最大輸出；且靶向NQ在多個時間點產生與非靶向NQ相比更多的IFN $\gamma$ 及IL-6。

### 【0349】

#### 實例12：使用人類外周血液單核細胞(hPBMC)之抗人類PD-1-IL15 M1及M2分子之活體外功能性分析

在此實例中，將靶向抗人類PD-1--IL15與來自hPBMC之人類NK細胞、CD8<sup>+</sup>效應記憶(em) T細胞及CD8<sup>+</sup>中樞記憶(cm) T細胞上的非靶向同型對照-抗體--IL15嵌合分子對誘導pSTAT5之作用進行比較。

【0350】自健康志願者獲取血液且使用菲科爾-帕克(ficoll-paque) (GE Healthcare)梯度分離hPBMC，用PBS洗滌以移除血小板，且使用ACK裂解緩衝液(Gibco)清除紅血細胞。隨後以 $2 \times 10^6$ 個細胞/孔將細胞接種於50  $\mu$ l無血清RPMI 1640培養基(Gibco)中，且在37°C下靜置2-4小時。在靜置之後，在37°C下以給定濃度用所列出之分子(表18)處理細胞30分鐘。隨後立即在室溫下用2% PFA (Electron Microscopy Sciences)固定細胞10分鐘，其後將其在4°C下染色表面標記物30分鐘。隨後再次在室溫下用2% PFA固定細胞10分鐘，隨後再懸浮於冷滲透緩衝液III (BD)中，且儲存於-20°C下隔夜。第二天，將細胞在滲透緩衝液(電子生物科學(ebioscience))中使用抗體(如以下表27中所描述)染色細胞內標記物45分鐘，隨後藉由流式細胞測量術進行分析。

### 【0351】

表27.用於染色hPBMC中之不同淋巴細胞之抗體及用於流式細胞測量術之pSTAT5活性.

標靶	標籤	純系	供應商
CD45	BV605	HI30	Biolegend
CD3	BUV395	SK7	BD
CD4	BV711	RPA-T4	Biolegend
CD8	BV510	SK1	Biolegend
CD25	BV421	BC96	Biolegend
CD62L	BV786	DREG-56	Biolegend
CD45RO	FITC	UCHL1	Biolegend
CD16	APCe780	ebioCB16	Invitrogen
穿孔素	PE	dG9	Biolegend
pSTAT5	A647	47/STAT5(p694)	BD

【0352】 圖15A-15F描繪將靶向抗人類PD-1 (xhPD1)--IL15及非靶向同型對照-抗體--IL15嵌合分子添加至hPBMC中之作用，其中其在人類NK細胞、CD8<sup>+</sup> em T細胞及CD8<sup>+</sup> cm T細胞上產生不同pSTAT5活化。在NK細胞中，相比於同型對照--IL15 (圖15A中之M1及圖15D中之M2)，xhPD1--IL15無顯著靶向活性，因為NK細胞不具有PD-1表現或具有較低PD-1表現(表28)。在CD8<sup>+</sup> em T細胞及CD8<sup>+</sup> cm T細胞中，相比於同型對照--IL15 (圖15B-15C中之M1及圖15E-15F中之M2)，xhPD1--IL15存在顯著靶向活性，因為CD8<sup>+</sup> em T細胞及CD8<sup>+</sup> cm T細胞具有PD-1表現(表28)。NK細胞上之同型對照--IL15之EC50值比CD8<sup>+</sup> em T細胞及CD8<sup>+</sup> cm T細胞上之值低3-4倍，確證NK細胞對IL15活化更敏感，此一般歸因於其具有較高水準之CD122/CD132表現。然而，由於彼等細胞類型上之PD-1表現驅動之靶向活性，CD8<sup>+</sup> cm T細胞及CD8<sup>+</sup> cm T細胞對xPD1-IL15活化更敏感。此實例展示，相對於如先前實例中所示之人類系統以及小鼠系統中之PD-1 (較低)細胞，xPD1--IL15亦可優先活化PD-1+細胞。以下表28概述前述分子之所計算之EC50值，且亦呈現隨著同型對照--IL15與xhPD1--IL15之間的EC50比率之倍數變化。

## 【0353】

表28.

3個健康供體之平均值	FMO / %PD-1	FMO / MFI PD-1	EC50 (nM)				倍數變化*	
			同型對照--IL15 M1	xhPD1--IL15 M1	同型對照--IL15 M2	xhPD1--IL15 M2	M1	M2
<b>NK細胞</b>	1.4 / 6.55	495 / 491	0.9455	0.4746	11.22	8.266	1.99	1.36
<b>CD8<sup>+</sup>em T細胞</b>	2.53 / 70.4	-3.76 / 897						
<b>CD8<sup>+</sup>cm T細胞</b>	2.89 / 61.3	-10.1 / 742	3.665	0.07804	37.63	0.4916	46.96	76.55

\* 倍數變化= EC50 (同型對照--IL15)/ EC50 (xhPD1--IL15)

## 【0354】

### 實例13：MC38模型中抗小鼠PD-1-IL15 M1及抗EDA-IL-10融合蛋白之活體內療效研究

此實例描述一種評定投與PD-1-靶向IL-15分子(xPD1-IL15 M1)以及抗EDA-IL-10融合蛋白(xEDA-IL 10)之抗腫瘤功效的方法。小鼠給藥如下：xPD1-IL15 M1在第0天以0.3 mg/kg或1 mg/kg給藥且抗EDA-IL-10融合蛋白(xEDA-IL 10)在第0天以5 mg/kg每次劑量給藥且其後每週2次，總共5次劑量。如圖16A及16B中所示，在與抗EDA-IL-10融合蛋白(xEDA-IL 10)及尤其較低劑量(0.3 mg/kg) xPD1-IL15 M1組合投與之xPD1-IL15 M1之兩次劑量中觀測到協同作用。

【0355】 圖16C標繪在整個研究中各處理組中之動物之平均體重變化(相對於基線，在第0天)。在第6天，經單次劑量之1 mg/kg xPD1-IL15 M1以及5 mg/kg抗EDA-IL-10融合蛋白(xEDA-IL 10)處理之小鼠展現相對於基線12%之平均體重損失。此重量損失為暫時的，其中截至下一次量測(3天後)體重返回至基線。研究持續時間無其他處理組展現任何重量損失。

**【0356】** 儘管已參考不同申請案、方法、套組及組合物描述所揭示之教示內容，但應瞭解，在不偏離本文中之教示內容及下文所主張之本發明之情況下可進行不同變化及修改。提供前述實例以更好地說明所揭示之教示內容，且不意欲限制本文中呈現教示內容之範疇。儘管已根據此等例示性實施例描述本發明之教示內容，但熟習此項技術者將容易理解在無不當實驗情況下可能對此等例示性實施例進行許多變化及修改。所有此類變化及修改皆在本教示內容之範疇內。

**【0357】** 本文中所引用之全部參考文獻(包括專利案、專利申請案、論文、課本及類似者)及其中引用的參考文獻至其尚未引用之程度，在此以全文引用之方式併入本文中。在所併入文獻及類似材料中之一或多者(包括但不限於定義之術語、術語用法、所描述之技術或其類似物)與本申請案不同或矛盾的情況下，以本申請案為準。

**【0358】** 前述描述及實例詳述本發明的某些特定實施例，且描述本發明人預期之最佳模式。然而應瞭解，無論文中呈現之前述內容如何詳細，本發明仍可以許多方式實踐，且本發明應根據隨附申請專利範圍及其任何等效物來解釋。

## 【序列表】

110年9月6日修正本

&lt;110&gt; 美商輝瑞大藥廠(Pfizer Inc.)

&lt;120&gt; IL-15變體及其用途

&lt;140&gt; 108106585

&lt;141&gt; 2019-02-26

&lt;150&gt; US 62/636,362

&lt;151&gt; 2018-02-28

&lt;150&gt; US 62/636,371

&lt;151&gt; 2018-02-28

&lt;150&gt; US 62/784,302

&lt;151&gt; 2018-12-21

&lt;160&gt; 99

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 114

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 1

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1                    5                                    10                                    15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
                   20                                    25                                    30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
                   35                                    40                                    45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
                   50                                    55                                    60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
                   65                                    70                                    75                                    80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 100 105 110

Thr Ser

<210> 2

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 2

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

# I776024

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 3

<211> 444

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 3

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe



Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 4  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 4

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

# I776024

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys  
210 215 220

Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln  
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440 445

<210> 5

<211> 162

<212> PRT

<213> 智人

<400> 5

Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr  
 1 5 10 15

Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His  
 20 25 30

Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys Thr Glu Ala  
 35 40 45

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 50 55 60

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His



# I776024

1 5 10 15

<210> 8

<211> 241

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 8

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
1 5 10 15

Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
20 25 30

Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
50 55 60

Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly  
65 70 75 80

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
85 90 95

Gly Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu  
100 105 110

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val  
115 120 125

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu  
130 135 140

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val  
145 150 155 160

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn  
 165 170 175

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn  
 180 185 190

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile  
 195 200 205

Asn Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly His His His His His His His His  
 210 215 220

Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His  
 225 230 235 240

Glu

<210> 9

<211> 144

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 9

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
 35 40 45

Arg Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
 50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
100 105 110

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly His His His His His His His His Gly  
115 120 125

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
130 135 140

<210> 10

<211> 144

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 10

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
35 40 45

Asn Ala Thr Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
65 70 75 80

# I776024

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
100 105 110

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly His His His His His His His His Gly  
115 120 125

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
130 135 140

<210> 11

<211> 144

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 11

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
35 40 45

Asn Ala Thr Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Gln Val  
65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

# I776024

100

105

110

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly His His His His His His His His Gly  
115 120 125

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
130 135 140

<210> 12

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 12

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 13  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 13

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

Asp Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
           20                   25                   30

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

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
       50                   55                   60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65                   70                   75                   80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp  
           85                   90                   95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
           100                   105

<210> 14  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 14

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 1                   5

<210> 15  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 15

Ser Tyr Trp Met Ser  
1 5

<210> 16  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 16

Ser Pro Ser Gly Gly Ser  
1 5

<210> 17  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 17

Ala Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 18  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>

# I776024

<223> 合成構築體

<400> 18

Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu  
1 5

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 19

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala  
1 5 10

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 20

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser  
1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 21

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr  
1 5

<210> 22

<211> 668

<212> PRT

# I776024

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 22

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

# I776024

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro  
450 455 460

Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr  
465 470 475 480

Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly  
485 490 495

Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala  
500 505 510

His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val  
515 520 525

His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val Asn Val  
545 550 555 560

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile  
565 570 575

# I776024

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val  
580 585 590

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu  
595 600 605

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu  
610 615 620

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys  
625 630 635 640

Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln  
645 650 655

Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
660 665

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 23

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly  
1 5

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala  
1 5 10

# I776024

<210> 25  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 25

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

Ser Gly Gly

<210> 26  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 26

His His His His His His His His  
1 5

<210> 27  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 27

His His His His His His  
1 5

<210> 28  
<211> 461  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

# I776024

<400> 28

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

Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly  
20 25 30

Gly Ser Leu Glu Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser  
35 40 45

Tyr Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp  
50 55 60

Val Ala Ala Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser  
65 70 75 80

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu  
85 90 95

Phe Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr  
100 105 110

Cys Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly  
115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
180 185 190

# I776024

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
195 200 205

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Arg Val Arg  
225 230 235 240

Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu  
245 250 255

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
260 265 270

Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln  
275 280 285

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
290 295 300

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu  
305 310 315 320

Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
325 330 335

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
340 345 350

Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
355 360 365

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
370 375 380

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
385 390 395 400

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly  
 405 410 415

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 420 425 430

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 435 440 445

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 29

<211> 570

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 29

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr

# I776024

290

295

300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser  
450 455 460

Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asn Ala  
465 470 475 480

Thr Leu Phe Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala  
485 490 495

Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln Val Ile Ser Leu Gln Ser Gly  
 500 505 510

Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn  
 515 520 525

Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu  
 530 535 540

Cys Gln Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe  
 545 550 555 560

Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 30

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 30

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

Asp Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 20 25 30

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

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80

# I776024

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 31

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Trp Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu  
1 5 10 15

Thr

<210> 32  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 32

Trp Thr Ser Tyr Arg Glu Ser  
1 5

<210> 33  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 33

Gln Asn Asp Tyr Phe Tyr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 34  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 34

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

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

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

# I776024

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Ile Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 35

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 35

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Trp Asp Ser  
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Tyr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85

90

95

Asp Tyr Phe Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

<210> 36

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 36

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 37  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 37

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Trp Asp Ser  
           20                   25                   30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
           35                   40                   45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Tyr Arg Glu Ser Gly Val  
           50                   55                   60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65                   70                   75                   80

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

Asp Tyr Phe Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
           100                   105                   110

Lys

<210> 38  
 <211> 571  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

# I776024

<400> 38

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

# I776024

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 39

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

# I776024

<220>

<223> 合成構築體

<400> 39

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180

185

190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 40

# I776024

<211> 571  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 40

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

# I776024

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ser Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 41  
 <211> 571  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 41

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly

355

360

365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Lys Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 42  
 <211> 571  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 42

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

# I776024

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ser Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

# I776024

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Ala Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 43

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 43

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly

# I776024

130

135

140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Lys Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys

# I776024

530

535

540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Ala Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 44

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 44

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

# I776024

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Ala Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 45

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 45

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

# I776024

305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Lys Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 46

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 46

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

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

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

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

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

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

# I776024

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Lys Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

# I776024

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 47

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 47

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Lys Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr

485

490

495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Lys Ile Ser Leu Glu Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 48

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 48

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

# I776024

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Lys Ile Ser Leu Glu Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 49

<211> 668

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 49

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe

260

265

270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro  
 450 455 460

Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr  
465 470 475 480

Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly  
485 490 495

Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala  
500 505 510

His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val  
515 520 525

His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val Asn Val  
545 550 555 560

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile  
565 570 575

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val  
580 585 590

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu  
595 600 605

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu  
610 615 620

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys  
625 630 635 640

Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln  
645 650 655

Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr

660

665

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 668

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成構築體

&lt;400&gt; 50

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

# I776024

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro  
450 455 460

Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr  
465 470 475 480

Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly  
485 490 495

Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala  
500 505 510

His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val  
515 520 525

His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val Asn Val  
545 550 555 560

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile  
 565 570 575

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val  
 580 585 590

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu  
 595 600 605

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ser Leu  
 610 615 620

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys  
 625 630 635 640

Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln  
 645 650 655

Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 660 665

<210> 51

<211> 668

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 51

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

245

250

255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro  
 450 455 460

Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr  
 465 470 475 480

Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly  
 485 490 495

Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala  
 500 505 510

His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val  
 515 520 525

His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val Lys Val  
 545 550 555 560

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile  
 565 570 575

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val  
 580 585 590

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu  
 595 600 605

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu  
 610 615 620

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys  
 625 630 635 640

Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln

645

650

655

Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 660 665

<210> 52

<211> 668

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 52

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro  
 450 455 460

Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr  
 465 470 475 480

Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly  
 485 490 495

Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala  
 500 505 510

His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val  
 515 520 525

His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val Asn Val  
545 550 555 560

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile  
565 570 575

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val  
580 585 590

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu  
595 600 605

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu  
610 615 620

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys  
625 630 635 640

Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln  
645 650 655

Ser Phe Val His Ile Val Gln Ala Phe Ile Asn Thr  
660 665

<210> 53

<211> 668

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 53

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

# I776024

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro  
450 455 460

Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr  
465 470 475 480

Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly  
485 490 495

Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala  
500 505 510

His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val  
515 520 525

His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val Asn Val  
545 550 555 560

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile  
565 570 575

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val  
580 585 590

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu  
595 600 605

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ser Leu  
610 615 620

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys



Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

# I776024

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro  
450 455 460

Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr  
465 470 475 480

Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly  
485 490 495

Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala  
500 505 510

His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val  
515 520 525

His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val Lys Val  
 545 550 555 560

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile  
 565 570 575

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys Val  
 580 585 590

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu  
 595 600 605

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile Leu  
 610 615 620

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys  
 625 630 635 640

Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln  
 645 650 655

Ser Phe Val His Ile Val Gln Ala Phe Ile Asn Thr  
 660 665

<210> 55

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 55

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys

210

215

220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 56

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 56

# I776024

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

# I776024

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Arg Ile Ser Leu Gln Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 57

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

&lt;400&gt; 57

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser

# I776024

385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 58  
<211> 571  
<212> PRT

# I776024

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 58

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

# I776024

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
565 570

# I776024

<210> 59  
<211> 571  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 59

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165

170

175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln Val Ile Ser Leu Gln Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr

565

570

<210> 60  
 <211> 571  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 60

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

# I776024

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Gln Ser  
500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 61

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 61

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
 210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

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

340

345

350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln Val Ile Ser Leu Gln Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

# I776024

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
565 570

<210> 62  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 62

Leu Thr Thr Gly Thr Phe Ala Tyr  
1 5

<210> 63  
<211> 571  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 63

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys  
210 215 220

Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

275

280

285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Arg Thr Ser Ala Thr Ala Thr Pro Gly Ala Asn Trp Val Asn Val Ile  
 450 455 460

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr  
 485 490 495

Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Arg Ile Ser Leu Glu Ser  
 500 505 510

Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala  
 515 520 525

Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys  
 530 535 540

Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr  
 565 570

<210> 64

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 64

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

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

# I776024

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala  
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325

<210> 65

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 65

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Trp Asp Ser  
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
 35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Tyr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65 70 75 80

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

Asp Tyr Phe Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp  
 115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn  
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu  
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp  
 165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
 180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
 195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215 220

<210> 66

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 66

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

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

# I776024

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Arg Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

# I776024

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 67

<211> 671

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 67

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser



Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu  
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Thr Cys Pro  
450 455 460

Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser  
465 470 475 480

Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys  
485 490 495

Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn  
500 505 510

Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala  
515 520 525

Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
530 535 540

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Val

545 550 555 560

Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met  
565 570 575

His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys  
580 585 590

Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser  
595 600 605

Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile  
610 615 620

Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser  
625 630 635 640

Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe  
645 650 655

Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
660 665 670

<210> 68

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 68

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
225 230 235 240

# I776024

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu  
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asn Trp Val Asn  
 450 455 460

Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His  
 465 470 475 480

Ile Asn Ala Thr Leu Phe Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys  
 485 490 495

Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln Val Ile Ser Leu  
 500 505 510

Gln Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile  
 515 520 525

Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly  
 530 535 540

Cys Lys Glu Cys Gln Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu  
 545 550 555 560

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
 565 570

<210> 69

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 69

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val



His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asn Trp Val Asn  
 450 455 460

Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His  
 465 470 475 480

Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys  
 485 490 495

Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu  
 500 505 510

Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile  
 515 520 525

Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly  
 530 535 540

Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu  
 545 550 555 560

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
 565 570

<210> 70

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 70

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

# I776024

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu  
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

# I776024

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asn Trp Val Asn  
450 455 460

Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His  
465 470 475 480

Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys  
485 490 495

Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu  
500 505 510

Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile  
515 520 525

Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly  
530 535 540

Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu  
545 550 555 560

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
565 570

<210> 71

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 71

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

# I776024

1                    5                    10                    15

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
                  115                    120                    125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
                  130                    135                    140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145                    150                    155                    160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
                  165                    170                    175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
                  180                    185                    190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
                  195                    200                    205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

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

405

410

415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asn Trp Val Gln  
 450 455 460

Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His  
 465 470 475 480

Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys  
 485 490 495

Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu  
 500 505 510

Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile  
 515 520 525

Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly  
 530 535 540

Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu  
 545 550 555 560

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
 565 570

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 574

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成構築體

# I776024

<400> 72

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

# I776024

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu  
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Lys Trp Val Asn  
 450 455 460

Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His  
 465 470 475 480

Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys  
 485 490 495

Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu  
 500 505 510

Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile  
 515 520 525

Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly  
 530 535 540

Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu  
 545 550 555 560

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
 565 570

- <210> 73
- <211> 574
- <212> PRT
- <213> 人工序列

# I776024

<220>

<223> 合成構築體

<400> 73

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180

185

190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asn Trp Val Asn  
450 455 460

Val Ile Thr Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His  
465 470 475 480

Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys  
485 490 495

Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu  
500 505 510

Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile  
515 520 525

Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly  
530 535 540

Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu  
545 550 555 560

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
565 570

<210> 74

# I776024

<211> 447  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 74

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
          115                           120                           125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
          130                           135                           140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145                           150                           155                           160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
          165                           170                           175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu  
 355 360 365

# I776024

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 75

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 75

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

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

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

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

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asn Trp Val Asn  
 450 455 460

Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His  
 465 470 475 480

Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys Lys

485

490

495

Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser Leu  
 500 505 510

Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile Ile  
 515 520 525

Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly  
 530 535 540

Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu  
 545 550 555 560

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
 565 570

<210> 76

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 76

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asn Ala Thr Leu Phe Thr Glu Ser Asp Val His  
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln  
 35 40 45

Val Ile Ser Leu Gln Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
 50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Gln Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile  
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
100 105 110

Thr Ser

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 77

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

<210> 78

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 78

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

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

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

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Leu Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Ser Thr Gly Thr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 79

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 79

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Trp Asp Ser  
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Tyr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
65 70 75 80

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

Asp Tyr Phe Tyr Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

<210> 80  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 80

Ser Tyr Trp Ile Asn  
1 5

<210> 81  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 81

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
1 5

<210> 82  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 82

Asn Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Ile Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 83  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 83

Tyr Pro Gly Ser Ser Ile  
 1 5

<210> 84  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 84

Ala Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His  
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln  
 35 40 45

Arg Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
 50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 100 105 110

Thr Ser

&lt;210&gt; 85

&lt;211&gt; 114

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成構築體

&lt;400&gt; 85

Gly Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His  
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln  
 35 40 45

Arg Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln  
 50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 100 105 110

Thr Ser

&lt;210&gt; 86

&lt;211&gt; 576

&lt;212&gt; PRT

# I776024

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 86

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

# I776024

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser  
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
340 345 350

Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys  
355 360 365

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser  
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Trp  
450 455 460

Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser  
465 470 475 480

Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser  
485 490 495

Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile  
500 505 510

Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu  
515 520 525

Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu  
530 535 540

Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu  
545 550 555 560

Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
565 570 575

# I776024

<210> 87  
<211> 576  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 87

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165

170

175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser  
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 340 345 350

Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys  
 355 360 365

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser  
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Trp  
450 455 460

Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser  
465 470 475 480

Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser  
485 490 495

Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile  
500 505 510

Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu  
515 520 525

Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu  
530 535 540

Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu  
545 550 555 560

Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

565

570

575

&lt;210&gt; 88

&lt;211&gt; 448

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成構築體

&lt;400&gt; 88

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Ser Trp Gly Ala Tyr Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser  
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu  
 340 345 350

# I776024

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys  
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 89

<211> 575

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 89

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr



Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly  
 435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Trp Val  
 450 455 460

Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met



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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val  
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255

# I776024

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
340 345 350

Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly  
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Trp Val  
450 455 460

Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met  
465 470 475 480

His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asn Val His Pro Ser Cys  
485 490 495

Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gly Leu Gln Arg Ile Ser  
500 505 510

Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Gln Asn Leu Ile  
515 520 525

Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser  
530 535 540

Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe  
545 550 555 560

Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser  
565 570 575

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 91

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Asn  
1 5 10

<210> 92

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

# I776024

<400> 92

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser  
1 5 10

<210> 93

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 93

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asn Ala Thr Leu Phe Thr Glu Ser Asp Val His  
20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Gln Leu Gln  
35 40 45

Val Ile Ser Leu Gln Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Gln Glu Leu Glu Gln Lys Asn Ile  
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
100 105 110

Thr Ser

<210> 94

<211> 117

<212> PRT

# I776024

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 94

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Thr His Leu Tyr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 95

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 95

Gly Gly Ser Gly Gly  
1 5

<210> 96  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 96

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

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

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

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

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

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

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

<210> 97  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 97

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

<210> 98  
 <211> 160  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成構築體

<400> 98

Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro  
 1 5 10 15

Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg  
 20 25 30

Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu  
 35 40 45

Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala  
 50 55 60

Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu  
 85 90 95

Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu  
 100 105 110

Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe  
 115 120 125

Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp  
 130 135 140

Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn  
 145 150 155 160

# I776024

<210> 99  
<211> 406  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成構築體

<400> 99

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

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

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

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

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr  
115 120 125

Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu  
130 135 140

Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Met Pro Phe Leu Ala Trp Tyr  
145 150 155 160

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

165

170

175

Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly  
 180 185 190

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala  
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Met Arg Gly Arg Pro Pro Thr Phe Gly Gln  
 210 215 220

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser  
 225 230 235 240

Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn  
 245 250 255

Ser Cys Thr His Phe Pro Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu  
 260 265 270

Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln  
 275 280 285

Leu Asp Asn Leu Leu Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly  
 290 295 300

Tyr Leu Gly Cys Gln Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu  
 305 310 315 320

Glu Val Met Pro Gln Ala Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His  
 325 330 335

Val Asn Ser Leu Gly Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg  
 340 345 350

Arg Cys His Arg Phe Leu Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu  
 355 360 365

# I776024

Gln Val Lys Asn Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys  
370 375 380

Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met  
385 390 395 400

Thr Met Lys Ile Arg Asn  
405

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種經分離之融合蛋白，其包含：

1)包含Fc域之抗體；及

2)包含SEQ ID NO: 1之E46G及V49R之胺基酸取代及SEQ ID NO: 1之位置N1、N4、S7、K10、K11、D22、Y26、S29、D30、V31、H32、E53、G55、E64、I68、L69、E89、E93、M109及/或I111處之至少一或多個胺基酸取代的人類介白素15(IL-15)變體，其中該IL-15變體共價連接至該抗體之Fc域，且其中相比於該野生型Fc，該Fc域之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性降低或沒有活性。

### 【請求項2】

如請求項1之融合蛋白，其中該IL-15變體包含選自由以下組成之群的位置處之胺基酸取代：

- a) N1、E46及V49；
- b) N4、E46及V49；
- c) S7、E46及V49；
- d) K10、E46及V49；
- e) K11、E46及V49；
- f) S29、E46及V49；
- g) V31、E46及V49；
- h) H32、E46及V49；
- i) E46、V49及E64；
- j) E46、V49及I68；

- k) E46、V49及L69；
- l) E46、V49及I111；
- m) N4、E46、V49及E64；
- n) E46、V49、N4、D30及E64；
- o) E46、V49、N4、D30、E64及I68；
- p) E46、V49、N4、D30、E64及M109；
- q) E46、V49、N4、D30、E64、I68及M109；
- r) N1、D30、E46及V49；
- s) N4、D30、E46及V49；
- t) S7、D30、E46及V49；
- u) K10、D30、E46及V49；
- v) K11、D30、E46及V49；
- w) S29、D30、E46及V49；
- x) D30、E46、V49及E64；
- y) D30、E46、V49R及I68；
- z) D30、E46、V49R及L69；
- aa) D30、E46、V49R及I111；
- bb) N1、D30、E46、V49及M109；
- cc) N4、D30、E46、V49及M109；
- dd) S7、D30、E46、V49及M109；
- ee) K10、D30、E46、V49及M109；
- ff) K11、D30、E46、V49及M109；
- gg) D30、E46、V49、E64及M109；

- hh) D30、E46、V49、I68及M109；
- ii) D30、E46、V49、L69及M109；
- jj) D30、E46、V49、M109及I111；
- kk) D30、E46、V49、E64、I68及M109；
- ll) E46、V49、D30、E64及I68；
- mm) E46、V49、E64及M109；
- nn) E46、V49、D30、E64、I68及M109；
- oo) D22、Y26、V49、E46、E53、E89及E93；及
- pp) N1、D30、E46、V49及E64。

**【請求項3】**

如請求項1之融合蛋白，其中該IL-15變體包含選自由以下組成之群之胺基酸取代：

- a) N1K、E46G及V49R；
- b) N4K、E46G及V49R；
- c) N4Q、E46G及V49R；
- d) S7T、E46G及V49R；
- e) V31S、E46G及V49R；
- f) V31K、E46G及V49R；
- g) E46G、V49R及E64Q；
- h) E46G、V49R及E64K；
- i) N4Q、E46G、V49R及E64Q；
- j) N1G、D30N、E46G及V49R；
- k) N1K、D30N、E46G及V49R；

- l) N1Q、D30N、E46G及V49R；
- m) N4G、D30N、E46G及V49R；
- n) N4K、D30N、E46G及V49R；
- o) N4Q、D30N、E46G及V49R；
- p) S7E、D30N、E46G及V49R；
- q) S7G、D30N、E46G及V49R；
- r) S7T、D30N、E46G及V49R；
- s) K10D、D30N、E46G及V49R；
- t) D30N、E46G、V49R及E64A；
- u) D30N、E46G、V49R及E64Q；
- v) D30N、E46G、V49R及E64K；
- w) D30N、E46G、V49R及I68S；
- x) D30N、E46G、V49R及I68K；
- y) N4K、D30N、E46G、V49R及E64K；
- z) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64K；
- aa) N4K、D30N、E46G、V49R及E64Q；
- bb) N4Q、D30N、E46G、V49R及E64Q；
- cc) N4K、D30N、E46G、V49R及I68S；
- dd) D30N、E46G、V49R、E64Q及I68S；
- ee) N1A、D30N、E46G及V49R；及
- ff) N1G、D30N、E46G、V49R及E64Q。

**【請求項4】**

如請求項1之融合蛋白，其包含SEQ ID NO:86、87、89或90之胺基

酸序列。

**【請求項5】**

如請求項1之融合蛋白，其中該抗體具有選自由以下組成之群的同型：IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>2Δa</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgG<sub>4Δb</sub>、IgG<sub>4Δc</sub>、IgG<sub>4 S228P</sub>、IgG<sub>4Δb S228P</sub>及IgG<sub>4Δc S228P</sub>。

**【請求項6】**

如請求項5之融合蛋白，其中該抗體為

a) IgG<sub>2</sub>，及包含人類IgG<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 3)之鉸鏈區中之位置223、225及/或228處及CH<sub>3</sub>區中之位置409及/或368 (EU編號方案)處之胺基酸修飾的抗體可變域；

b) IgG<sub>1</sub>，及包含人類IgG<sub>1</sub> (SEQ ID NO: 2)之鉸鏈區中之位置221及/或228處及CH<sub>3</sub>區中之409及/或368 (EU編號方案)位置處之胺基酸修飾的抗體可變域；或

c) IgG<sub>1</sub>，及包含人類IgG<sub>1</sub> (SEQ ID NO: 2)之CH<sub>3</sub>區中之位置349、354、366、368及/或407 (EU編號方案)處之胺基酸修飾的抗體可變域。

**【請求項7】**

如請求項6之融合蛋白，其中該抗體進一步包含在a)人類IgG<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 3)之一或多個位置265、330及/或331處；或b)人類IgG<sub>1</sub> (SEQ ID NO: 2)之一或多個位置234、235及/或237處的胺基酸修飾。

**【請求項8】**

如請求項1之融合蛋白，其中該抗體選自由以下組成之群：抗CTLA-4抗體、抗CD3抗體、抗CD4抗體、抗CD8抗體、抗4-1BB抗體、抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗TIM3抗體、抗LAG3抗體、抗TIGIT抗體、抗

OX40 抗體、抗IL-8 抗體、抗IL-7R $\alpha$ (CD127) 抗體、抗IL15 抗體、抗HVEM 抗體、抗BTLA 抗體、抗CD40 抗體、抗CD40L 抗體、抗CD47 抗體、抗CSF1R 抗體、抗CSF1 抗體、抗MARCO 抗體、抗CXCR4 抗體、抗VEGFR1 抗體、抗VEGFR2 抗體、抗TNFR1 抗體、抗TNFR2 抗體、抗CD3 雙特異性抗體、抗CD19 抗體、抗CD20、抗Her2 抗體、抗EGFR 抗體、抗ICOS 抗體、抗CD22 抗體、抗CD 52 抗體、抗CCR4 抗體、抗CCR8 抗體、抗CD200R 抗體、抗VISG4 抗體、抗CCR2 抗體、抗LILRb2 抗體、抗CXCR4 抗體、抗CD206 抗體、抗CD163 抗體、抗KLRG1 抗體、抗FLT3 抗體、抗B7-H4 抗體、抗B7-H3 抗體、KLRG1 抗體及抗GITR 抗體。

**【請求項9】**

如請求項8之融合蛋白，其中該抗體為抗PD-1 抗體，其包含：

重鏈可變(VH)區，其包含VH 互補決定區1(CDR1)，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14、15、80、81、91或92；VH CDR2，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:16、17、82或83；及VH CDR3，其包含SEQ ID NO:18或62中所示之胺基酸序列；及/或

VL CDR1，其包含SEQ ID NO:19或31中所示之胺基酸序列；VL CDR2，其包含SEQ ID NO: 20或32中所示之胺基酸序列；及VL CDR3，其包含SEQ ID NO: 21或33中所示之胺基酸序列。

**【請求項10】**

如請求項8之融合蛋白，其中該抗體為抗PD-1 抗體，該抗體包含：

VH區，其包含：具有SEQ ID NO: 12、34、78或36之胺基酸序列的VH之CDR1、CDR2及CDR3；及/或

VL區，其包含：具有SEQ ID NO: 13、35、79或37之胺基酸序列的

VL之CDR1、CDR2及CDR3。

**【請求項11】**

如請求項1之融合蛋白，其中該IL-15變體藉由多肽連接子及/或多肽標記物共價連接至該抗體。

**【請求項12】**

一種經分離之細胞株，其產生如請求項1至11中任一項之IL-15融合蛋白。

**【請求項13】**

一種經分離之核酸，其編碼如請求項1至11中任一項之融合蛋白。

**【請求項14】**

一種重組表現載體，其包含如請求項13之核酸。

**【請求項15】**

一種宿主細胞，其包含如請求項13之經分離之核酸或如請求項14之表現載體。

**【請求項16】**

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至11中任一項之融合蛋白，及醫藥學上可接受之載劑。

**【請求項17】**

一種用於治療癌症之套組，其包含如請求項16之醫藥組合物。

**【請求項18】**

一種如請求項1至11中任一項之融合蛋白或如請求項16之醫藥組合物之用途，其用於製造供治療有需要之個體之癌症用之藥物，其中藉由該藥物改善該個體內與該癌症相關之一或多個症狀。

**【請求項19】**

如請求項18之用途，其中該癌症為固體癌症或液體癌症。

**【請求項20】**

如請求項19之用途，其中該固體癌症選自由以下組成之群：胃癌(gastric cancer)、小腸癌、肉瘤、頭頸癌、胸腺癌、上皮癌、唾液腺癌、肝癌、膽癌、神經內分泌腫瘤、胃癌(stomach cancer)、甲狀腺癌、肺癌、間皮瘤、卵巢癌、乳癌、前列腺癌、食道癌、胰臟癌、神經膠瘤、腎癌、膀胱癌、子宮頸癌、子宮癌、外陰癌、陰莖癌、睪丸癌、肛門癌、絨膜癌、結腸直腸癌、口腔癌、皮膚癌、梅克爾細胞癌(Merkel cell carcinoma)、神經膠母細胞瘤、腦瘤、骨癌、眼癌及黑色素瘤。

**【請求項21】**

如請求項19之用途，其中該液體癌症選自由以下組成之群：多發性骨髓瘤、惡性漿細胞贅瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、結節性淋巴球為主型之霍奇金氏淋巴瘤、卡勒氏病(Kahler's disease)及骨髓性白血病、漿細胞白血病、漿細胞瘤、B細胞前淋巴球性白血病、毛細胞白血病、B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、急性骨髓白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、急性淋巴球性白血病(ALL)、慢性骨髓性白血病(CML)、濾泡性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、大細胞淋巴瘤、前驅體B淋巴母細胞淋巴瘤、骨髓白血病、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、黏膜相關淋巴組織淋巴瘤、小細胞淋巴球性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、原發性縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、淋巴漿細胞淋巴

瘤、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia)、結邊緣區B細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、淋巴瘤樣肉芽腫、富T細胞/組織細胞大B細胞淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、原發性皮膚瀰漫性大B細胞淋巴瘤(腿型)、老年人之EBV陽性瀰漫性大B細胞淋巴瘤、與炎症相關之瀰漫性大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、ALK陽性大B細胞淋巴瘤、漿母細胞淋巴瘤、在HHV8相關之多中心卡斯特爾曼病(Castleman disease)中出現之大B細胞淋巴瘤、未採用瀰漫性大B細胞淋巴瘤與伯基特淋巴瘤之間的特徵中間物分類之B細胞淋巴瘤、未用瀰漫性大B細胞淋巴瘤與典型霍奇金淋巴瘤之間的特徵中間物分類之B細胞淋巴瘤、及其他造血細胞相關之癌症。

#### 【請求項22】

如請求項18至21中任一項之用途，其中該癌症為復發性、難治性或轉移性。

#### 【請求項23】

如請求項18至21中任一項之用途，其中該藥物進一步包含第二治療劑或用於與第二治療劑組合投與。

#### 【請求項24】

如請求項23之用途，其中該第二治療劑為選自由以下組成之群的抗體：抗CTLA-4抗體、抗CD3抗體、抗CD4抗體、抗CD8抗體、抗4-1BB抗體、抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗TIM3抗體、抗LAG3抗體、抗TIGIT抗體、抗OX40抗體、抗IL-7R $\alpha$  (CD127)抗體、抗IL-8抗體、抗IL-15抗體、抗HVEM抗體、抗BTLA抗體、抗CD40抗體、抗CD40L抗體、

抗CD47抗體、抗CSF1R抗體、抗CSF1抗體、抗IL-7R抗體、抗MARCO抗體、抗CXCR4抗體、抗VEGF抗體、抗VEGFR1抗體、抗VEGFR2抗體、抗TNFR1抗體、抗TNFR2抗體、抗CD3雙特異性抗體、抗CD19抗體、抗CD20、抗Her2抗體、抗EGFR抗體、抗ICOS抗體、抗CD22抗體、抗CD52抗體、抗CCR4抗體、抗CCR8抗體、抗CD200R抗體、抗VISG4抗體、抗CCR2抗體、抗LILRb2抗體、抗CXCR4抗體、抗CD206抗體、抗CD163抗體、抗KLRG1抗體、抗FLT3抗體、抗B7-H4抗體、抗B7-H3抗體、KLRG1抗體、BTN1A1抗體及抗GITR抗體。

**【請求項25】**

如請求項23之用途，其中該第二治療劑為細胞介素、免疫細胞介素、TNF $\alpha$ 、PAP抑制劑、溶瘤病毒、激酶抑制劑、ALK抑制劑、MEK抑制劑、IDO抑制劑、GLS1抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑、CART細胞或T細胞療法、TLR促效劑或腫瘤疫苗。

**【請求項26】**

一種如請求項1至11中任一項之融合蛋白或如請求項16之醫藥組合物的用途，其用於製造供治療癌症用之藥物。

**【請求項27】**

一種如請求項26之用途，其中該癌症為固體癌症或液體癌症及/或該癌症為復發性、難治性或轉移性。

**【請求項28】**

如請求項26之用途，其中該藥物進一步包含第二治療劑或用於與第二治療劑組合投與。

**【請求項29】**

如請求項23之用途，其中該藥物及該第二治療劑係於分開的組合物中，其係依序或同時投與。

**【請求項30】**

如請求項28之用途，其中該藥物及該第二治療劑係於分開的組合物中，其係依序或同時投與。

**【請求項31】**

一種經分離之融合蛋白，其包含：

- 1) 抗PD-1抗體，其包含Fc域；及
- 2) 人類介白素15(IL-15)變體，其包含SEQ ID NO: 1之位置E46G、V49R、N1G、E64Q及D30N之胺基酸取代，其中該IL-15變體共價連接至該抗體之Fc域。

**【請求項32】**

如請求項31之融合蛋白，其中該抗體包含：

重鏈可變(VH)區，其包含：VH互補決定區1(CDR1)，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 80、81或91；VH CDR2，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 82或83；及VH CDR3，其包含SEQ ID NO: 62所示之胺基酸序列；及/或

VL CDR1，其包含SEQ ID NO: 31所示之胺基酸序列；VL CDR2，其包含SEQ ID NO: 32所示之胺基酸序列；及VL CDR3，其包含SEQ ID NO: 33所示之胺基酸序列。

**【請求項33】**

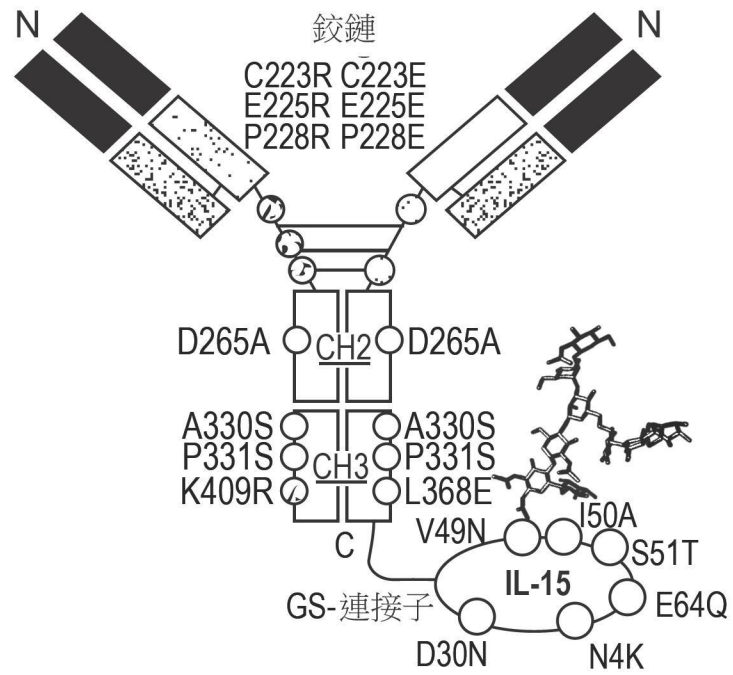
如請求項31之融合蛋白，其中該抗體包含：

VH區，其包含：具有SEQ ID NO: 36之胺基酸序列的VH之CDR1、

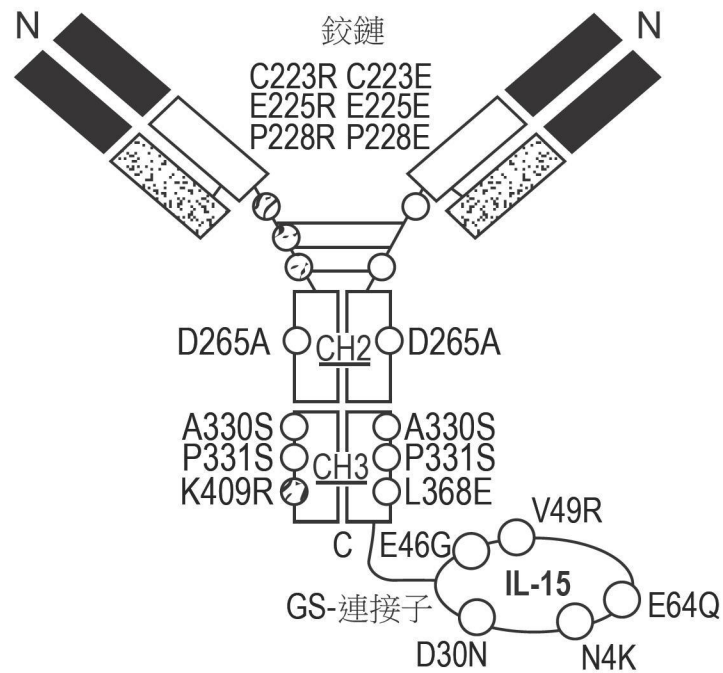
CDR2及CDR3；及/或

VL區，其包含：具有SEQ ID NO: 37之胺基酸序列的VL之CDR1、  
CDR2及CDR3。

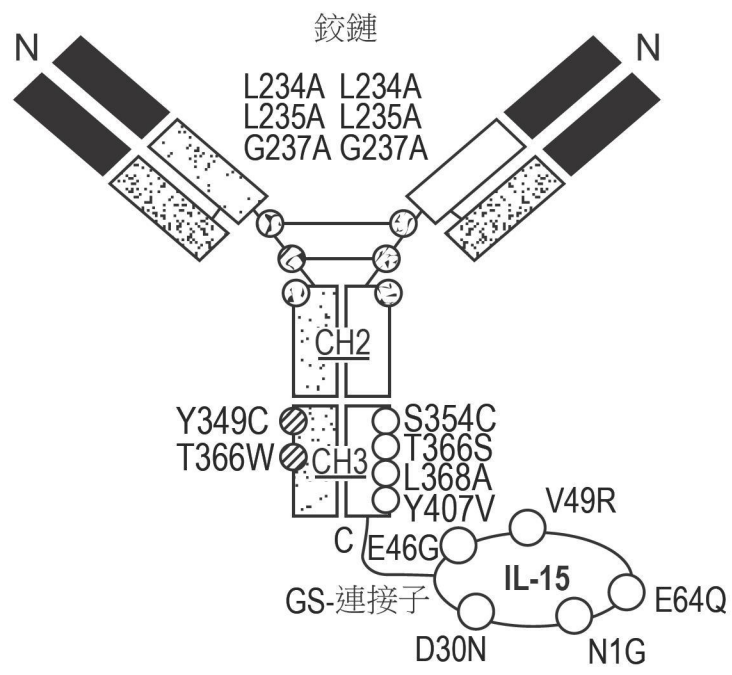
【發明圖式】



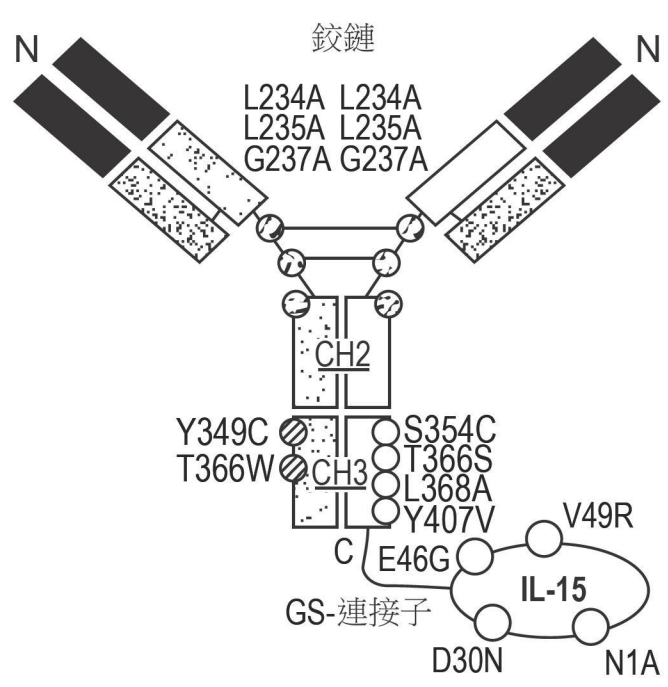
【圖1A】



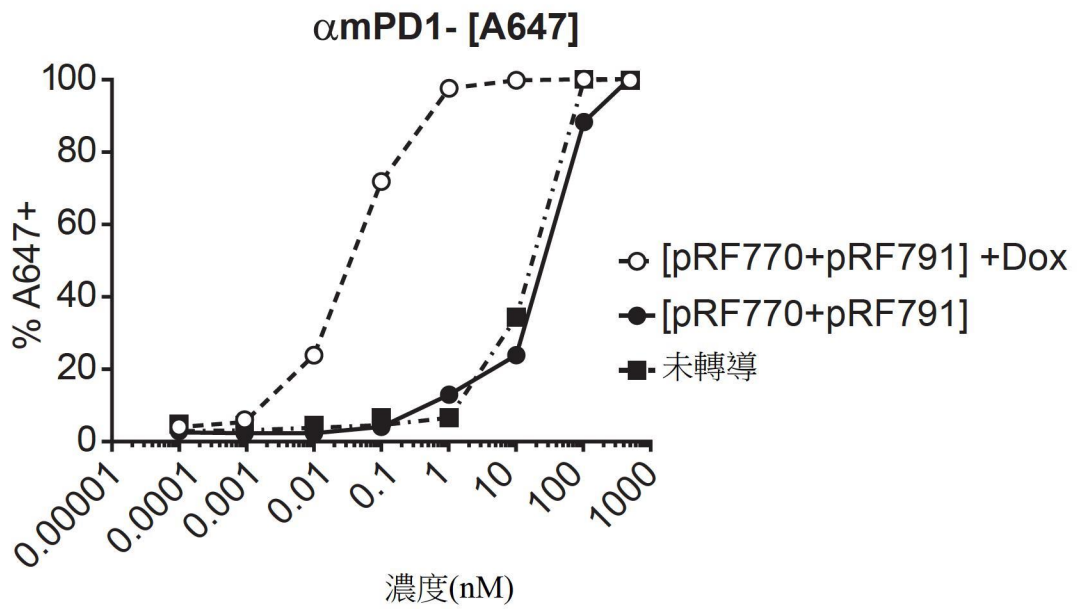
【圖1B】



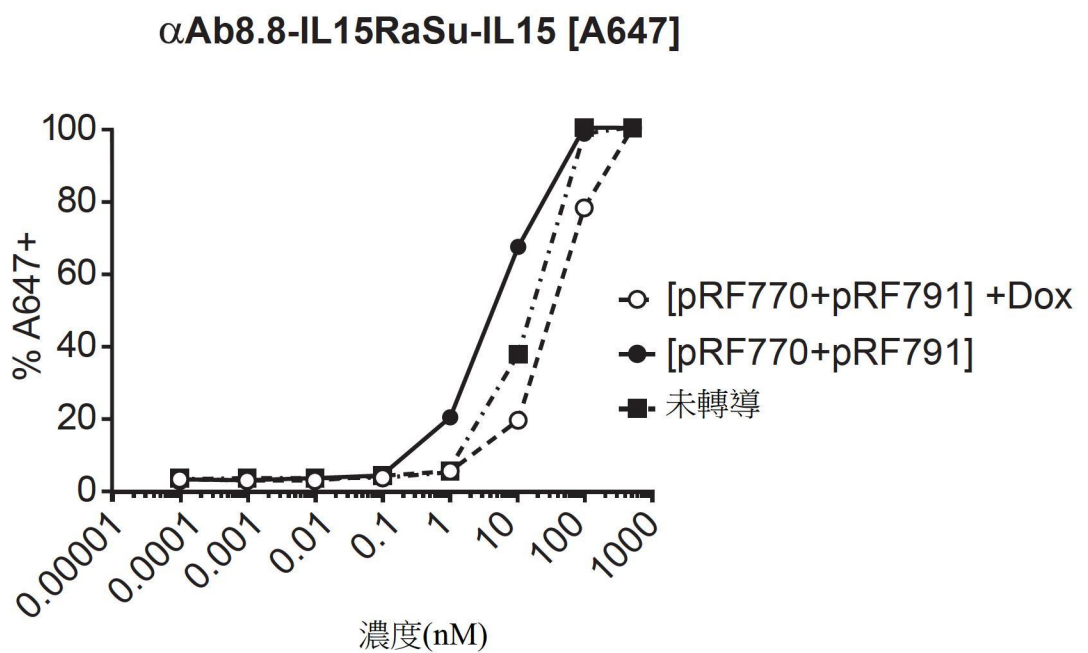
【圖1C】



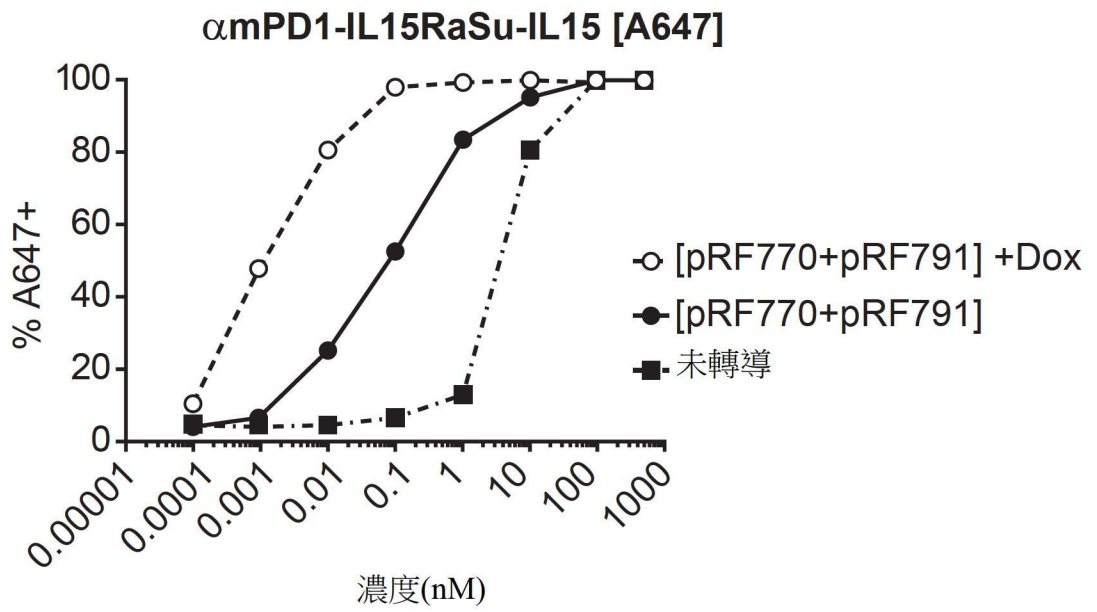
【圖1D】



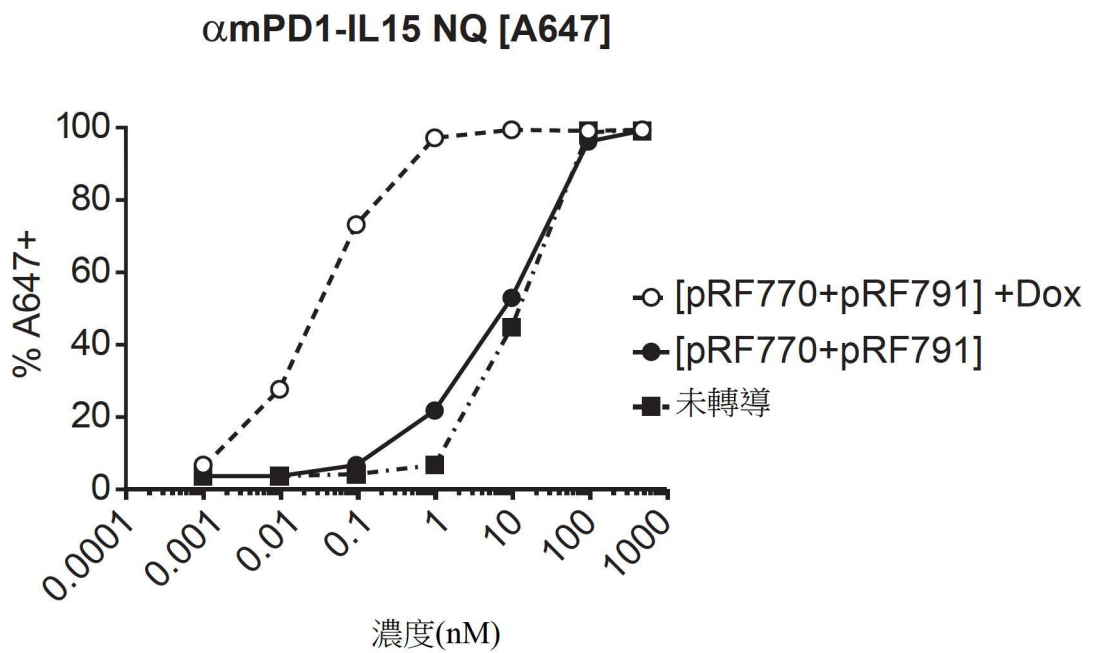
【圖2A】



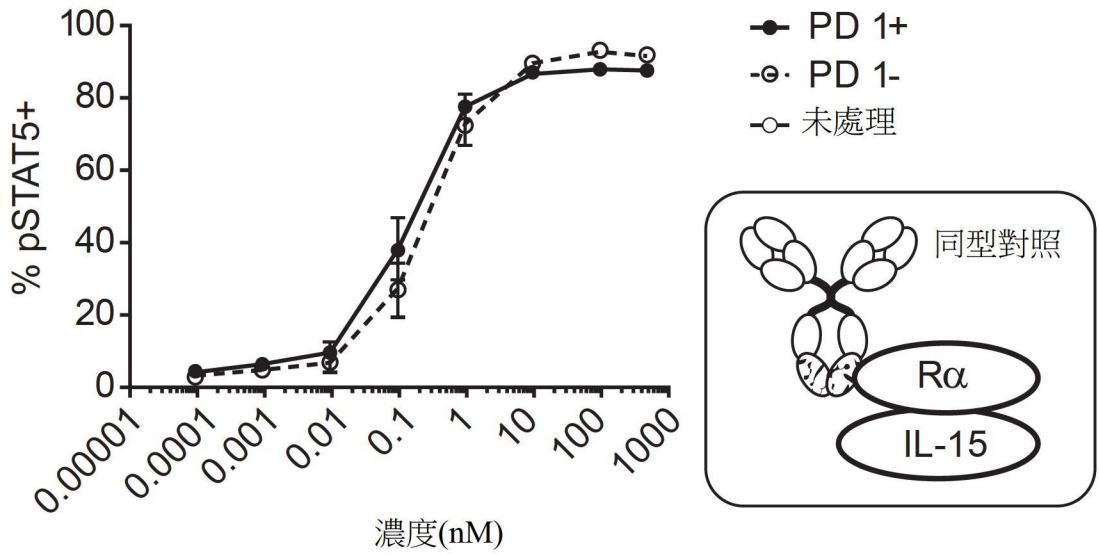
【圖2B】



【圖2C】

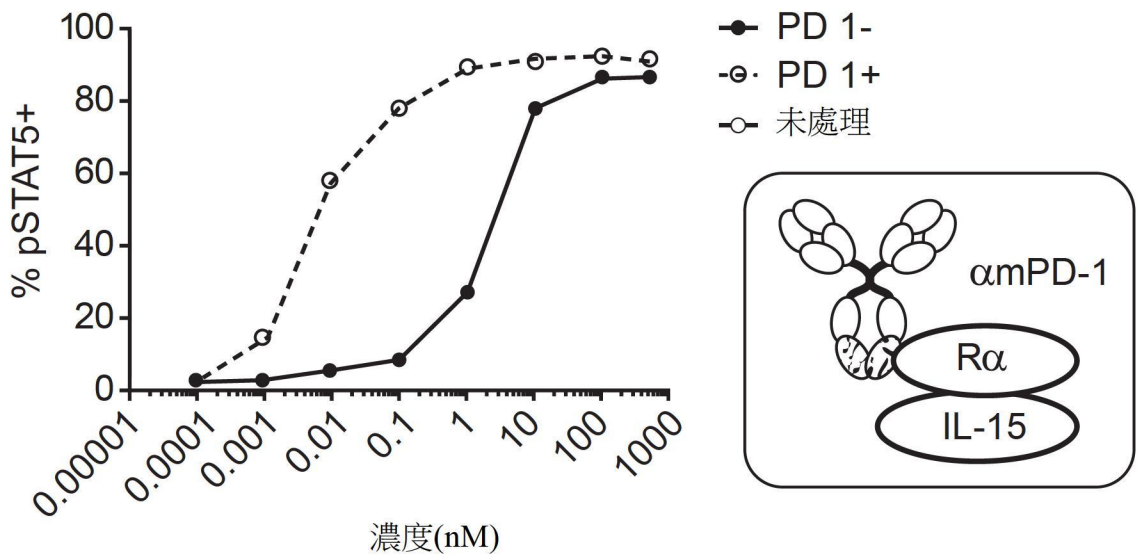


【圖2D】

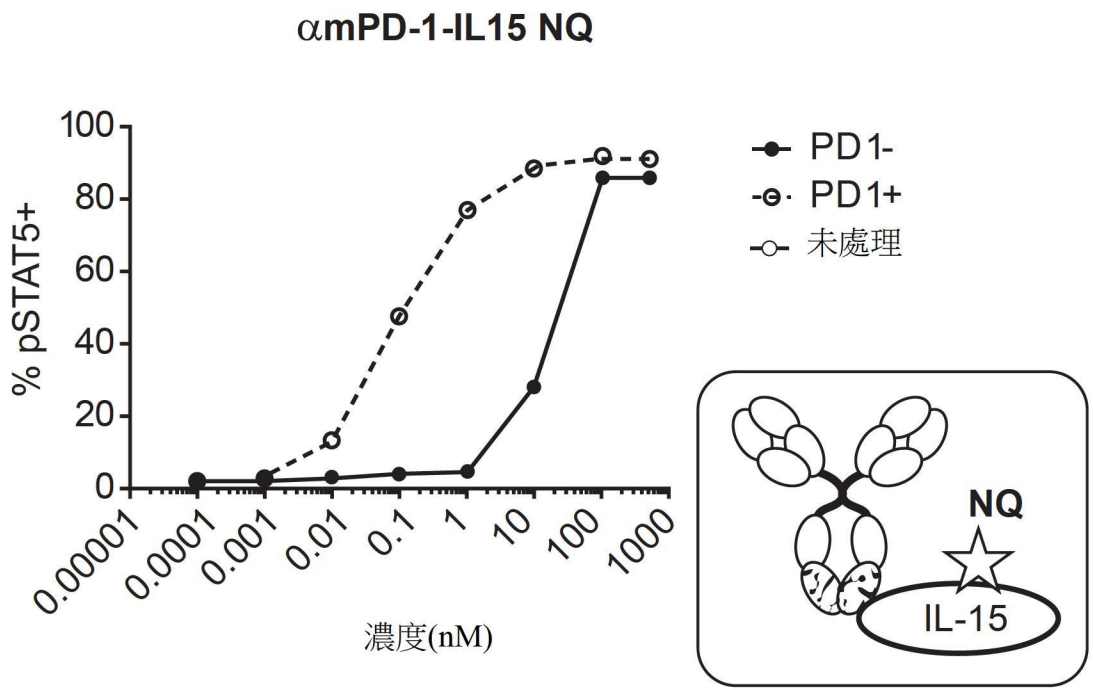


【圖3A】

$\alpha$ mPD1-IL15RaSu-IL15

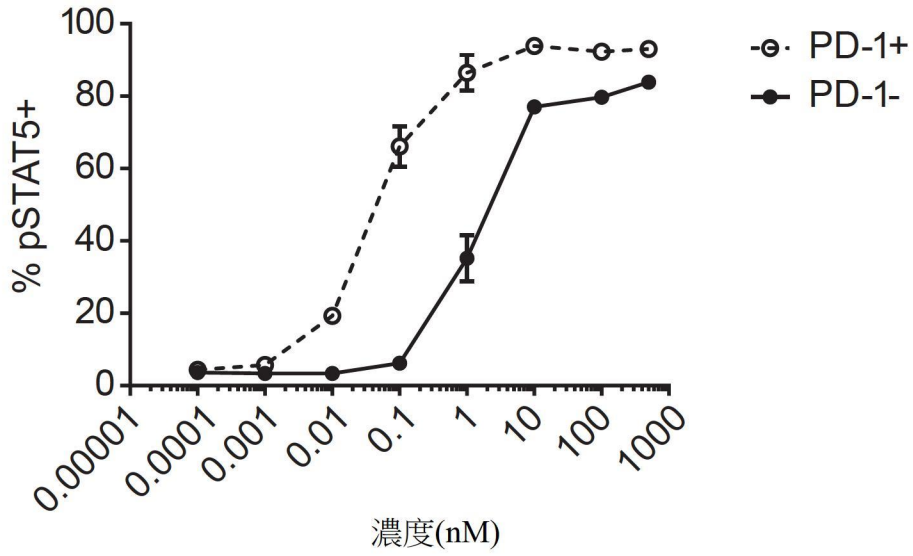


【圖3B】



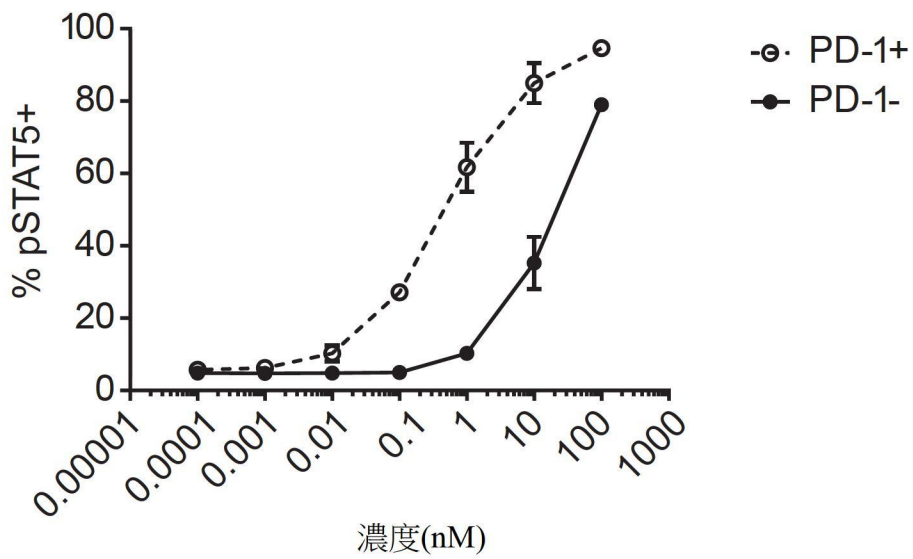
【圖3C】

$\alpha$ mPD-1-IL15RaSu-IL15

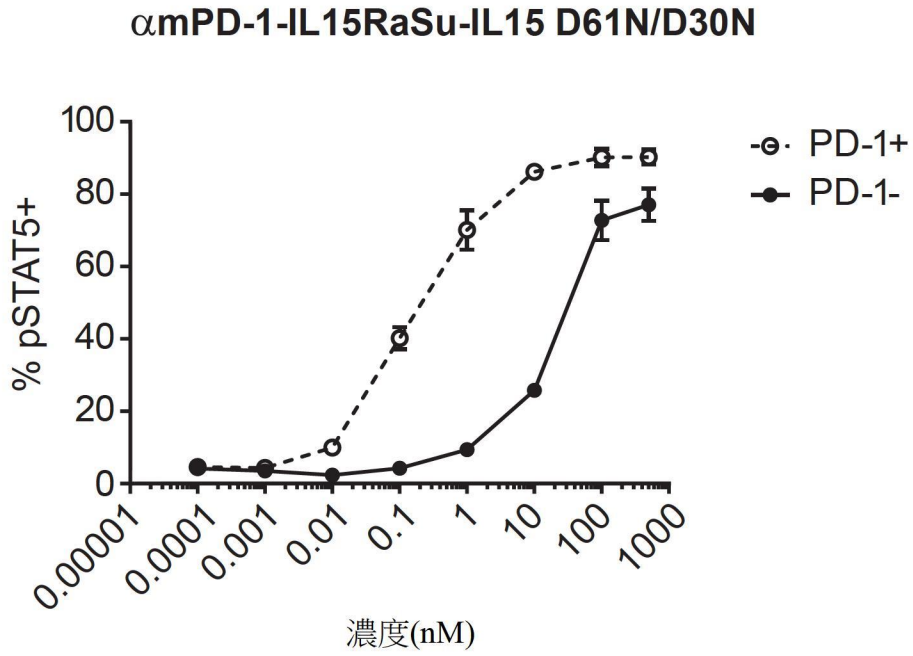


【圖4A】

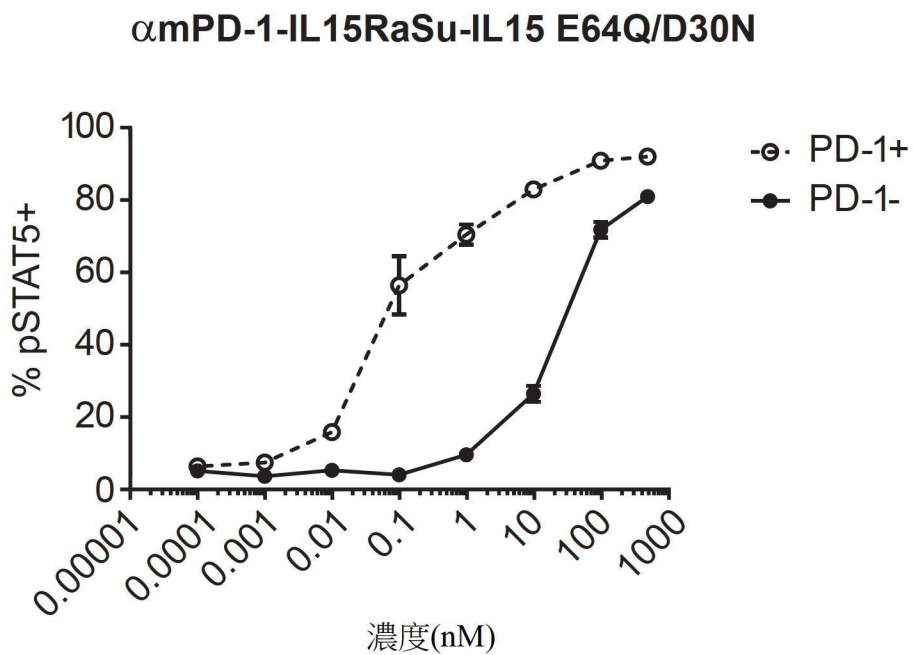
$\alpha$ mPD-1-IL15RaSu-IL15 K11S/D30N



【圖4B】

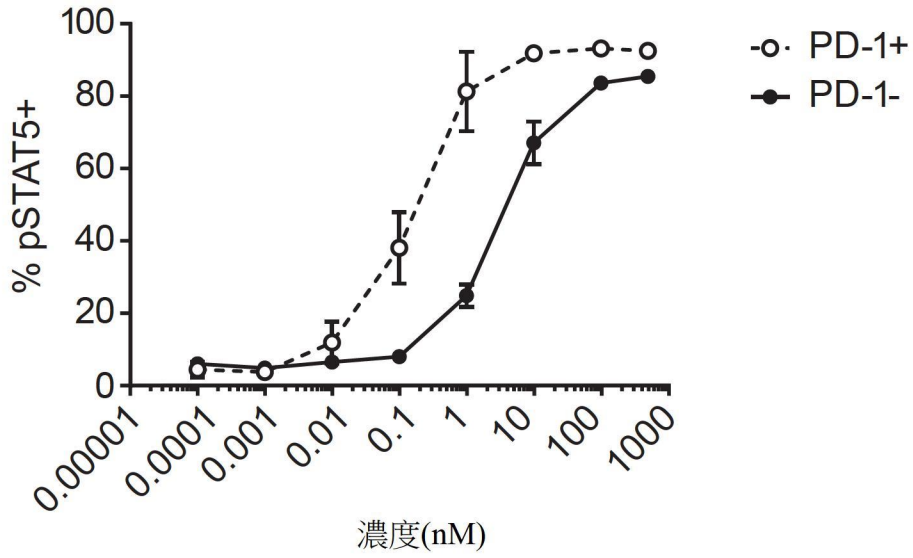


【圖4C】



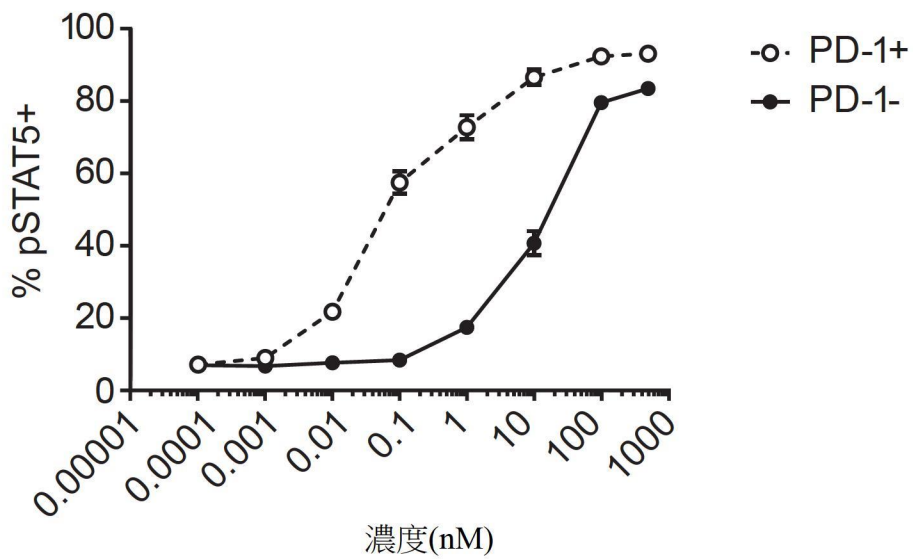
【圖4D】

$\alpha$ mPD-1-IL15RaSu-IL1 K11S/M109A



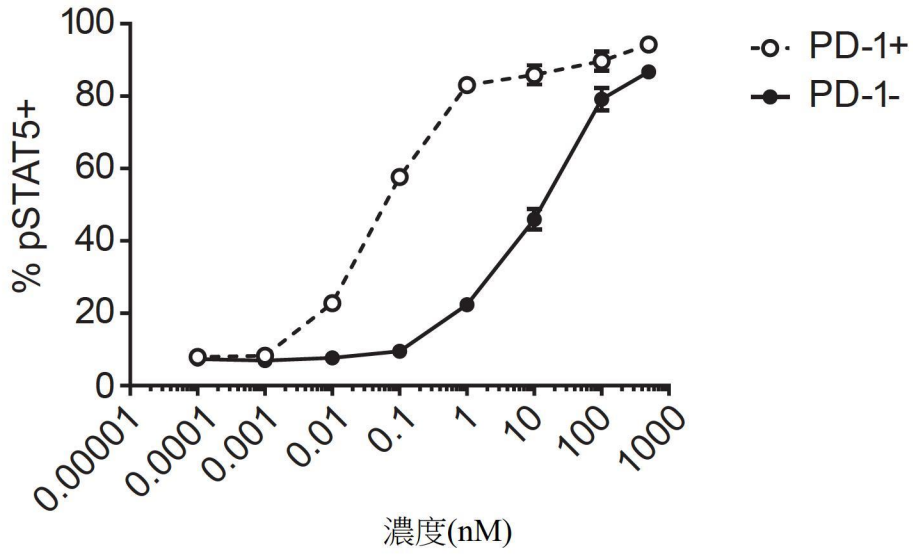
【圖4E】

$\alpha$ mPD-1-IL15RaSu-IL15 D61N/M109A



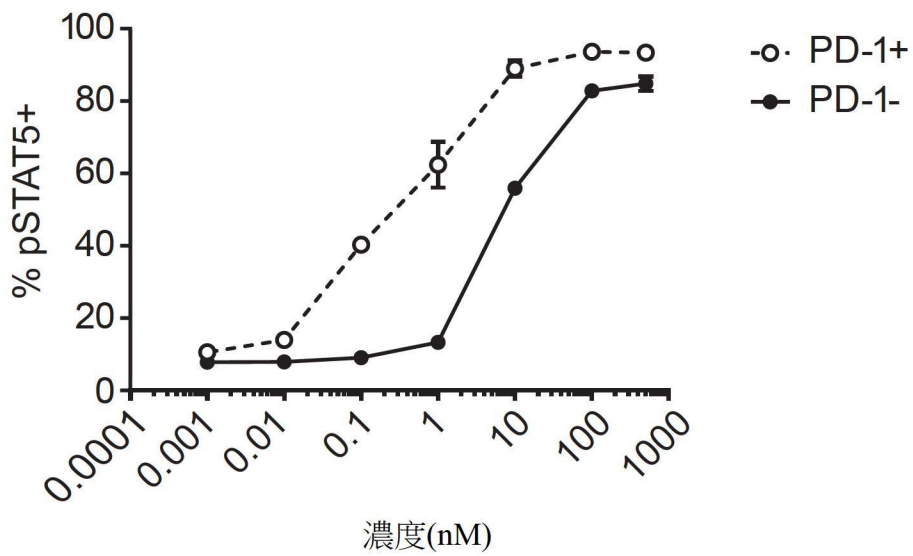
【圖4F】

$\alpha$ PD-1-IL15RaSu-IL15 E64Q/M109A



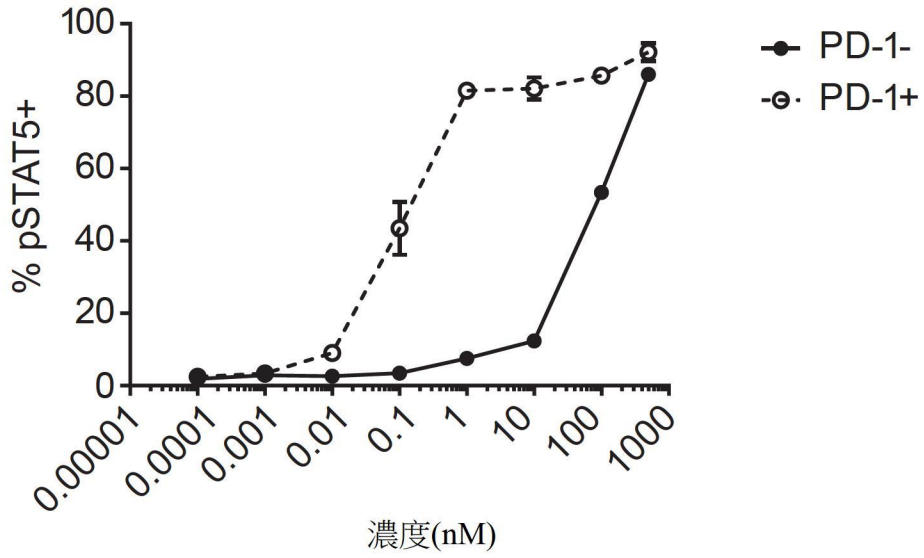
【圖4G】

$\alpha$ PD-1-IL15RaSu-IL1 D61N



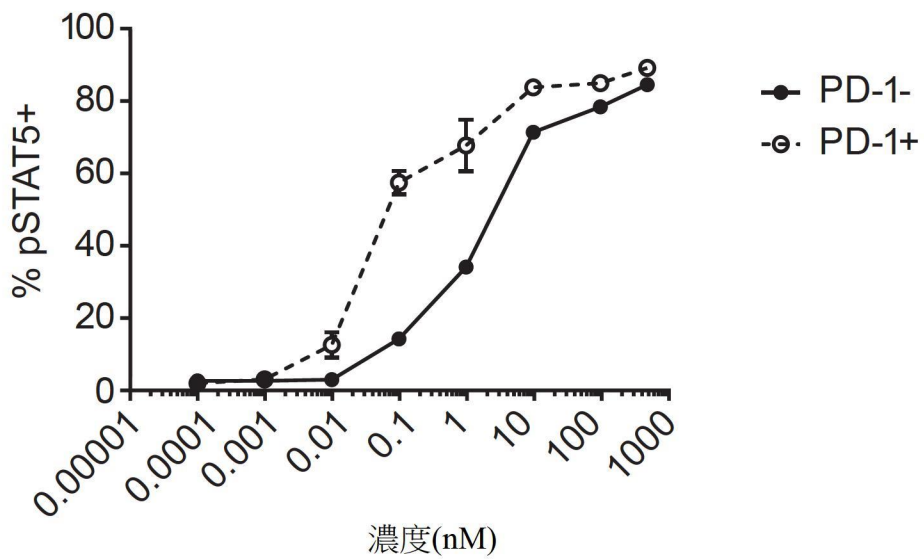
【圖4H】

**xmPD1-IL15 V49R/E46G/E64Q/D30N**



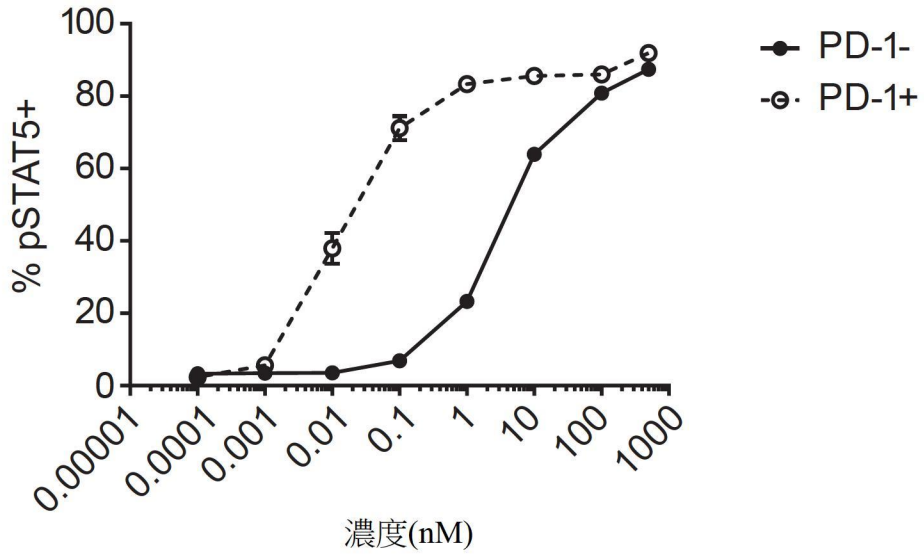
【圖5A】

**xmPD1-IL15 V49R**



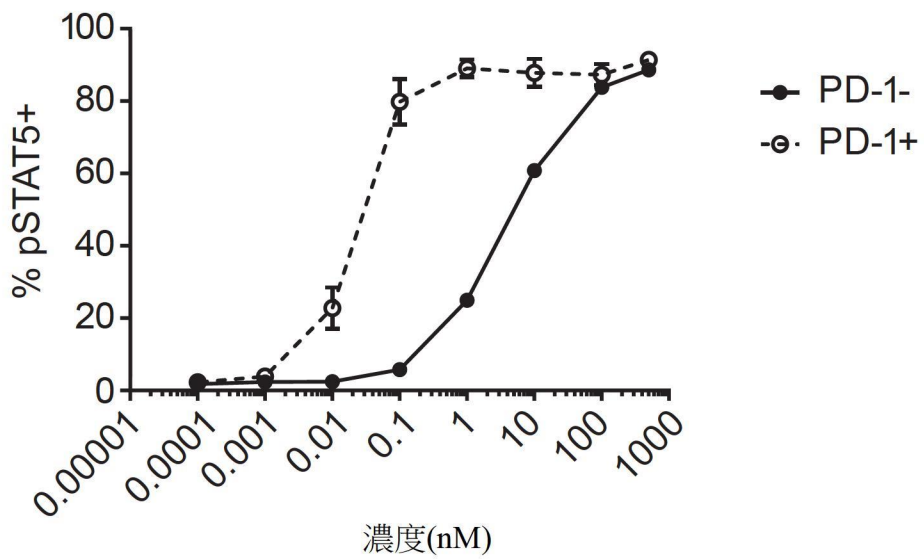
【圖5B】

xmPD1-IL15 V49R/E46G

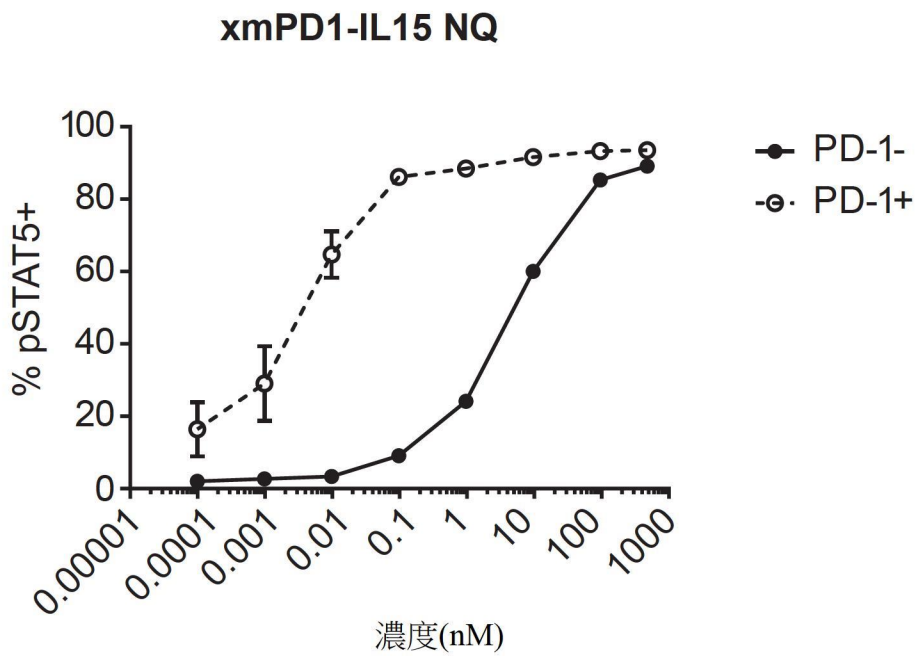


【圖5C】

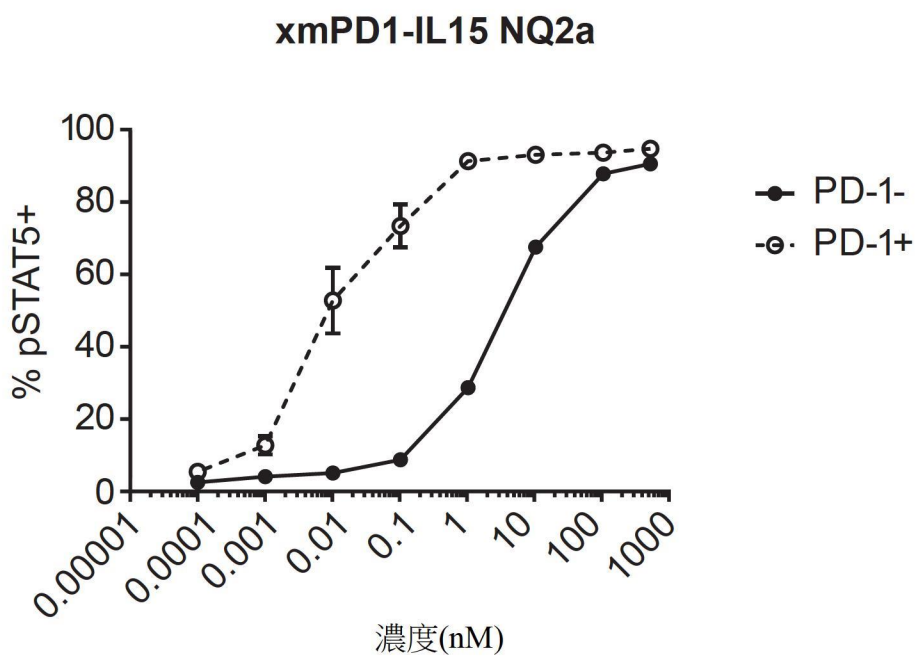
xmPD1-IL15 NQ3d



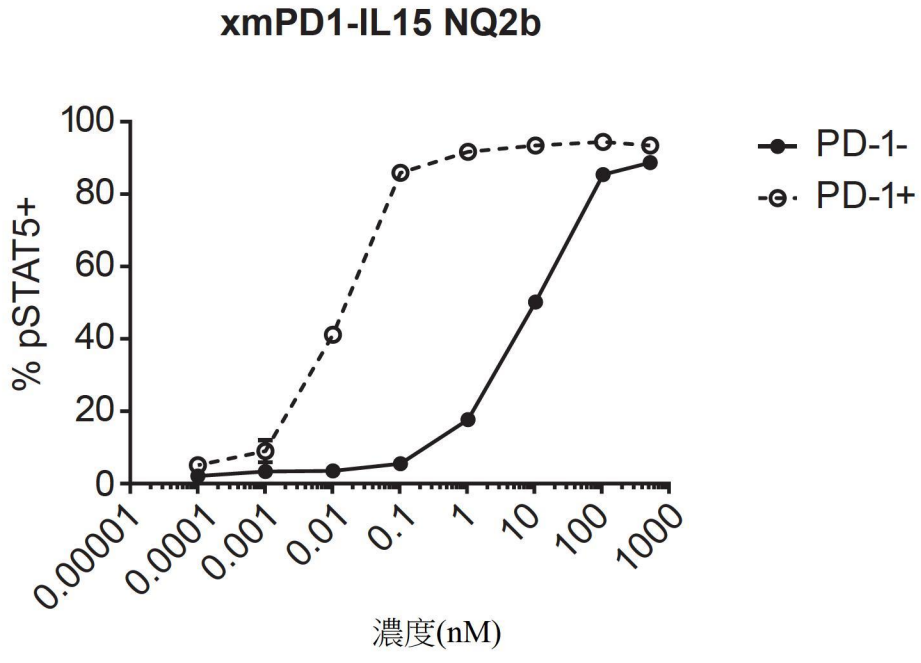
【圖5D】



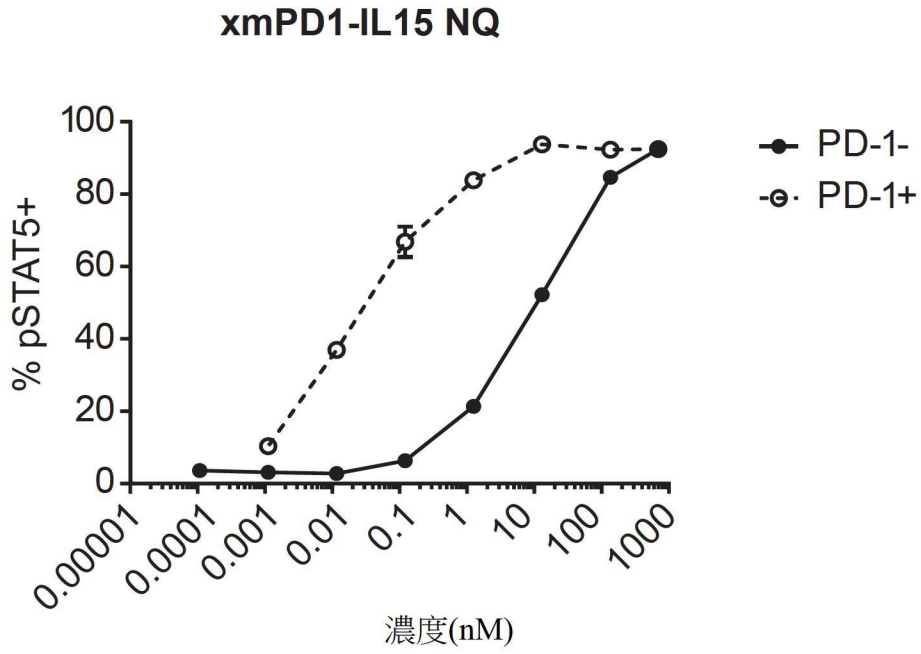
【圖5E】



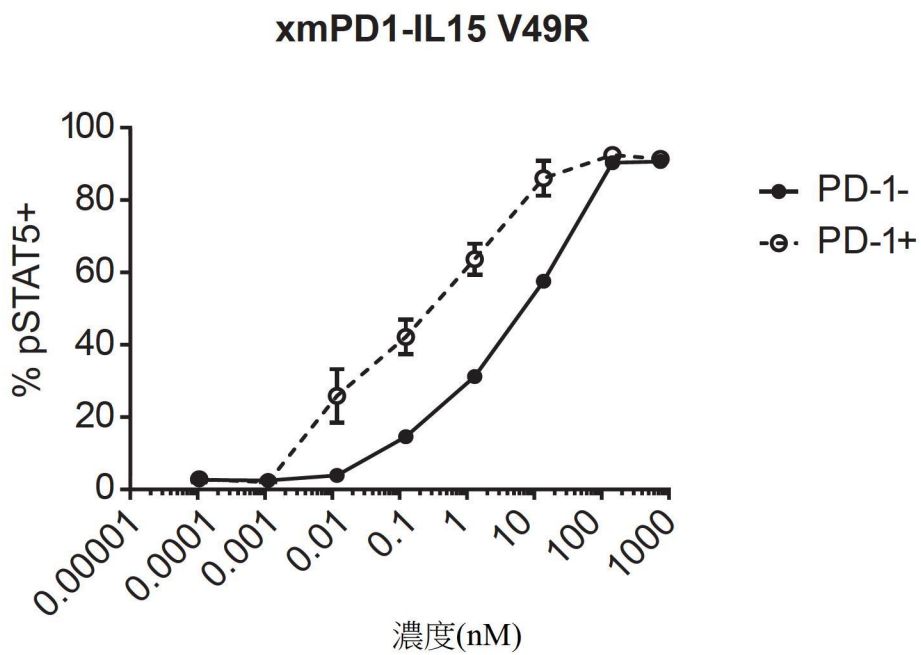
【圖5F】



【圖5G】

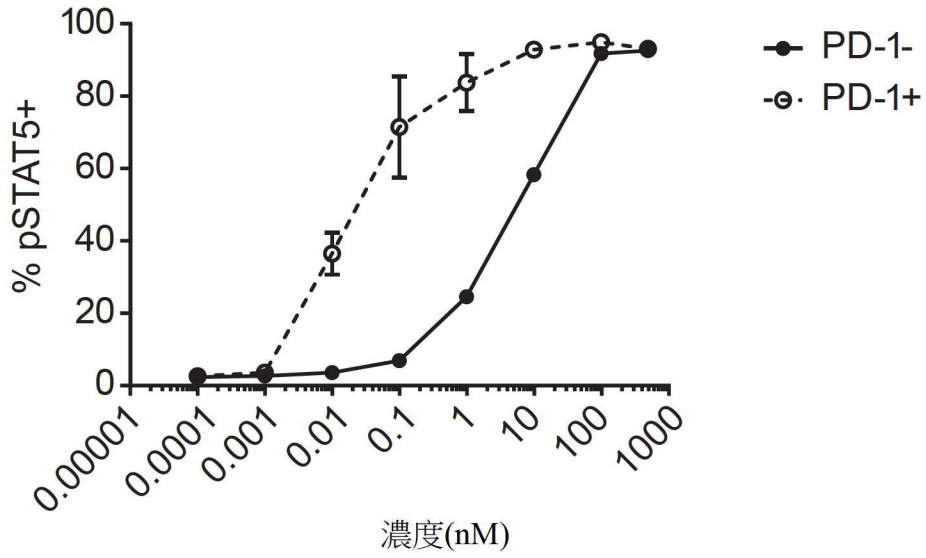


【圖6A】



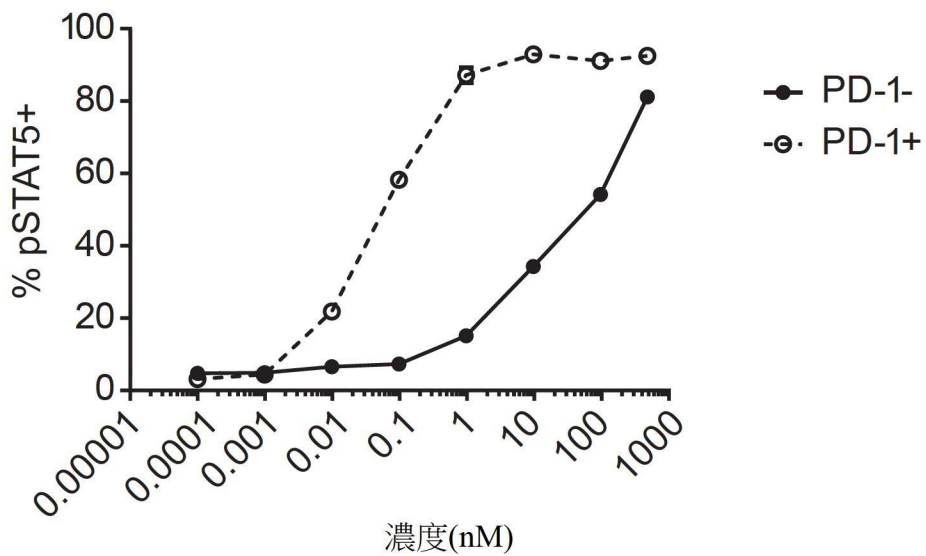
【圖6B】

**xmPD1-IL15 V49R/E46G**



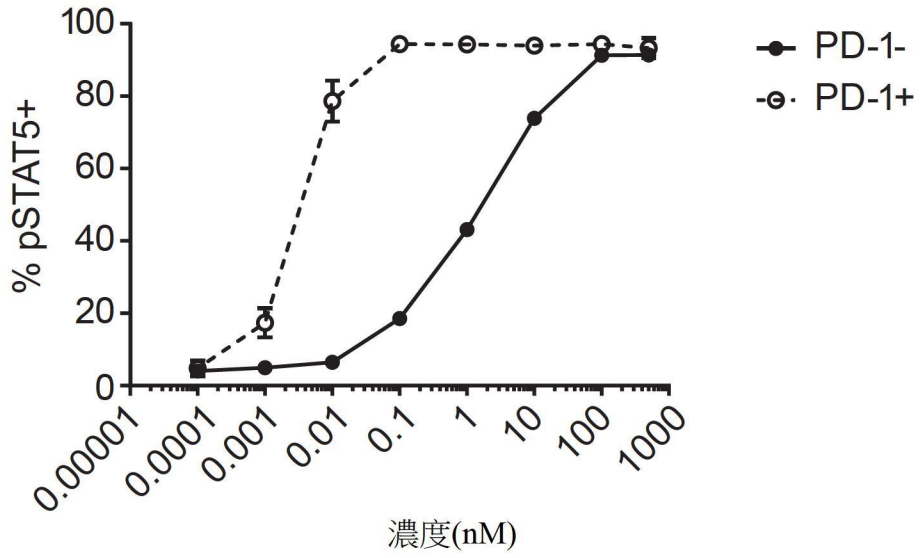
【圖6C】

**xmPD1-IL15 V49R/Y26K/E46Q/D30N**



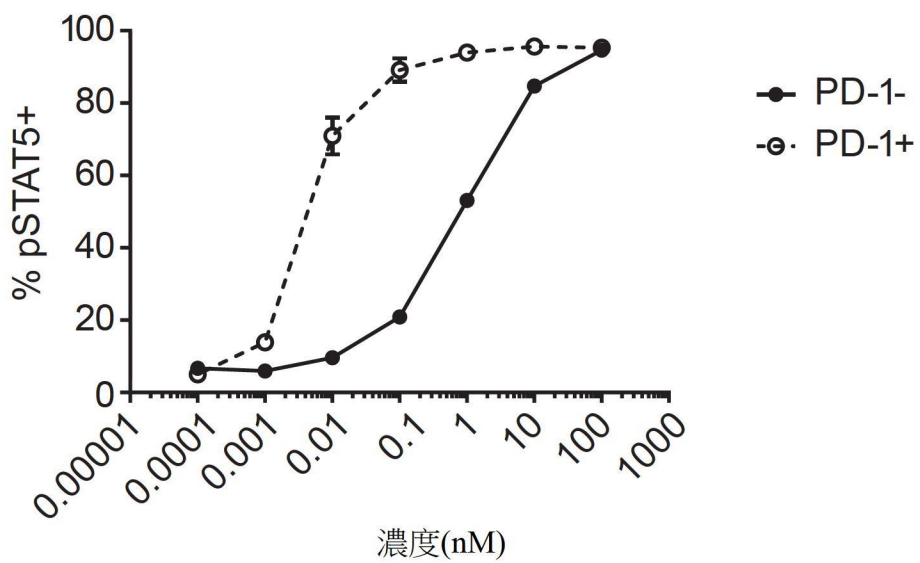
【圖6D】

xmPD1-IL15 V49R/E64Q



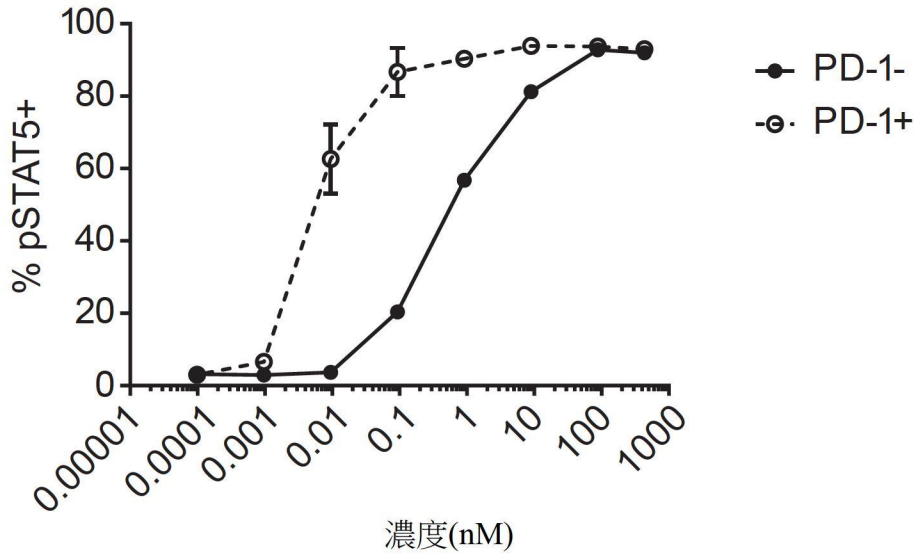
【圖6E】

xmPD1-IL15 V49R/Y26K



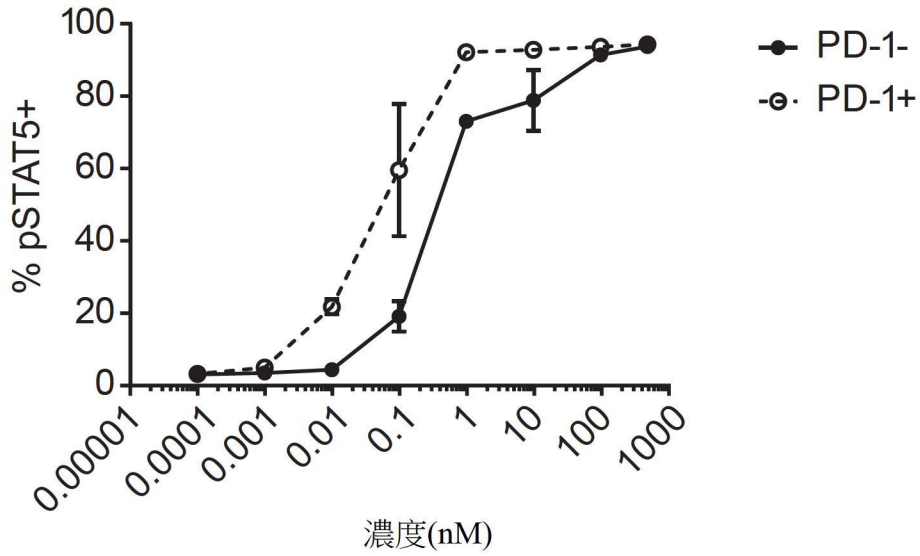
【圖6F】

xmPD1-IL15 Rasu-IL15



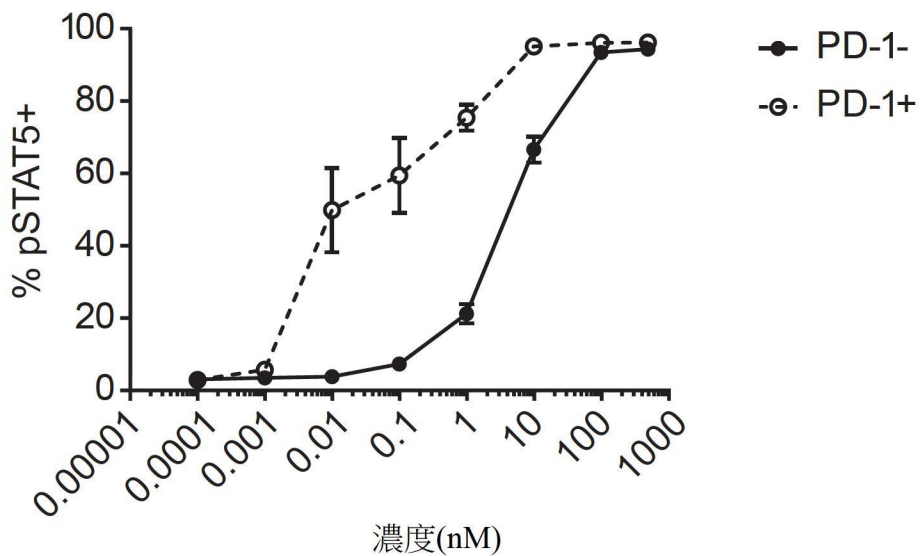
【圖6G】

xmPD1-IL15 V49R



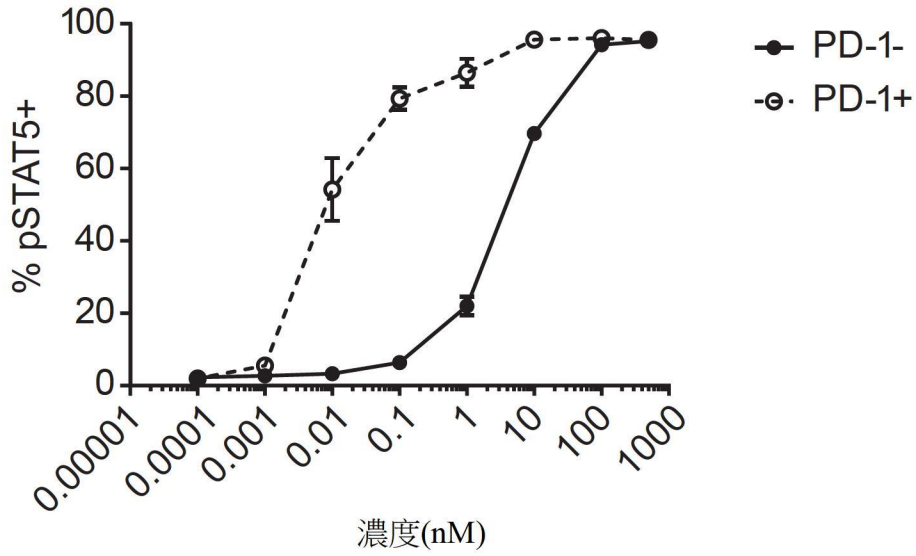
【圖7A】

xmPD1-IL15 V49R/E46G



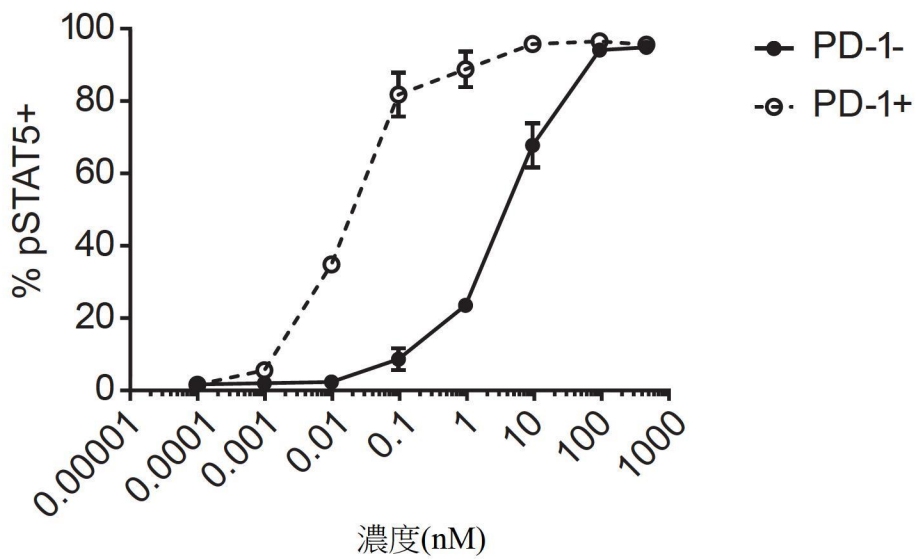
【圖7B】

**xmPD1-IL15 V49K/E46G**



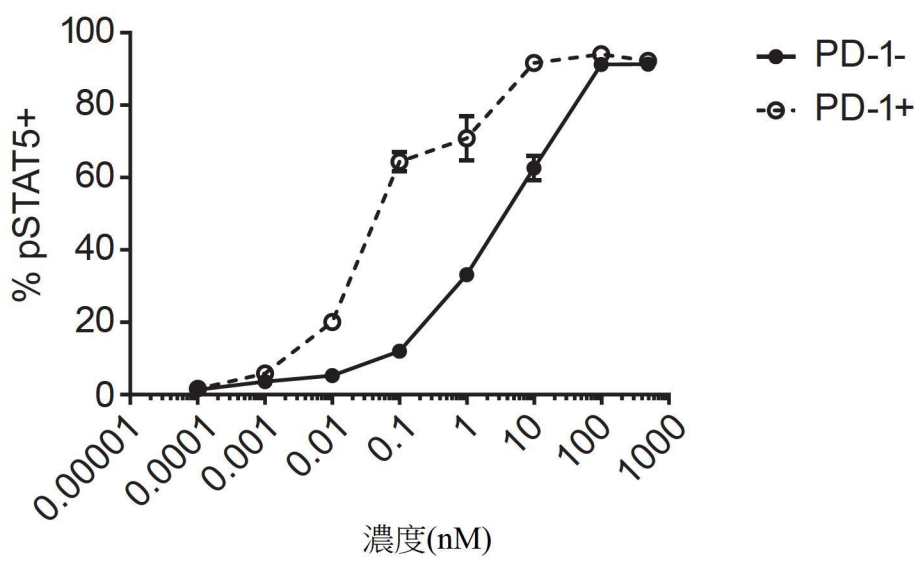
【圖7C】

**xmPD1-IL15 V49K/Y26K**



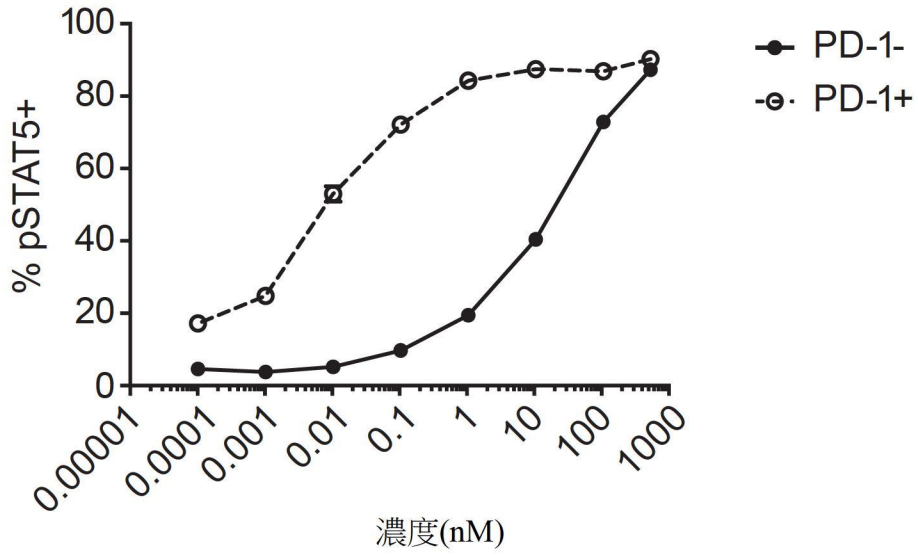
【圖7D】

xmPD1-IL15 V49NAT



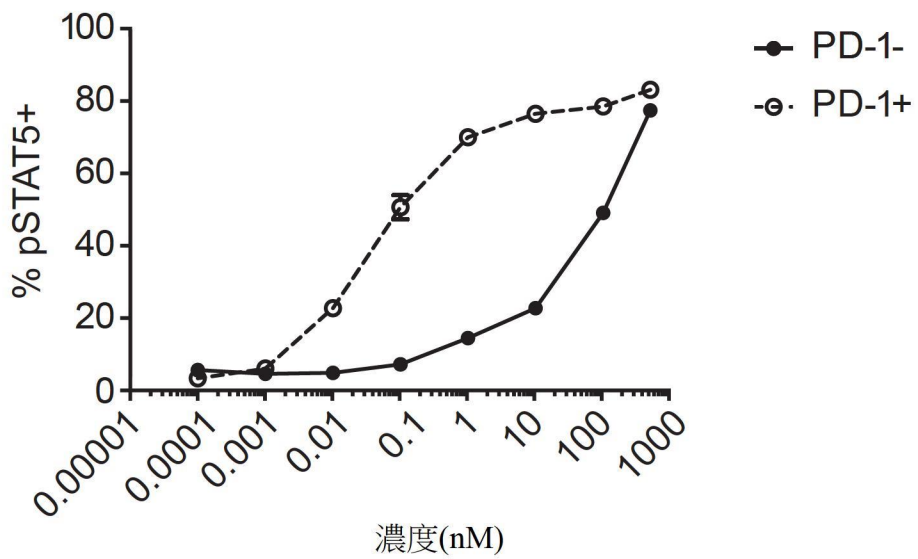
【圖7E】

**xmPD1-IL15 NQ**



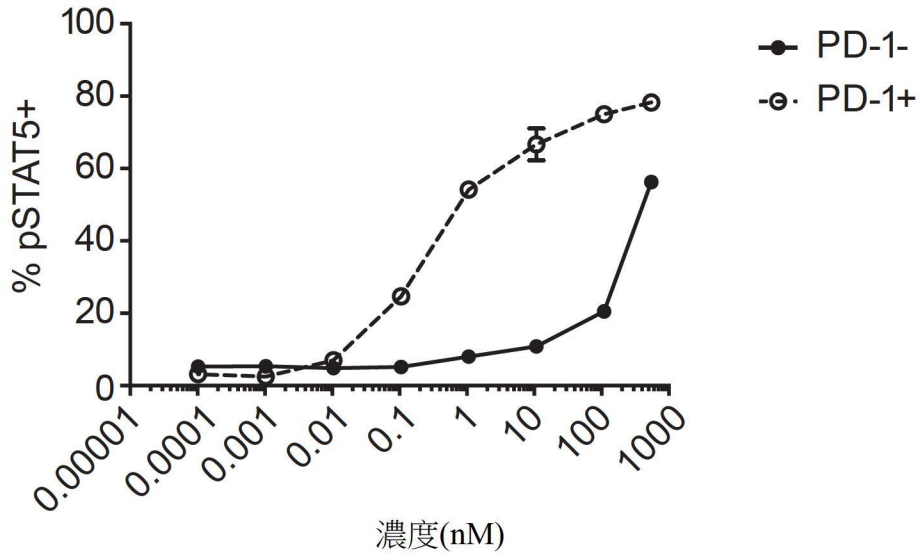
【圖7F】

**xmPD1-IL15 M1**

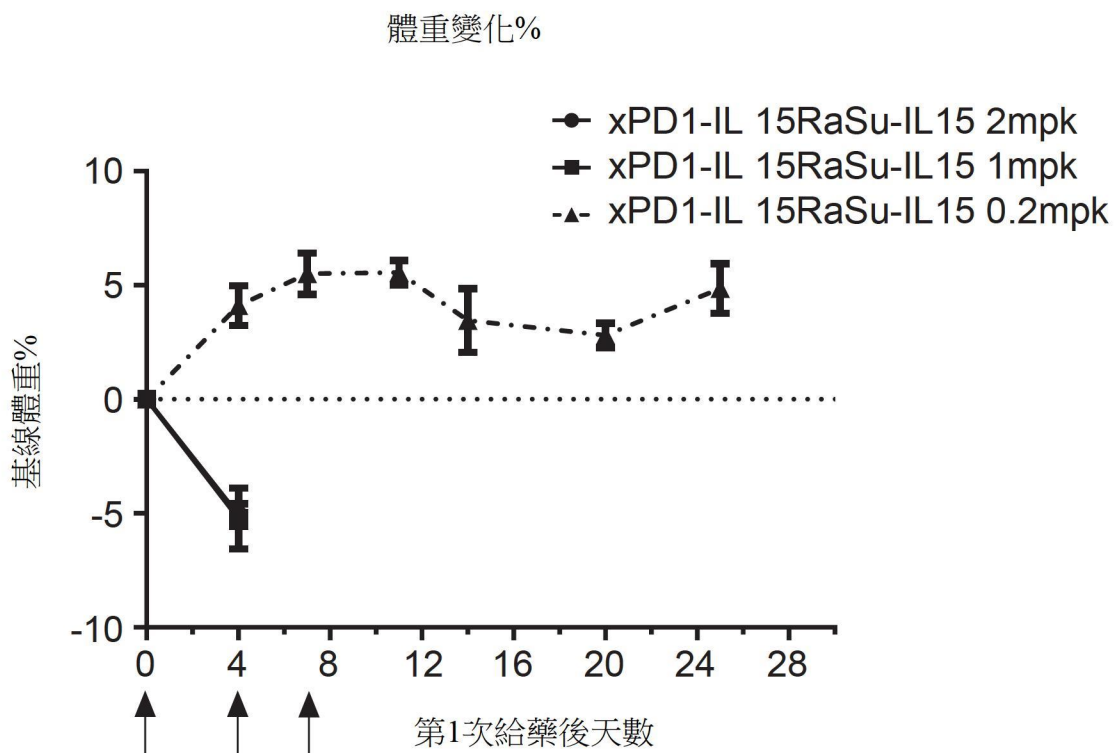


【圖7G】

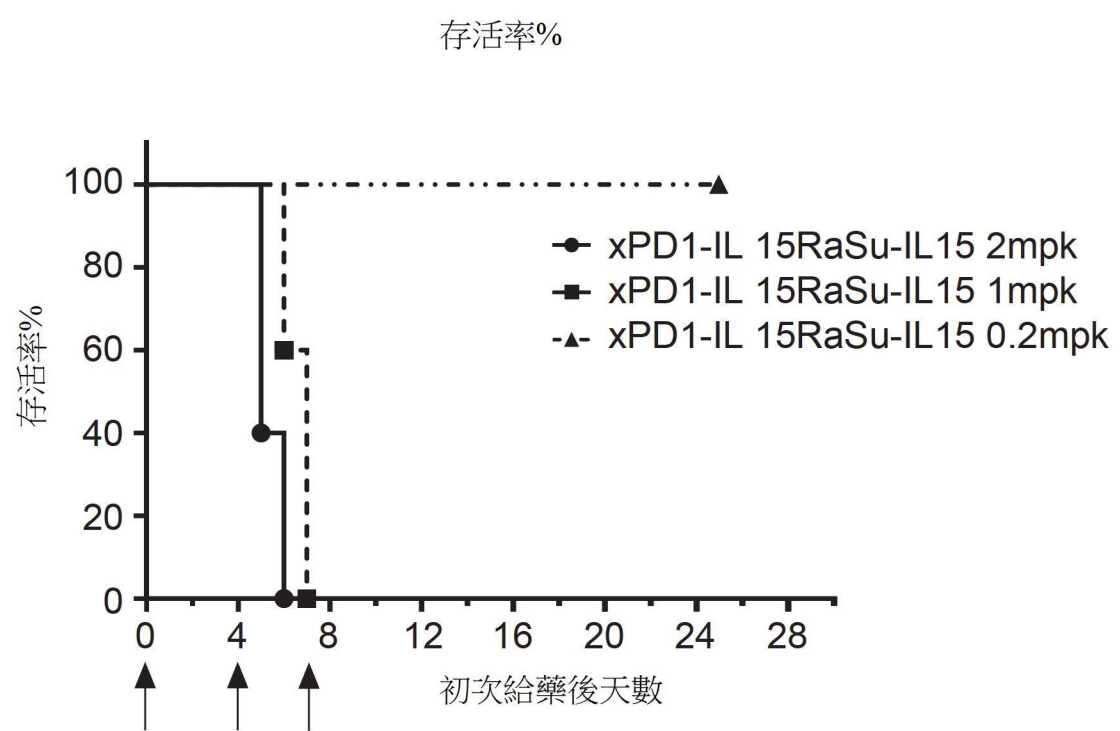
xmPD1-IL15 M2



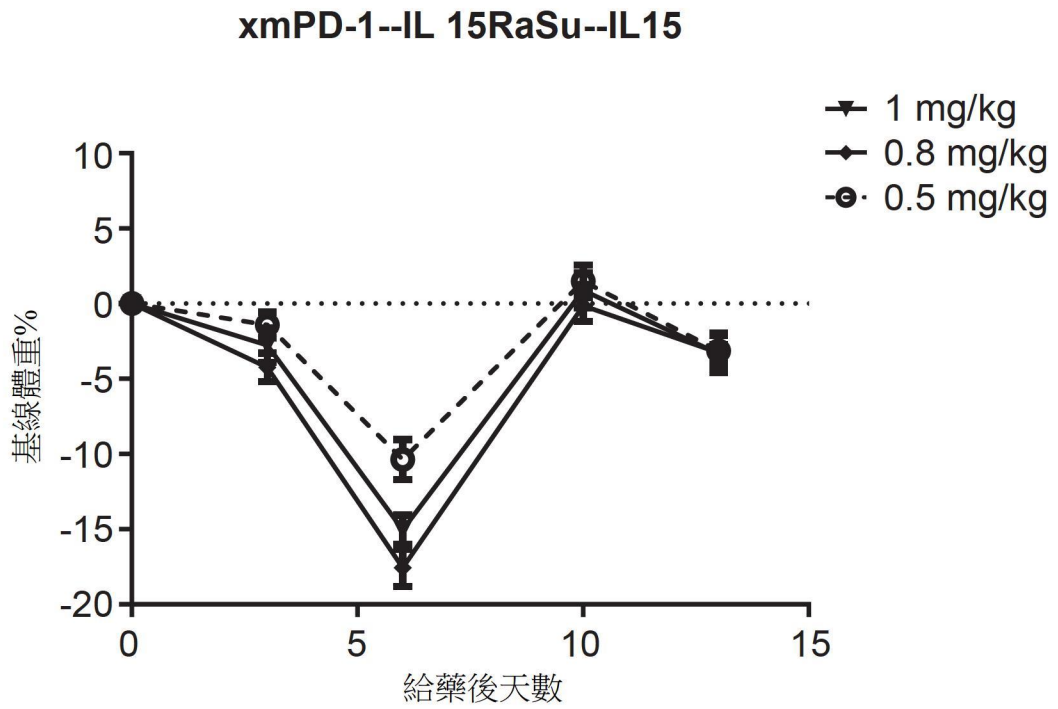
【圖7H】



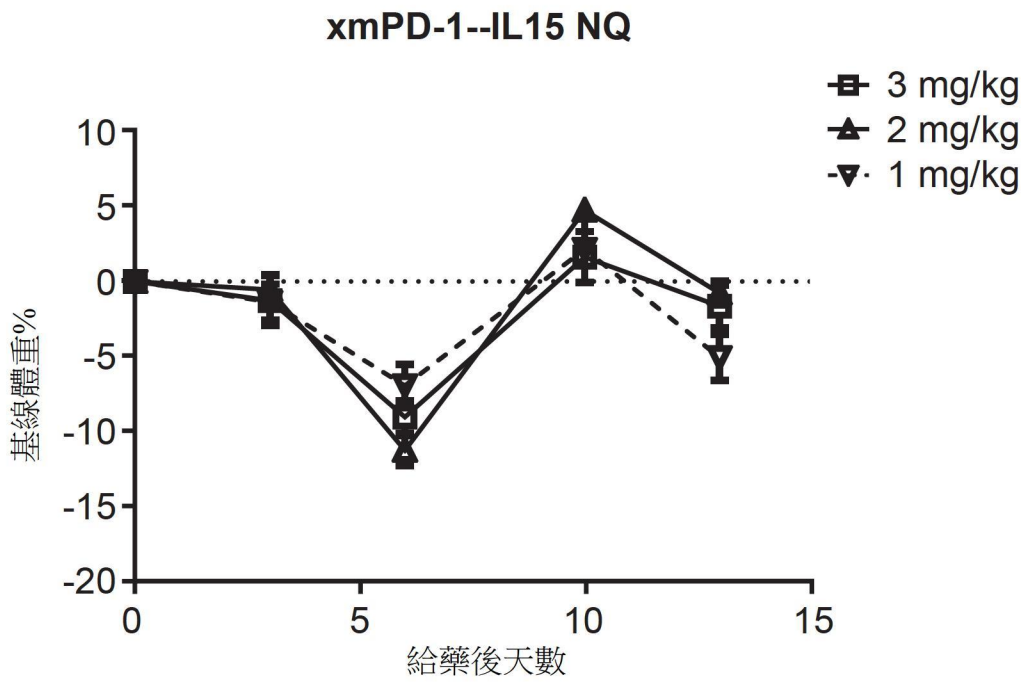
【圖8A】



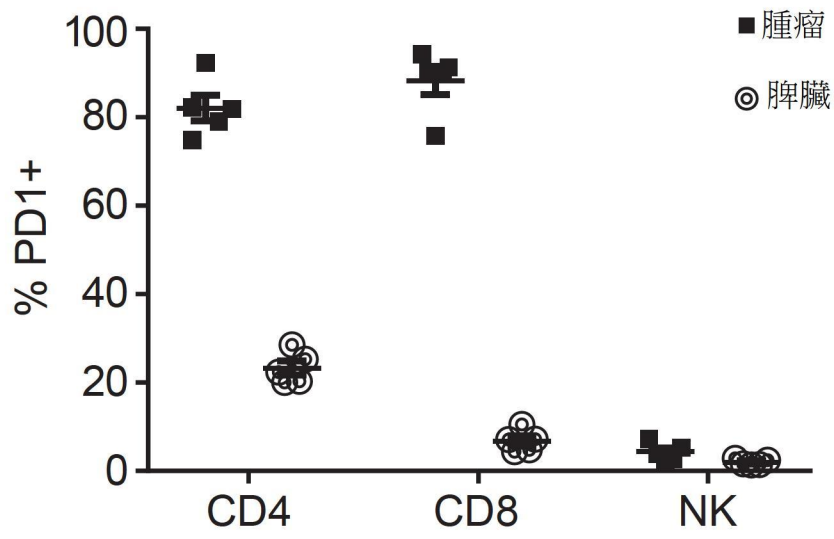
【圖8B】



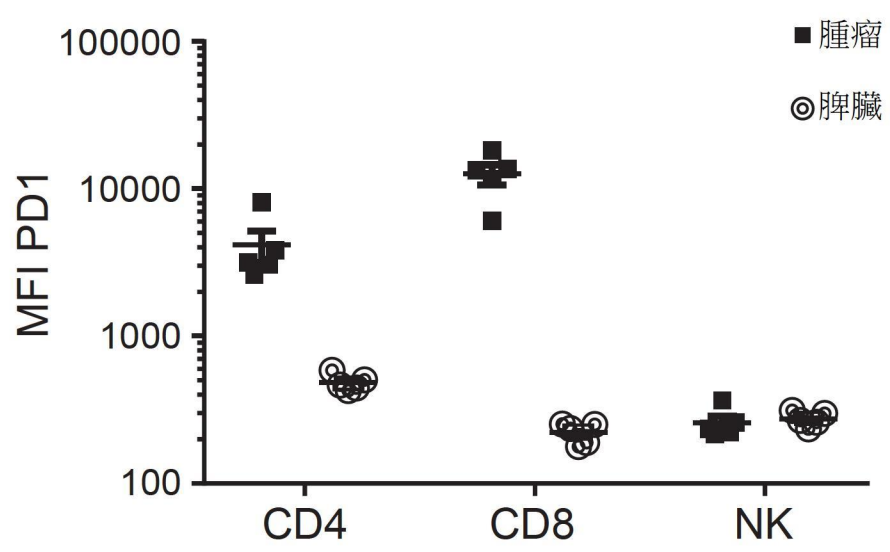
【圖8C】



【圖8D】

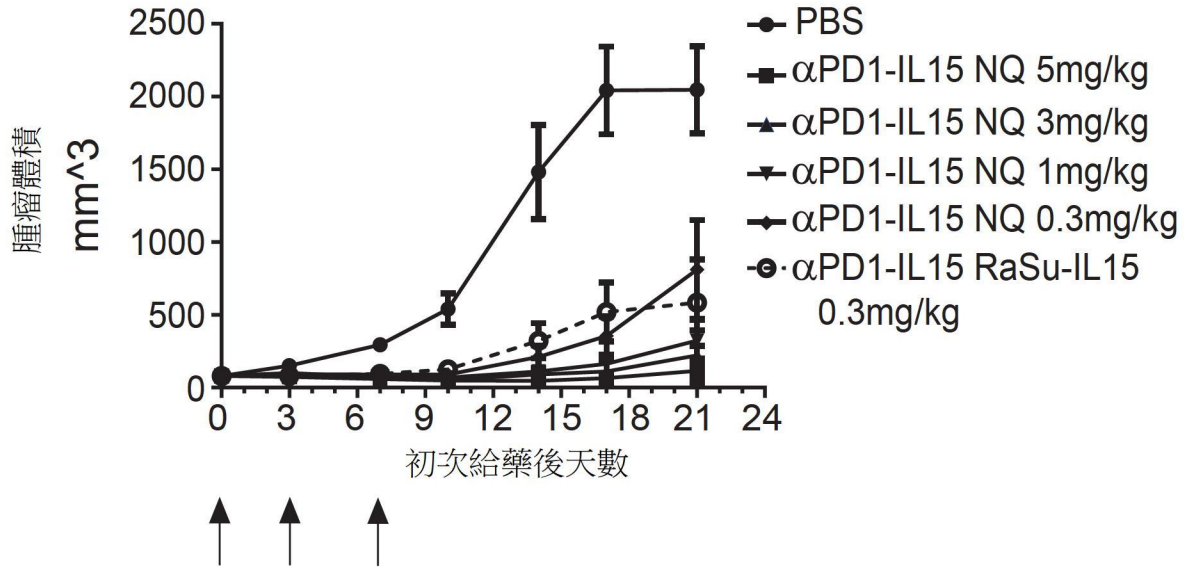


【圖9A】



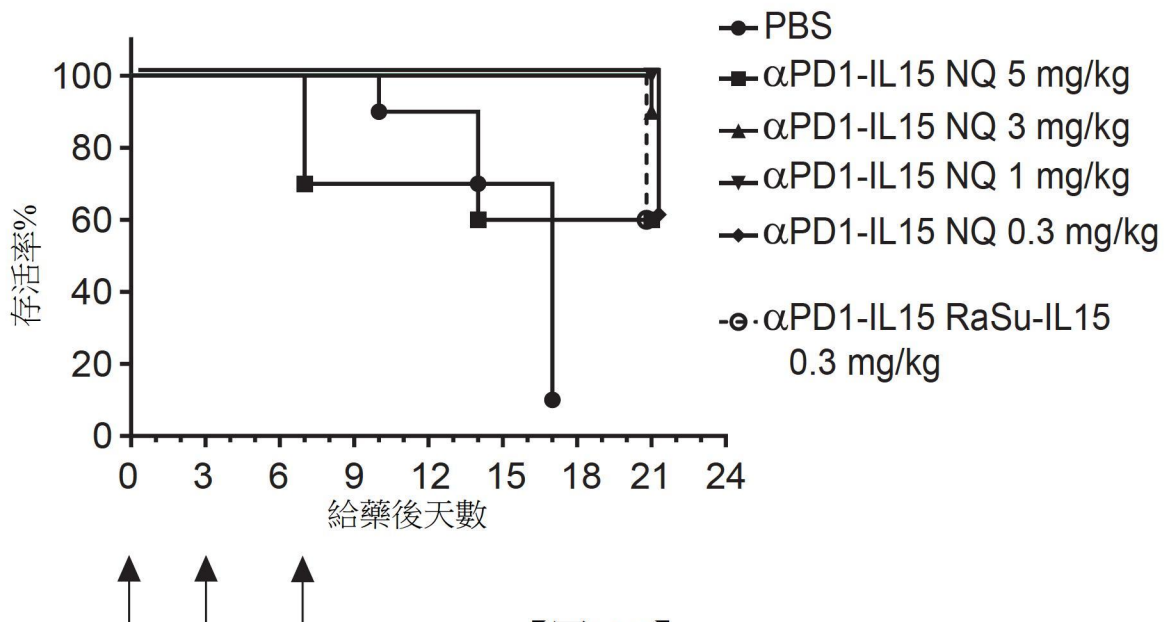
【圖9B】

腫瘤療效研究(B16F10)：腫瘤生長



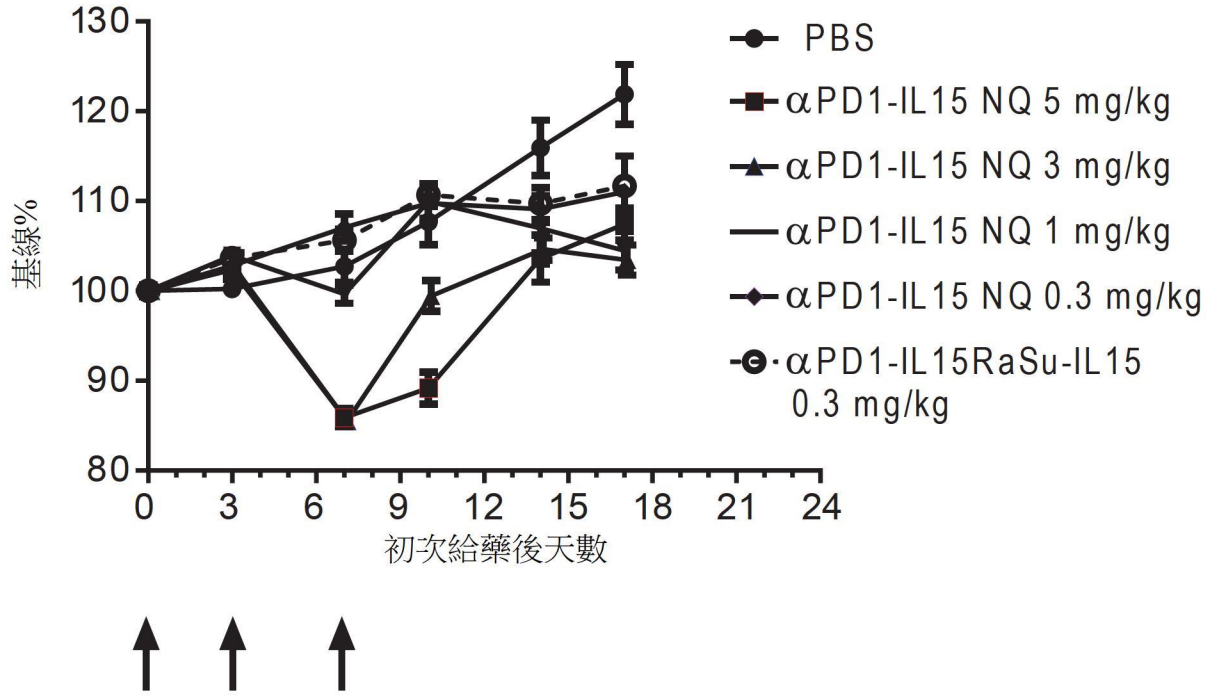
【圖10A】

腫瘤療效研究(B16F10)：存活率



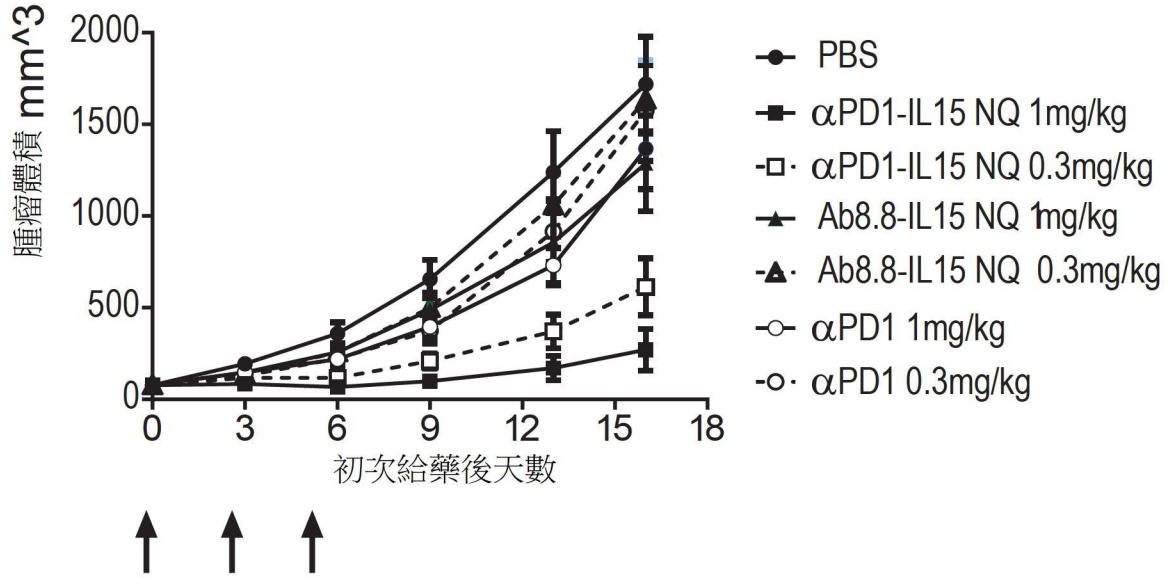
【圖10B】

腫瘤療效研究(B16F10)：自基線之體重變化



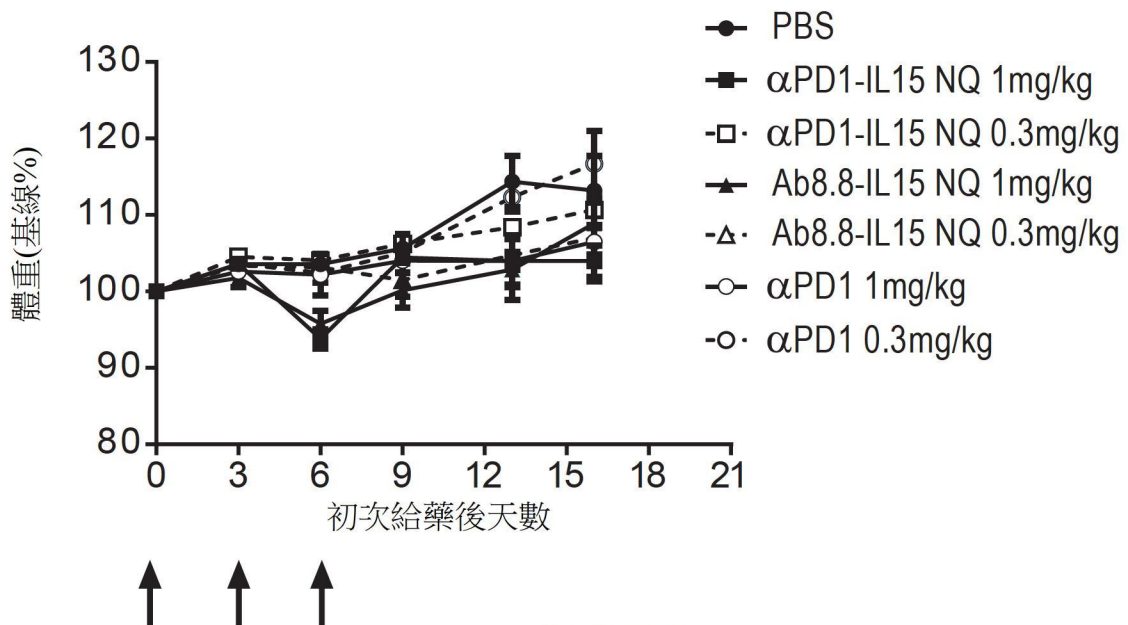
【圖10C】

B16腫瘤療效

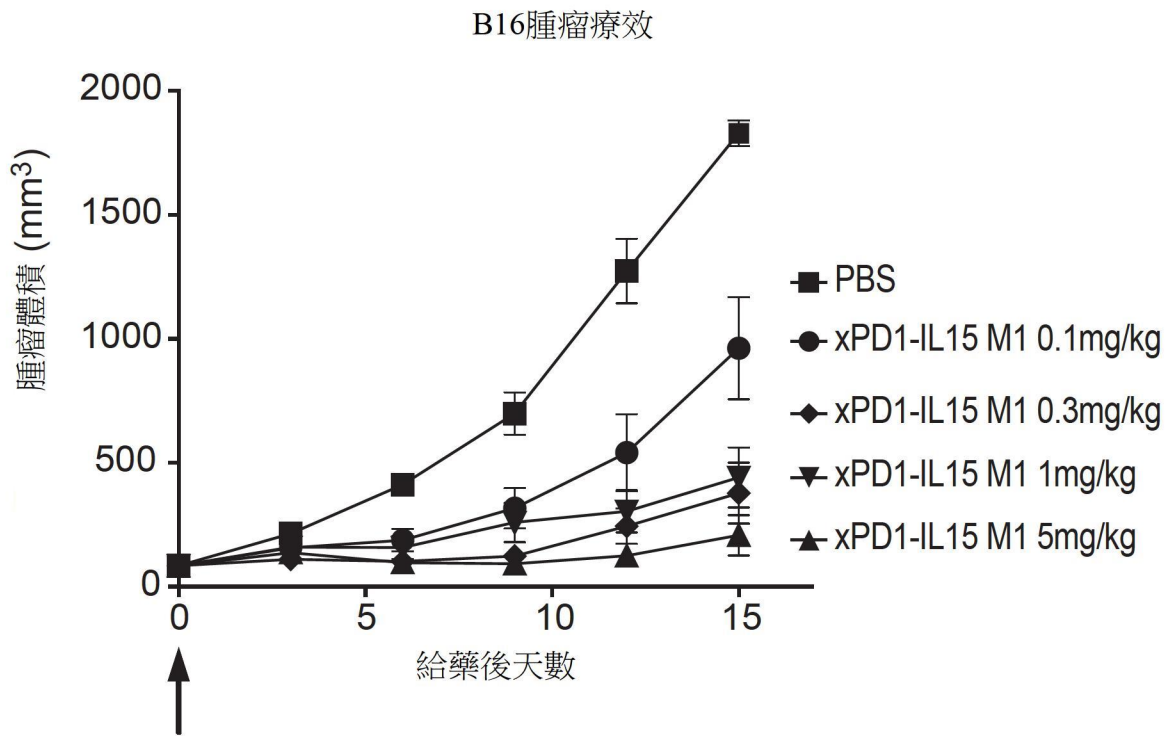


【圖11A】

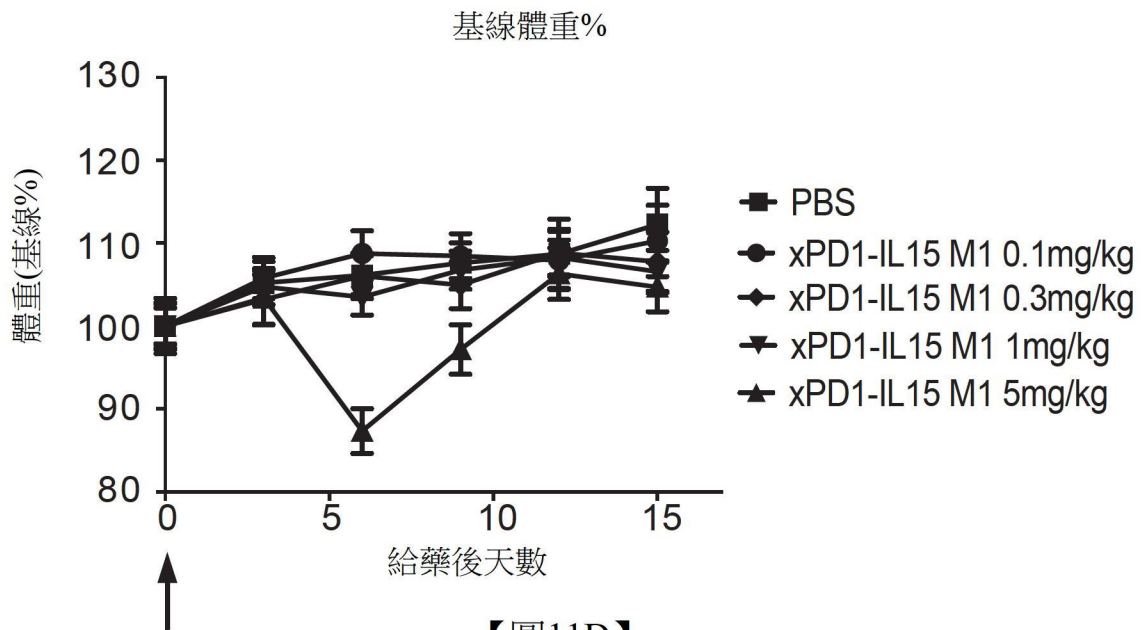
基線體重%



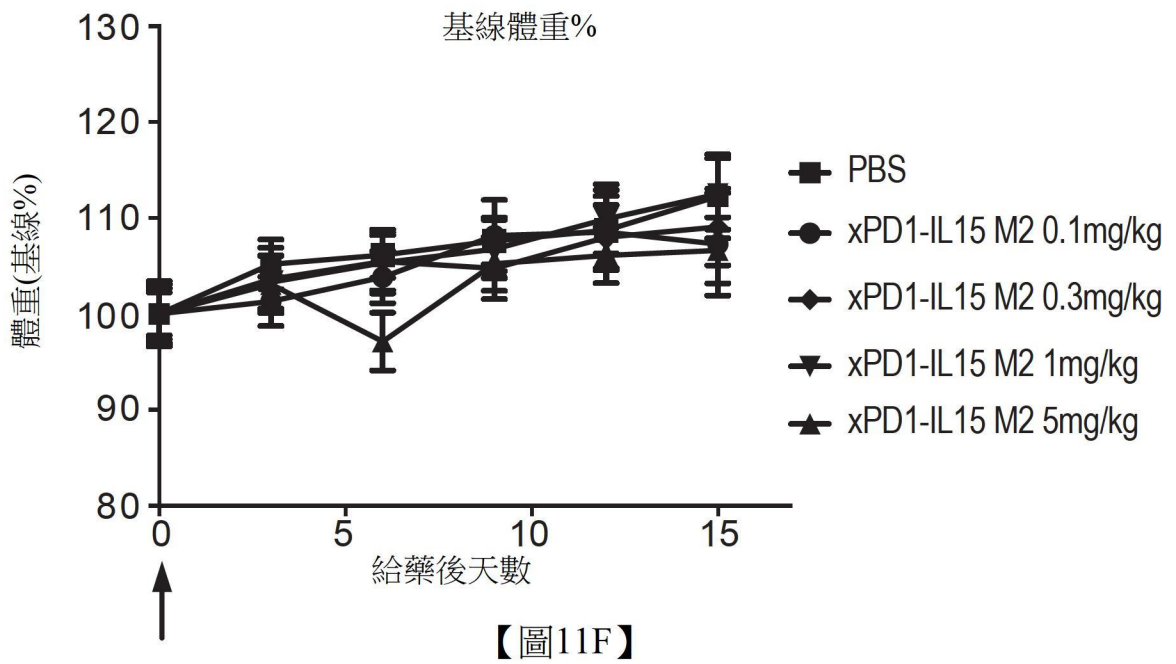
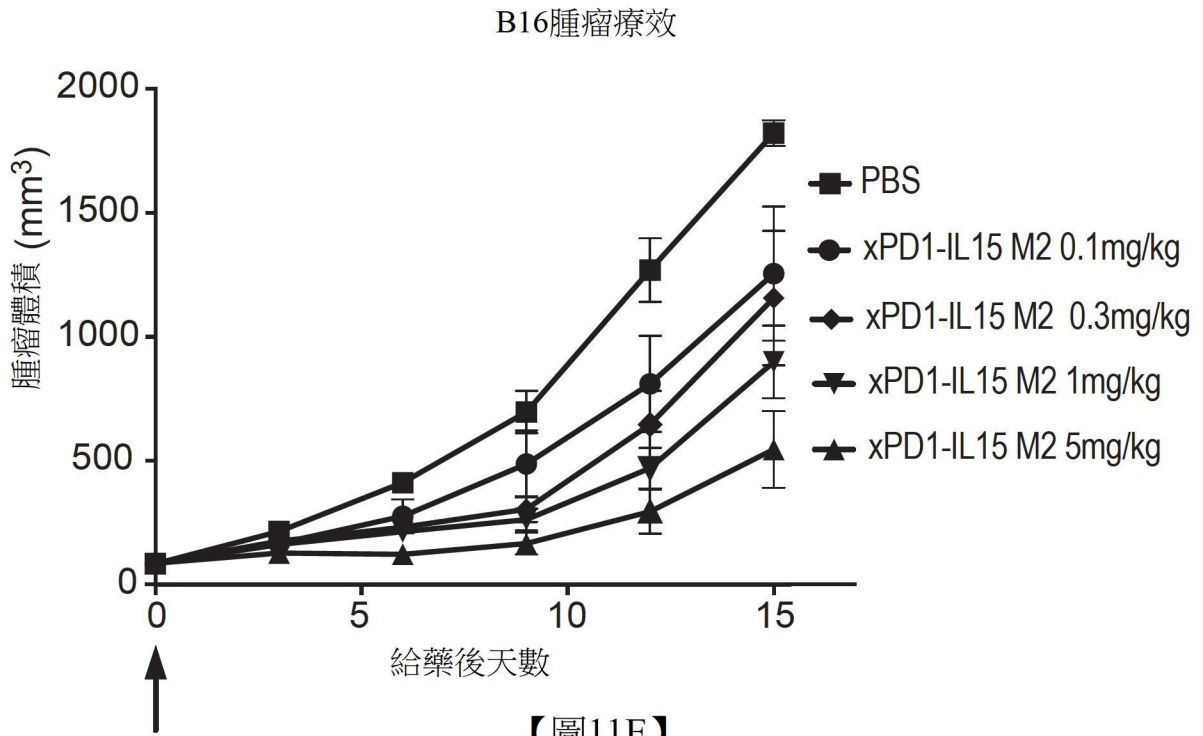
【圖11B】



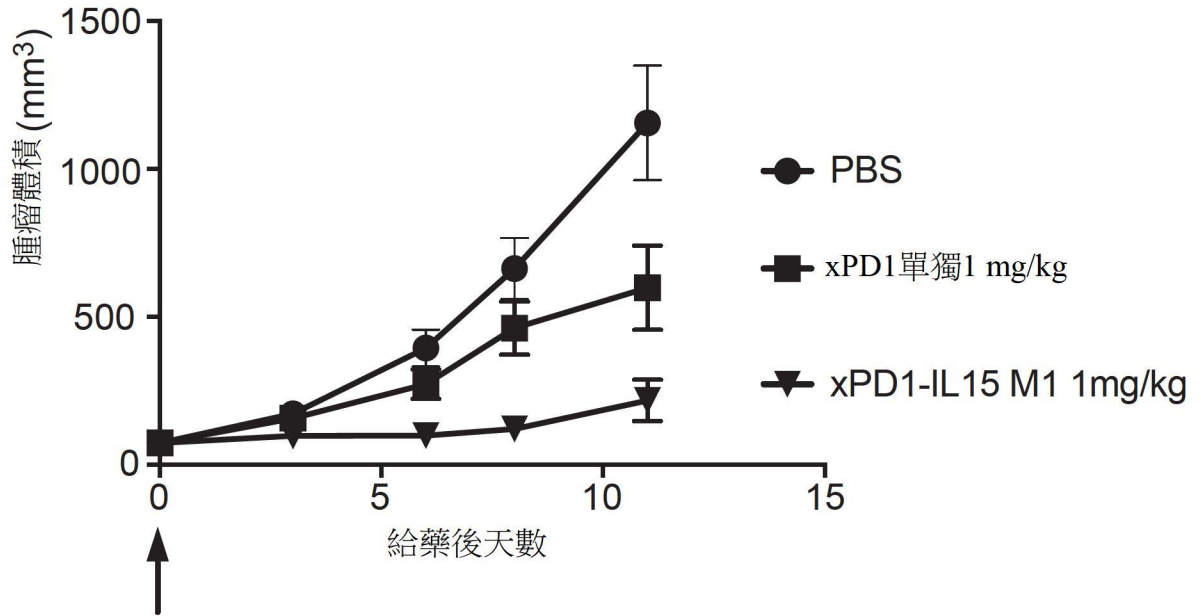
【圖11C】



【圖11D】

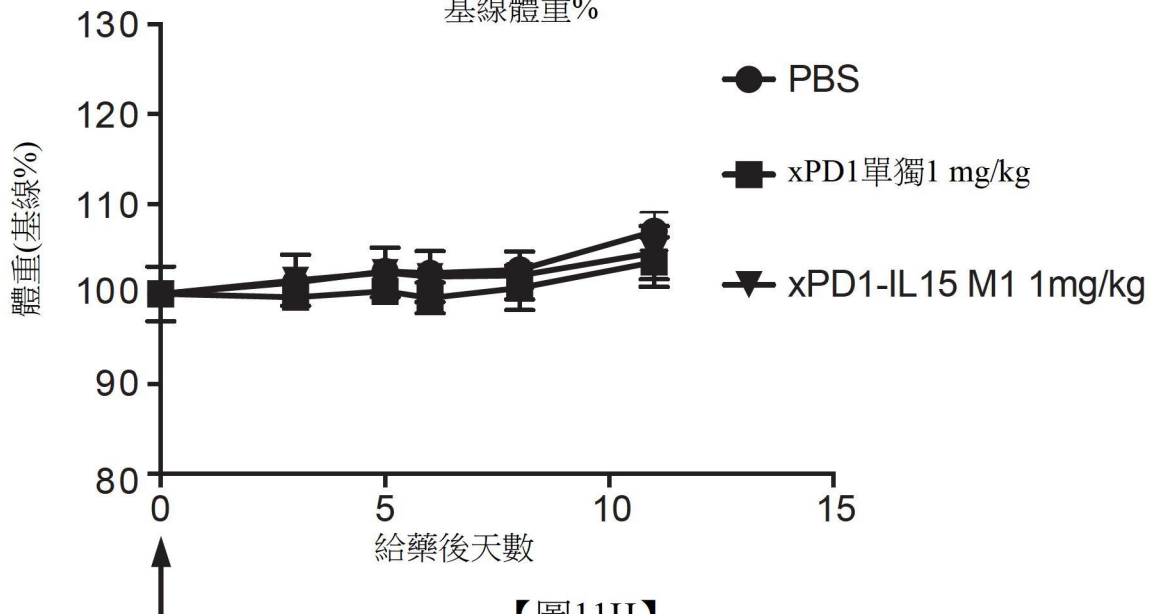


B16腫瘤療效

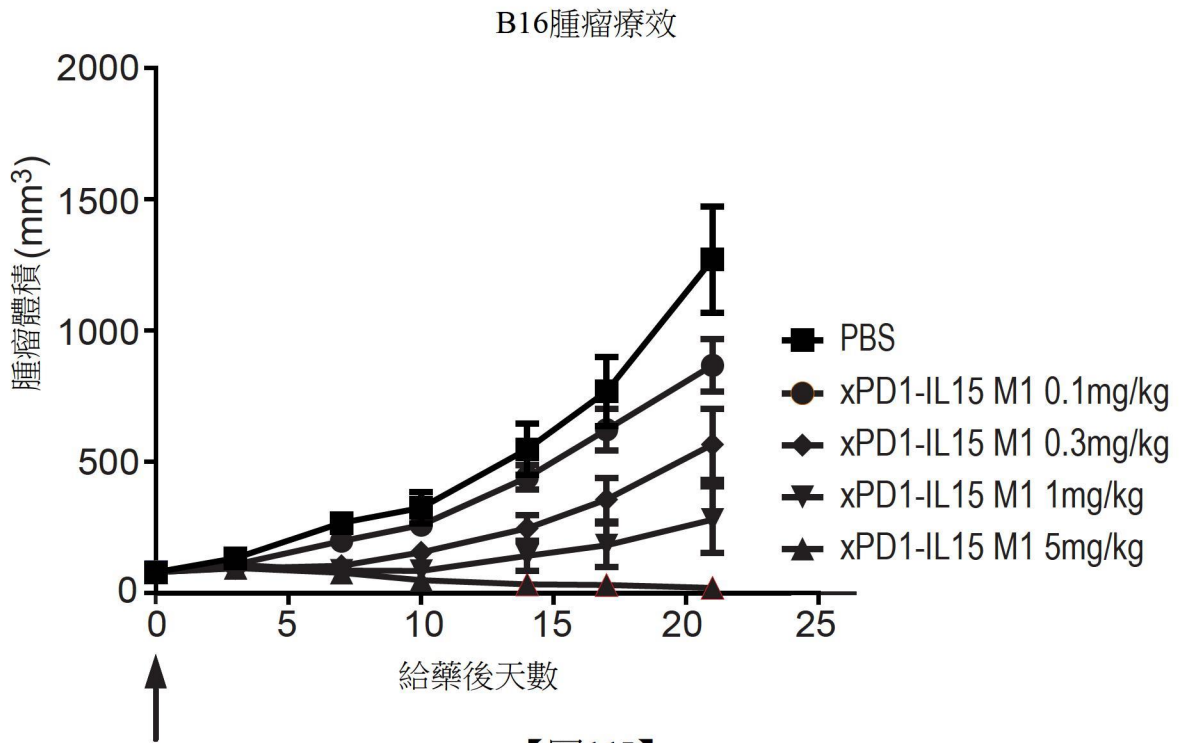


【圖11G】

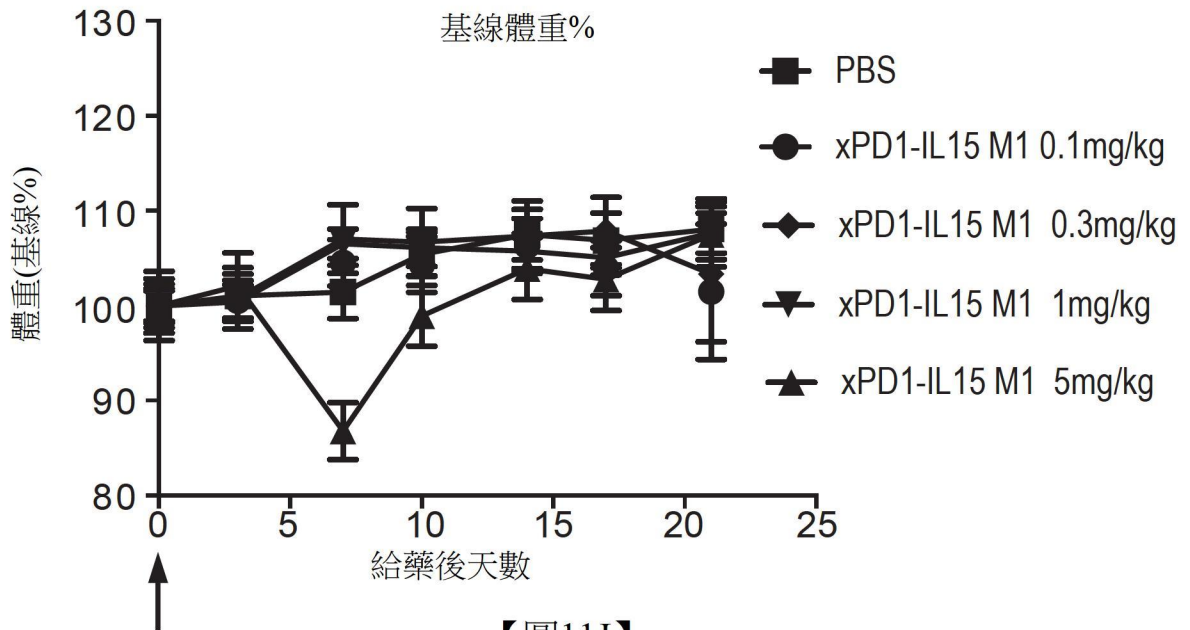
基線體重%



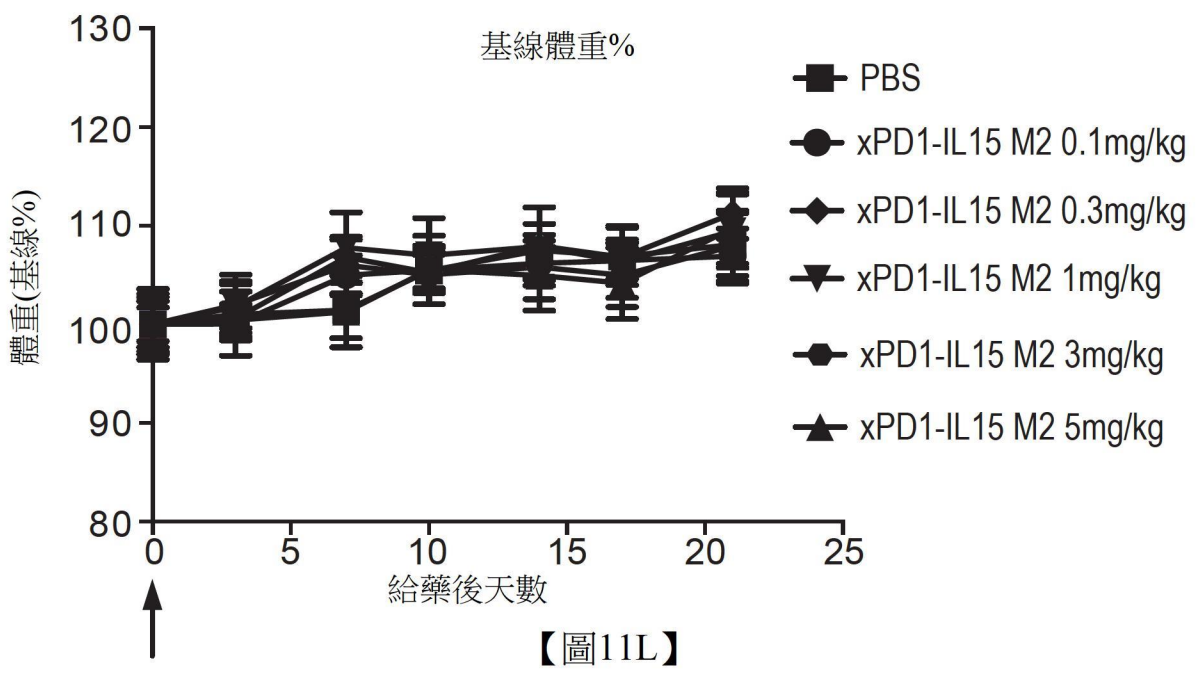
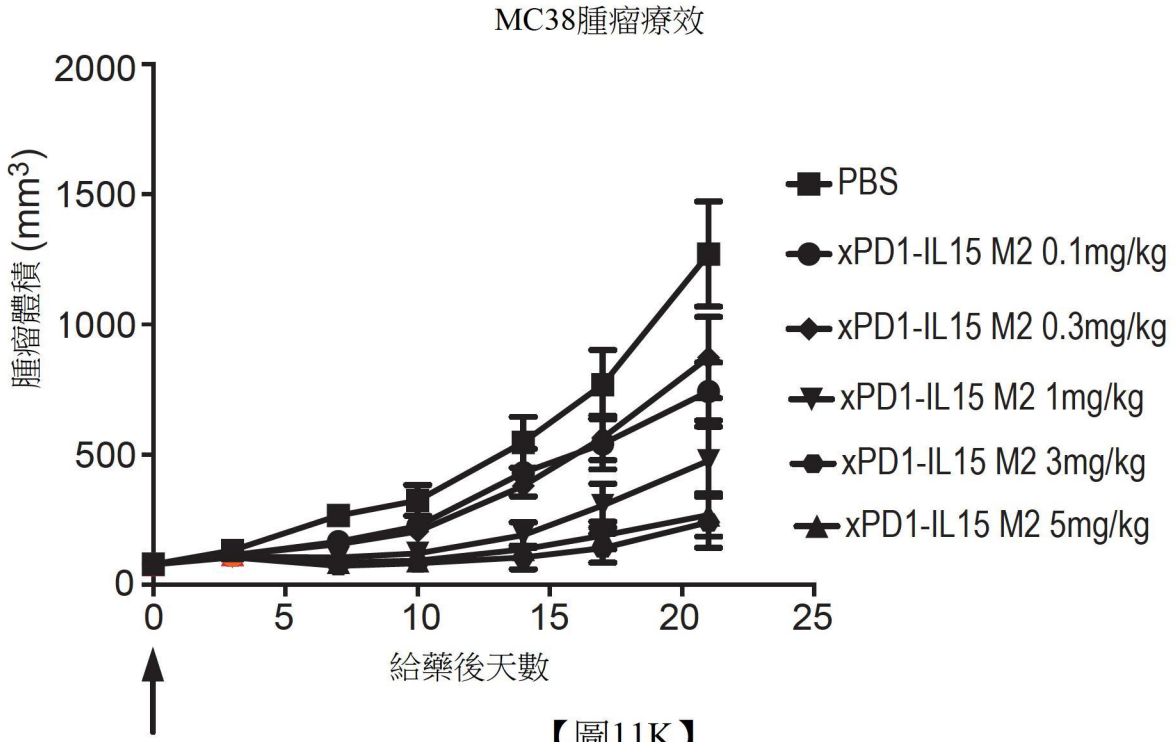
【圖11H】

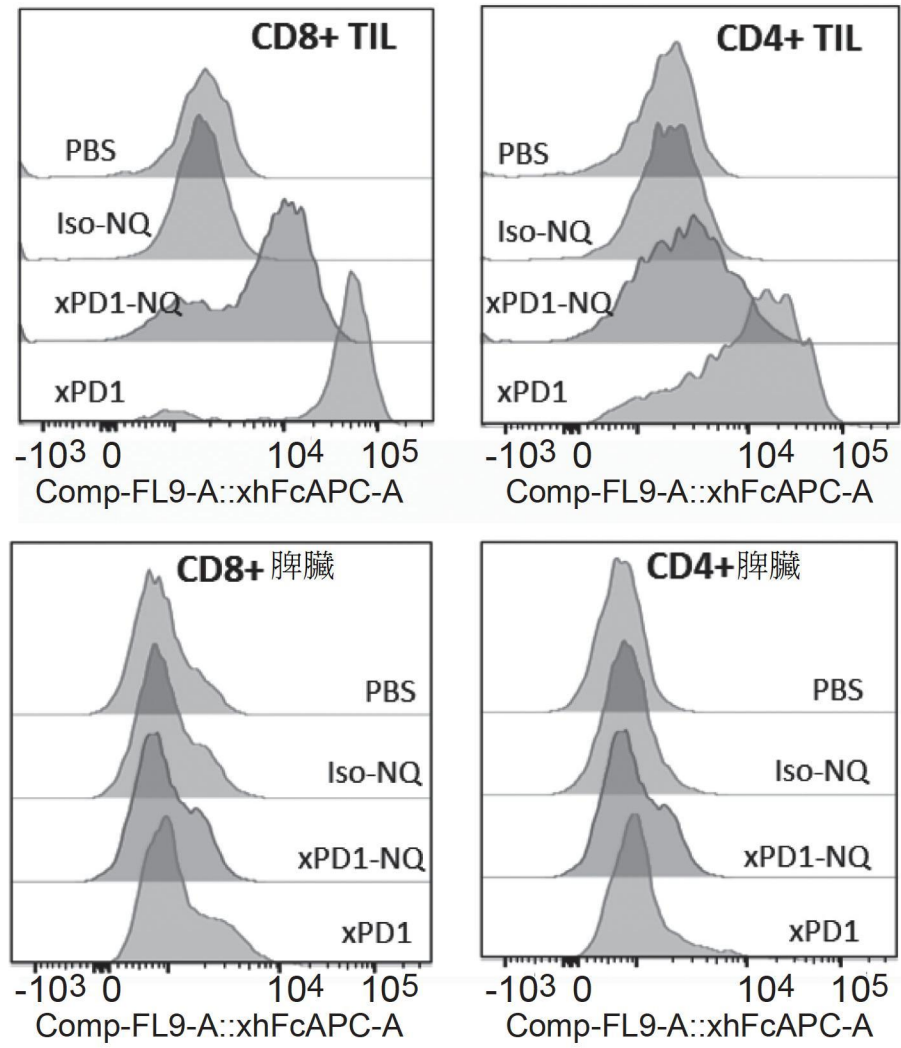


【圖11I】

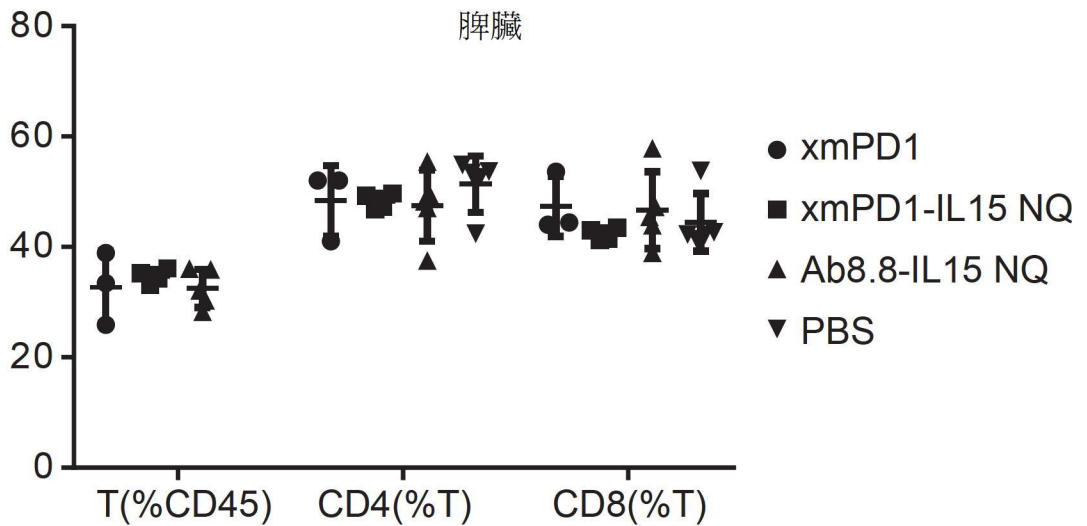


【圖11J】

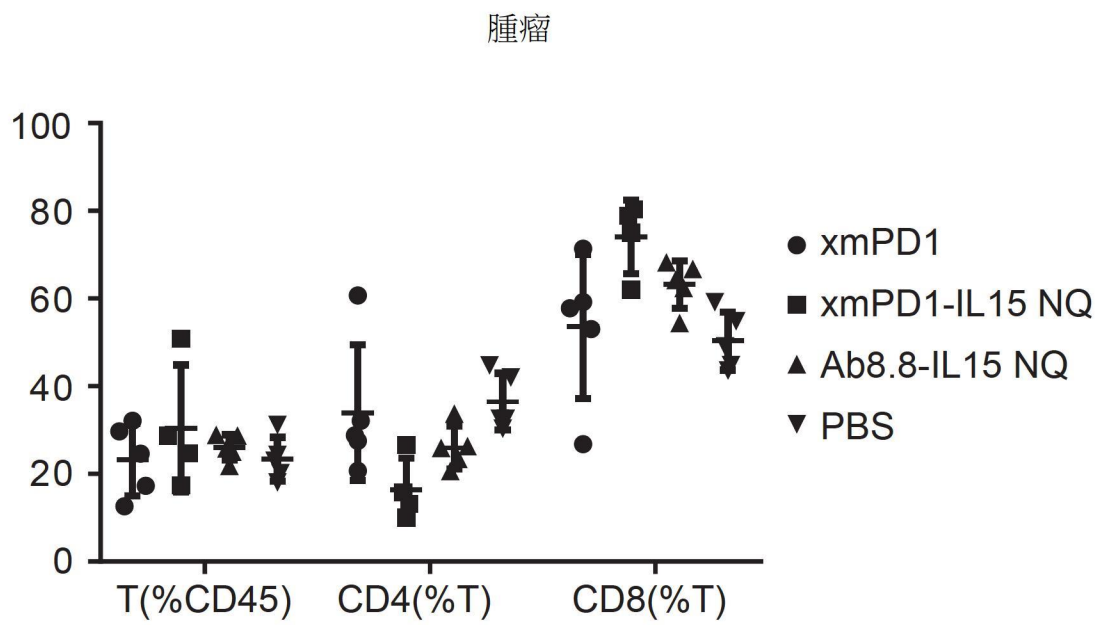




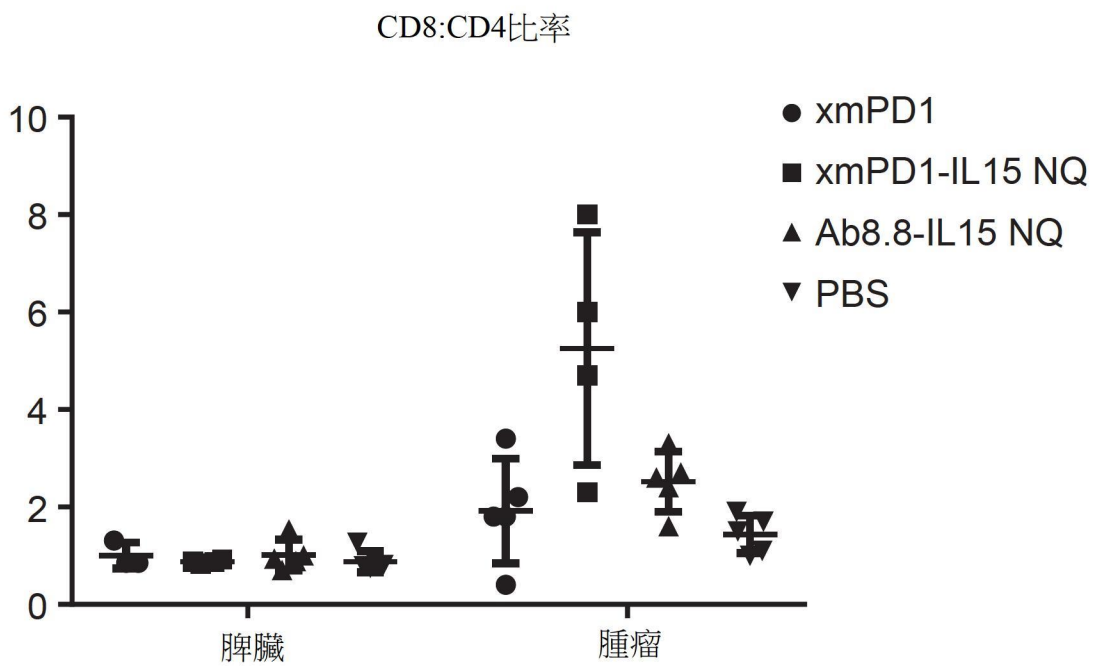
【圖12A】



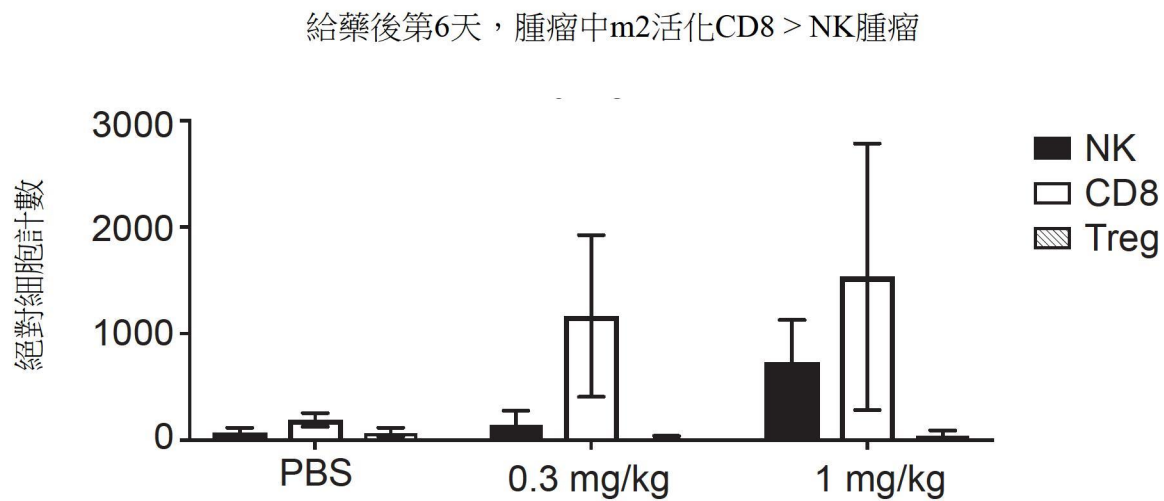
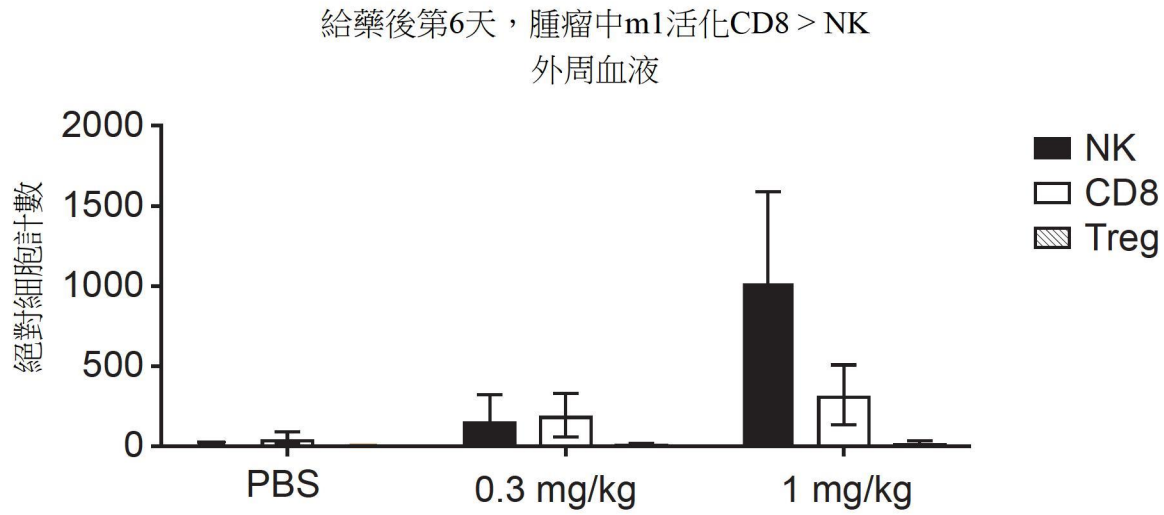
【圖12B】



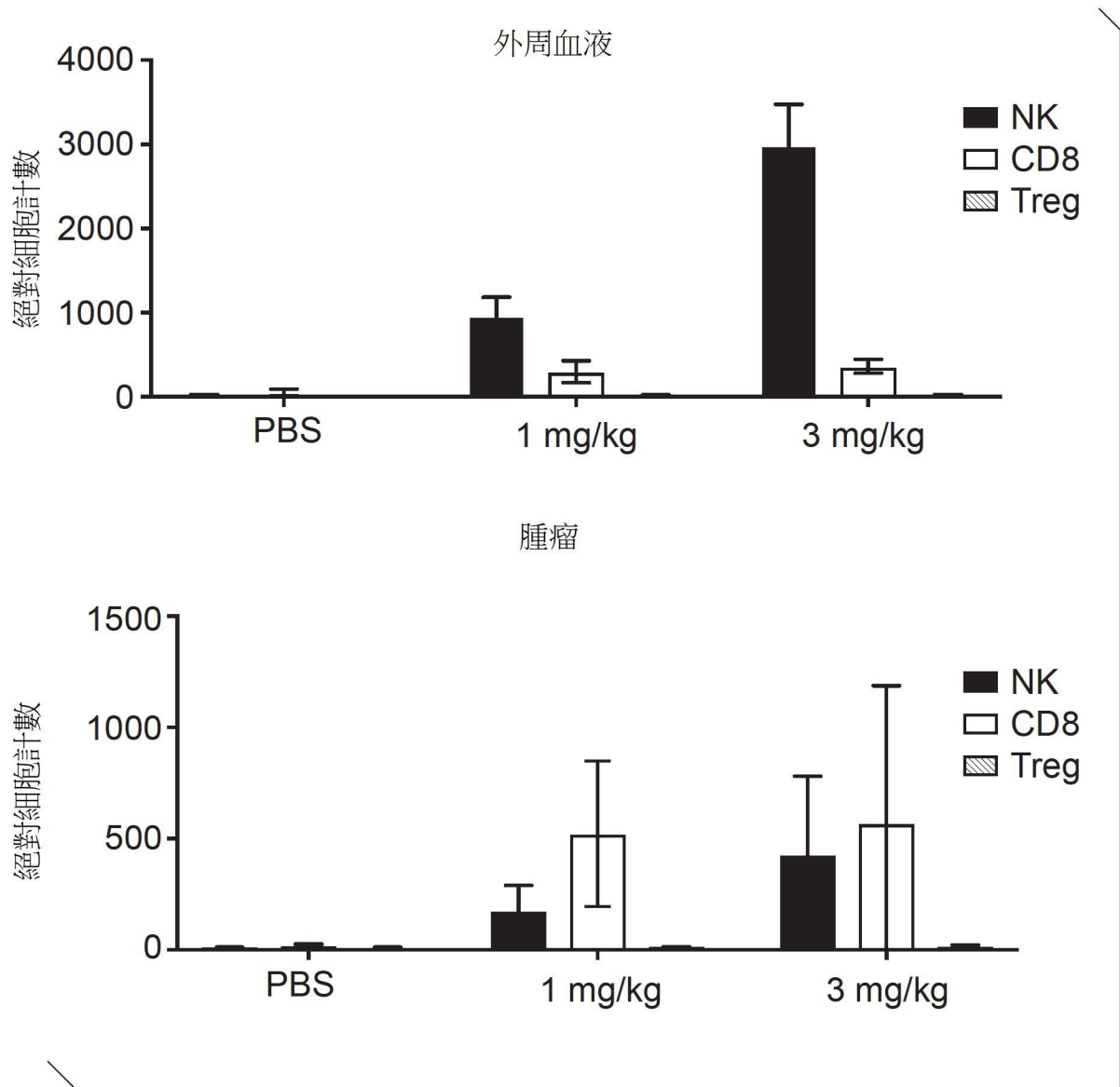
【圖12C】



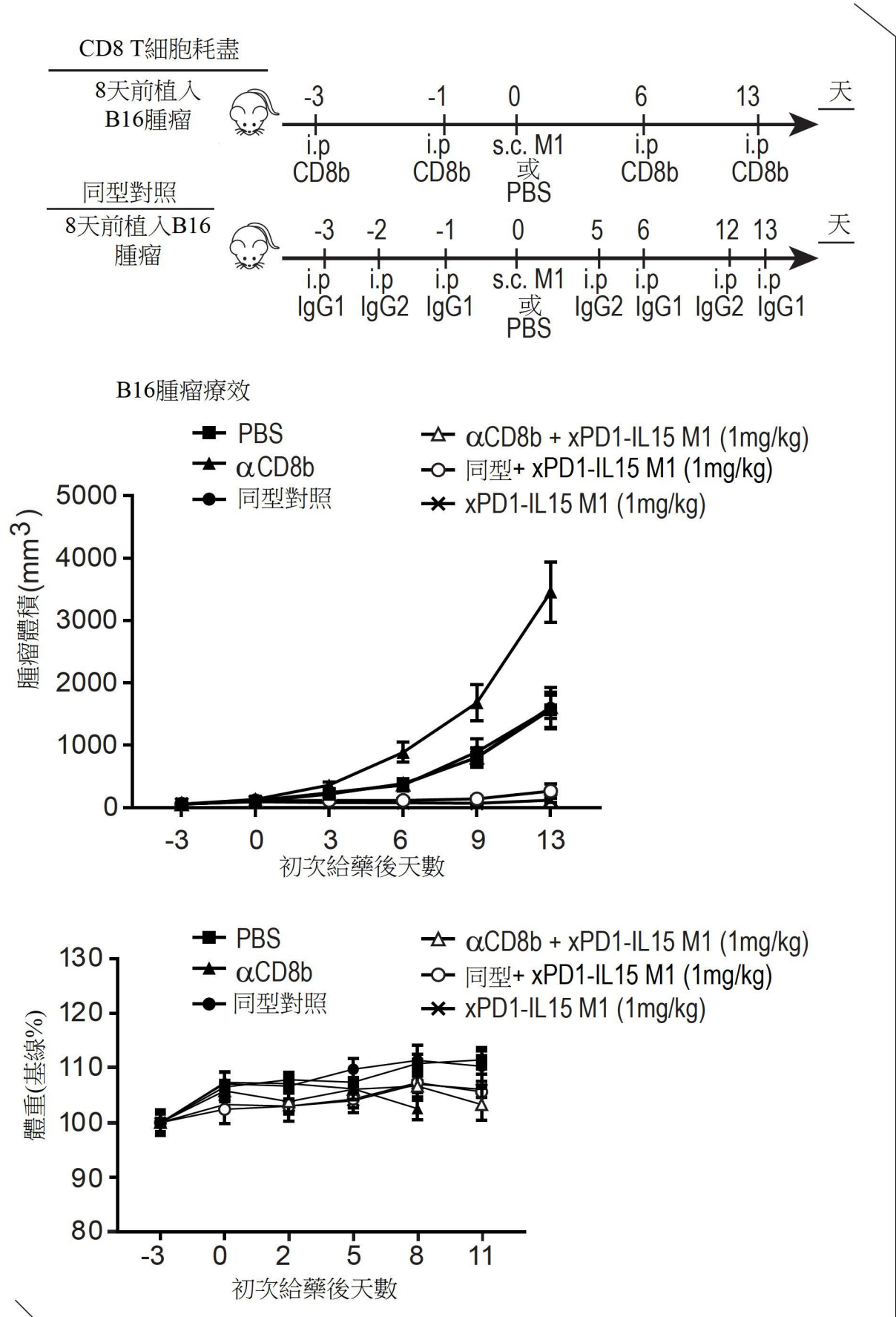
【圖12D】



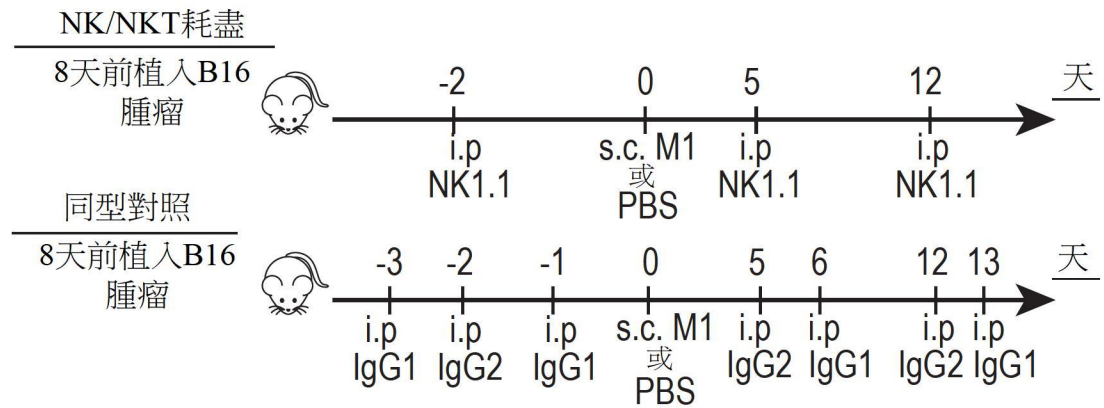
【圖13A】



【圖13B】

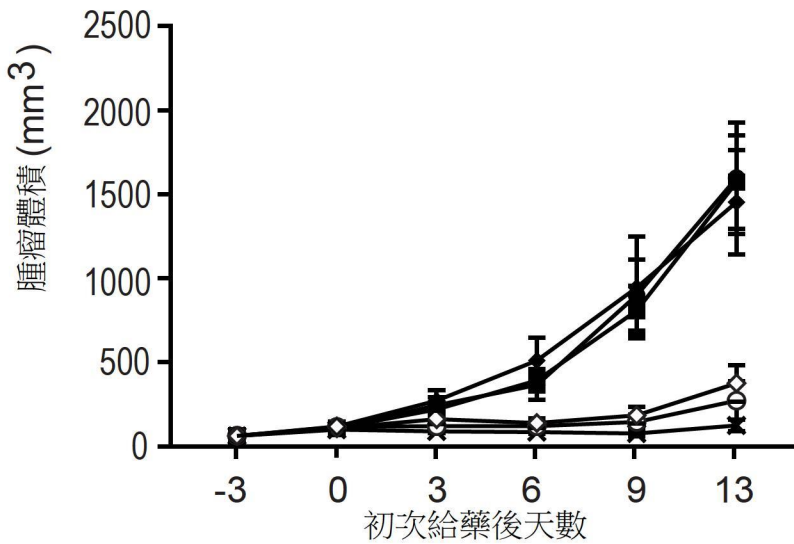


【圖13C】

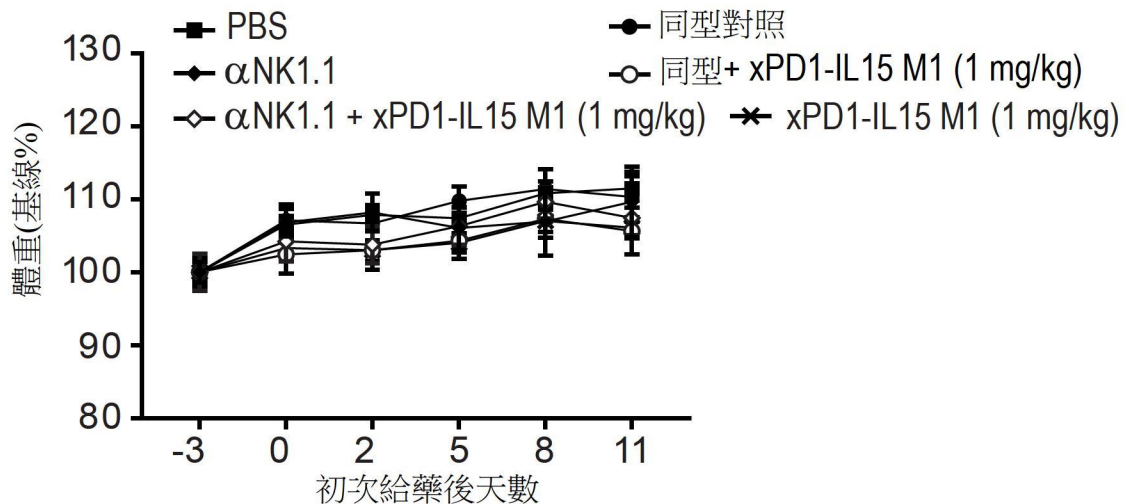


B16腫瘤療效

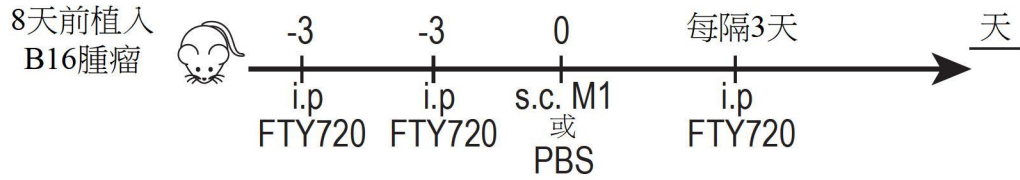
- PBS
- ◆ αNK1.1
- ◇ αNK1.1 + xPD1-IL15 M1 (1 mg/kg)
- 同型對照
- 同型+ xPD1-IL15 M1 (1 mg/kg)
- ✱ xPD1-IL15 M1 (1 mg/kg)



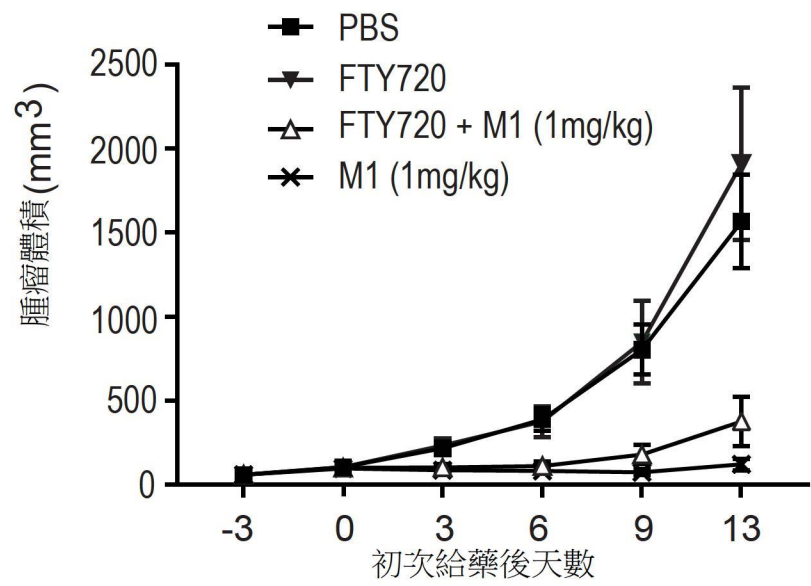
體重(基線%)



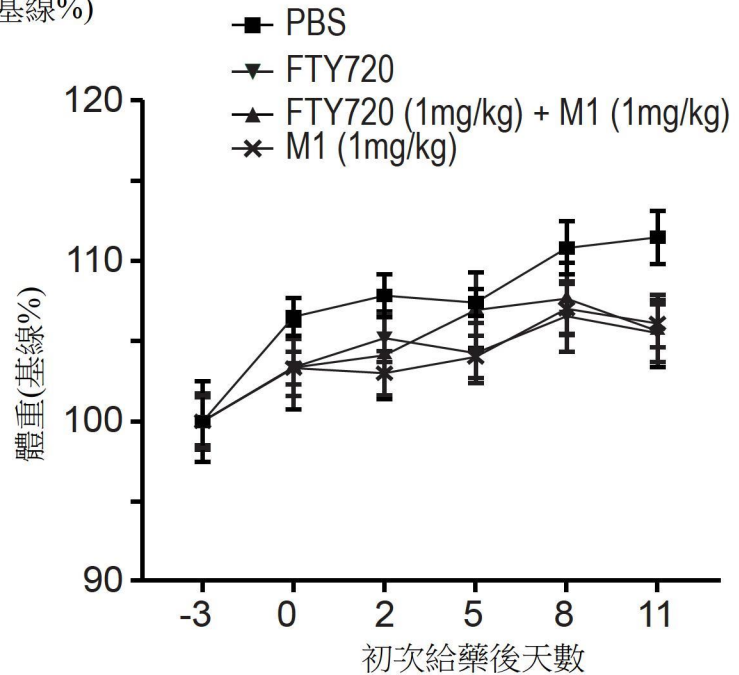
【圖13D】



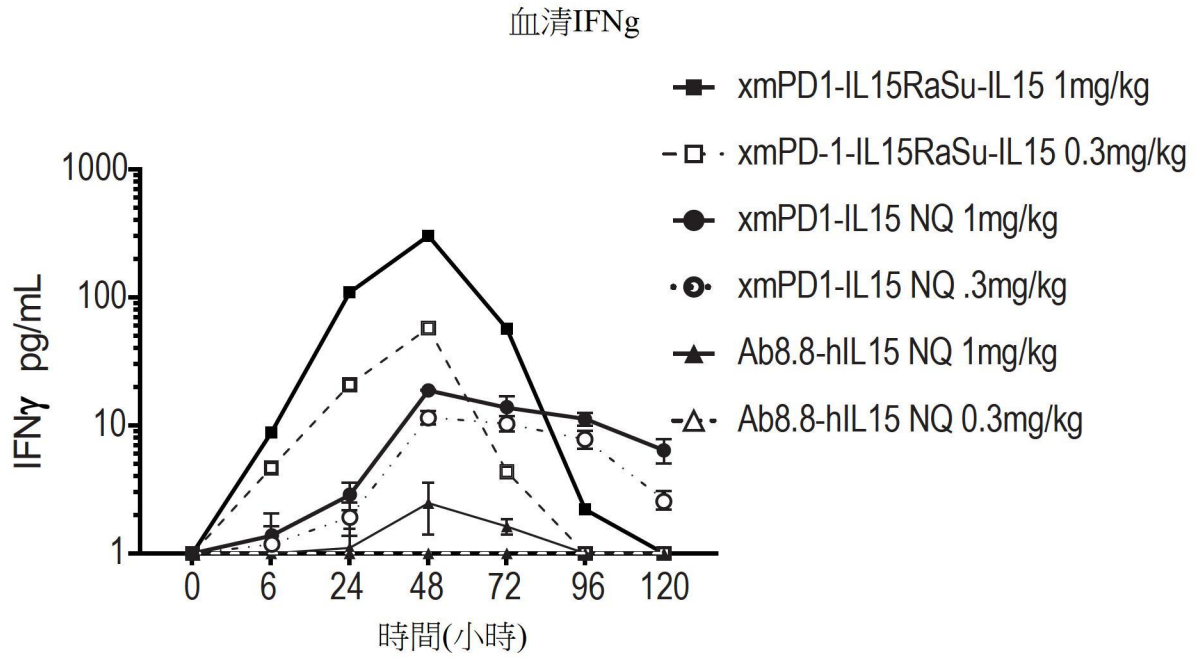
B16腫瘤療效



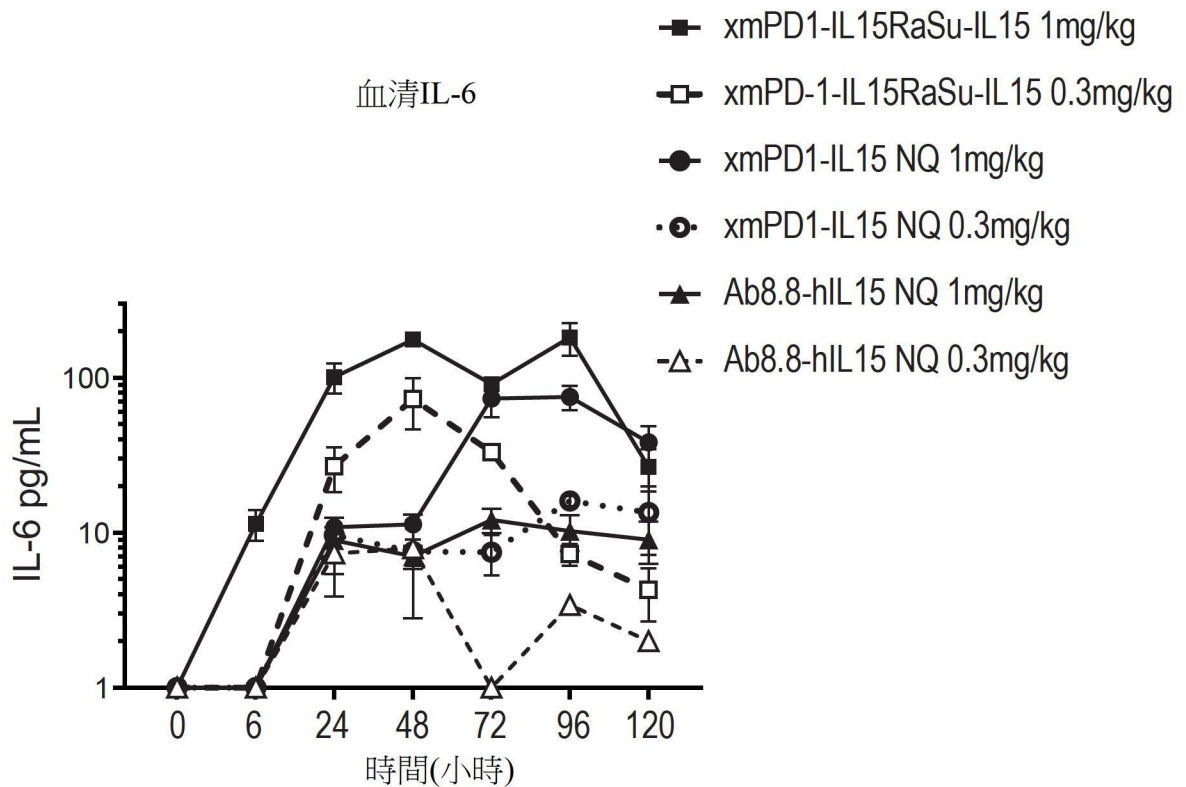
體重(基線%)



【圖13E】

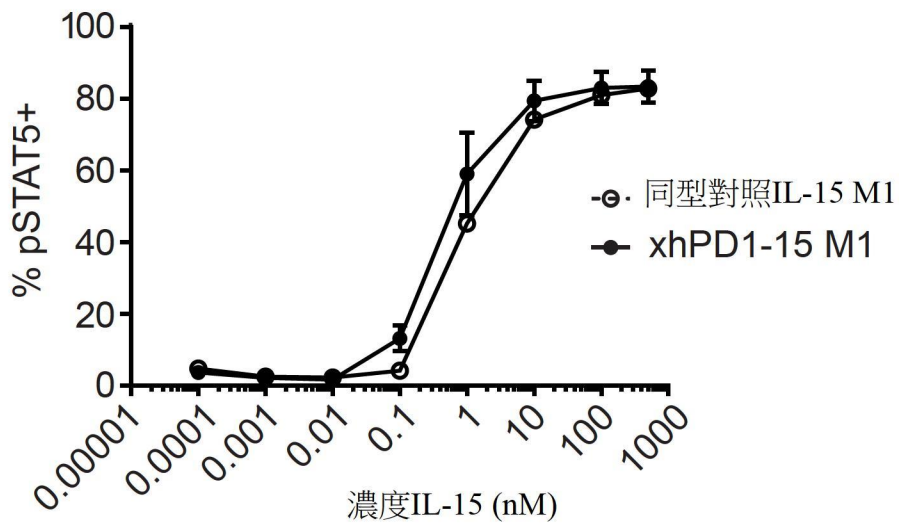


【圖14A】



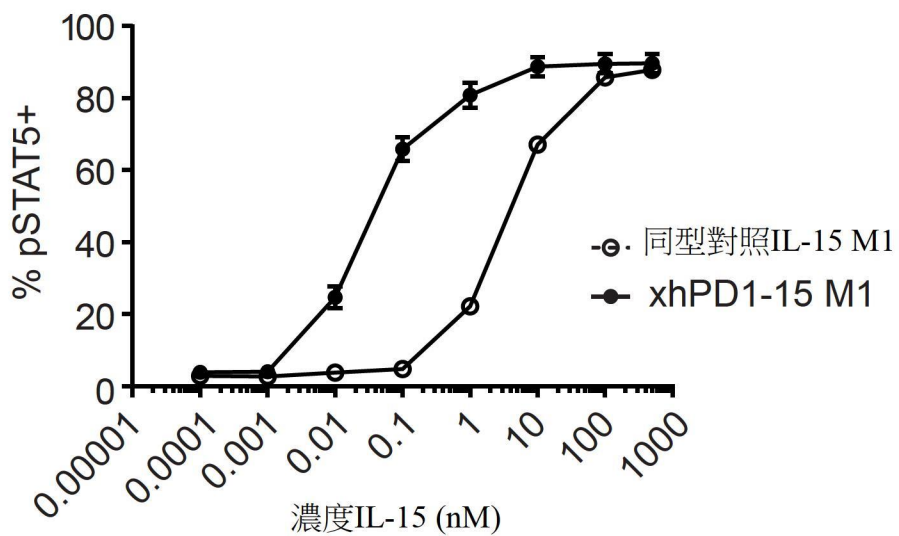
【圖14B】

所有供體NK



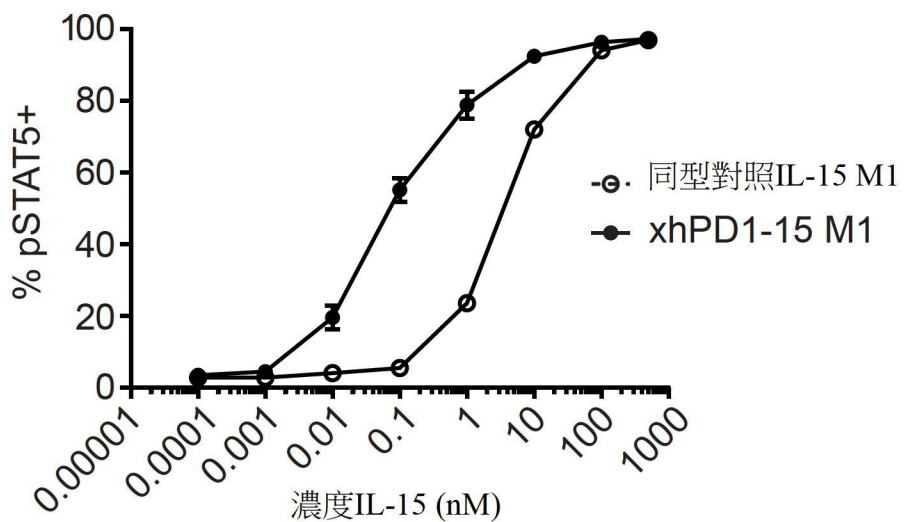
【圖15A】

所有供體  
CD8效應記憶體



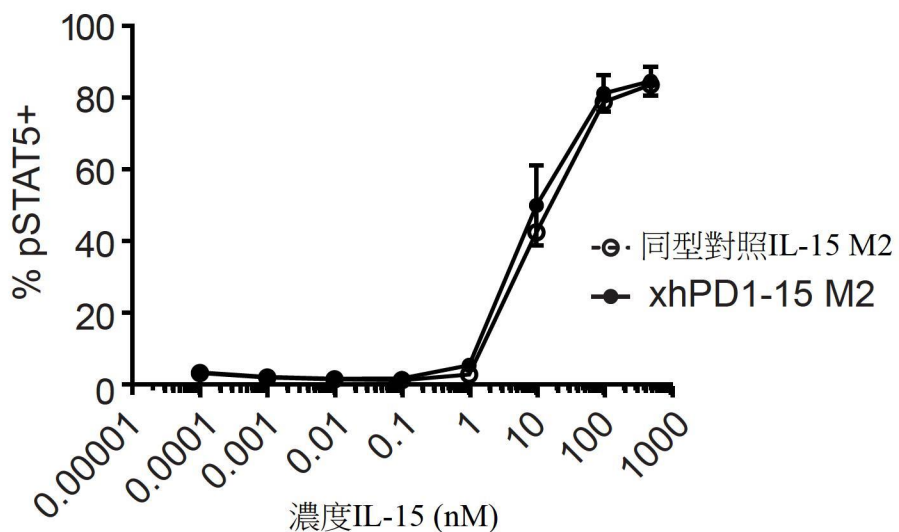
【圖15B】

所有供體  
CD8中樞記憶體



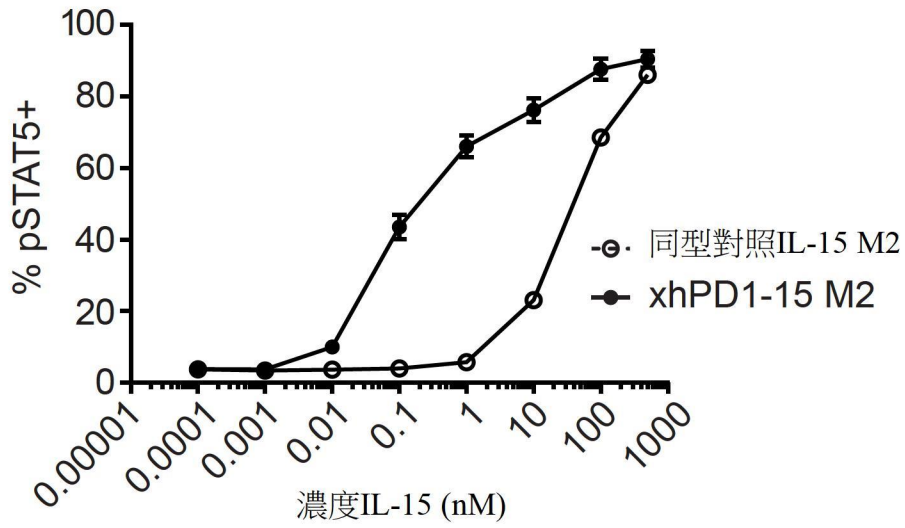
【圖15C】

所有供體NK



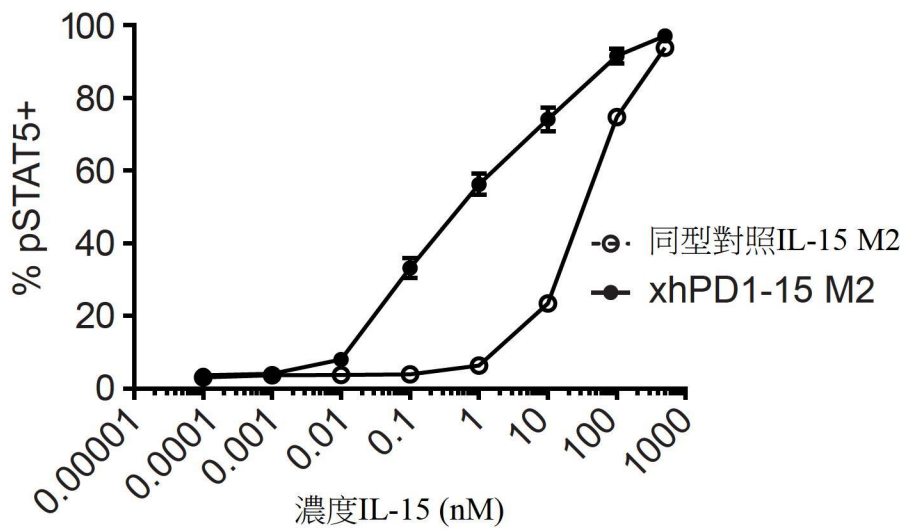
【圖15D】

所有供體  
CD8效應記憶體



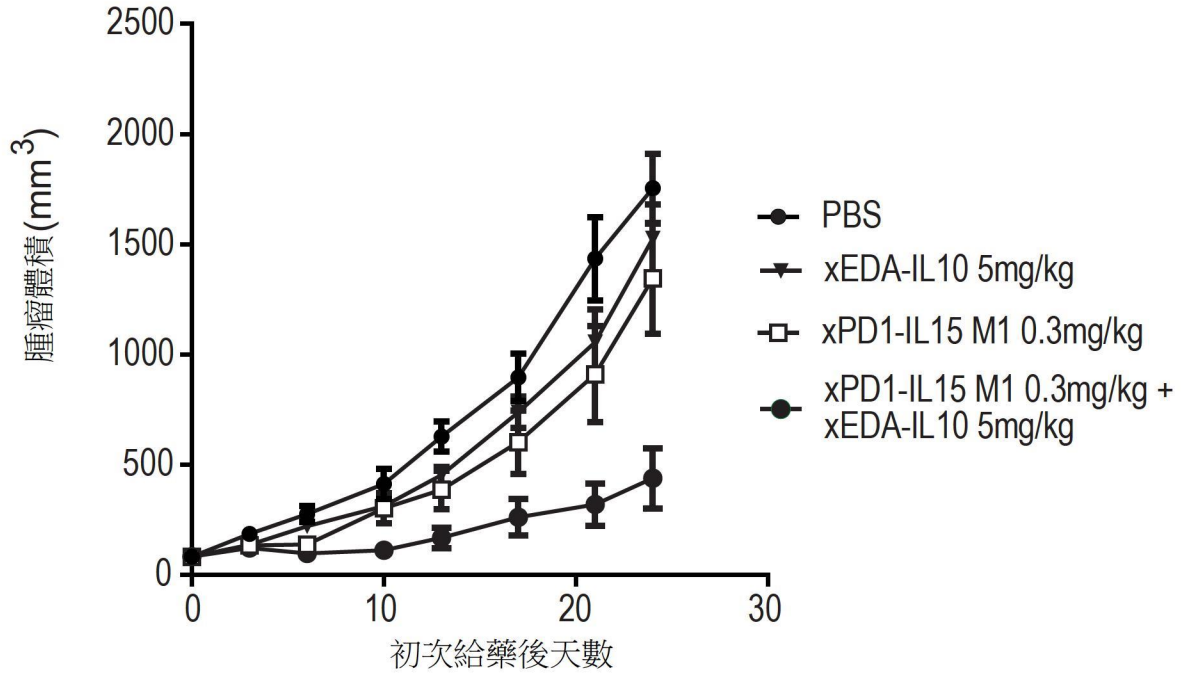
【圖15E】

所有供體NK  
CD8中樞記憶體



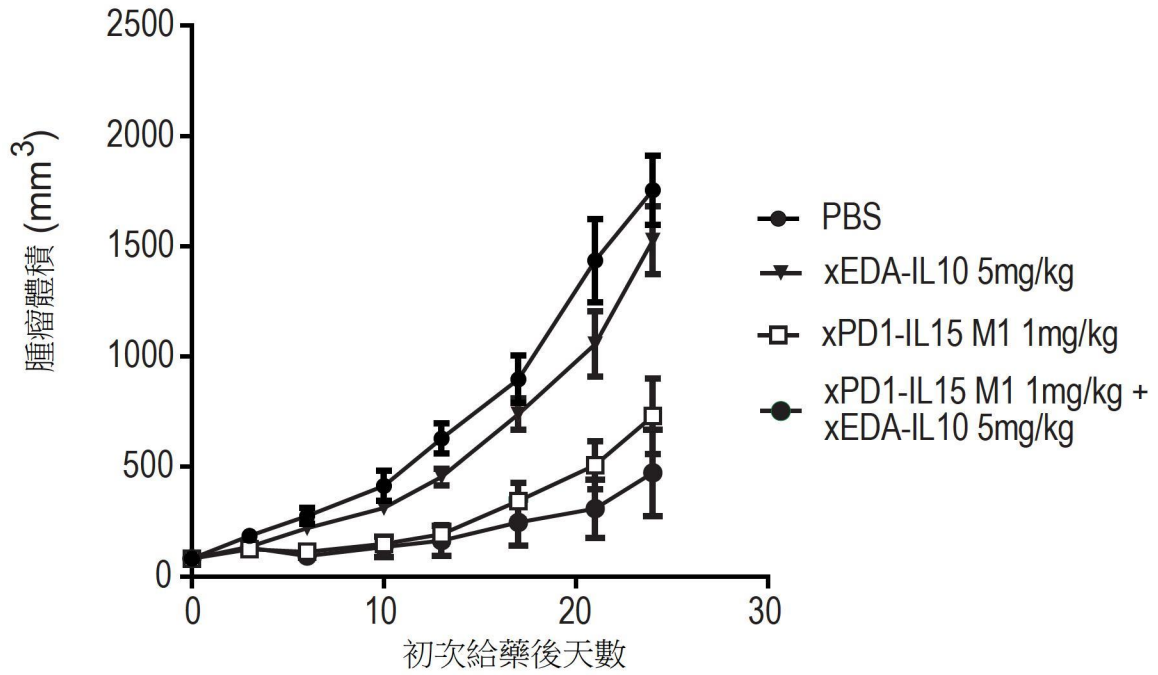
【圖15F】

MC38腫瘤療效

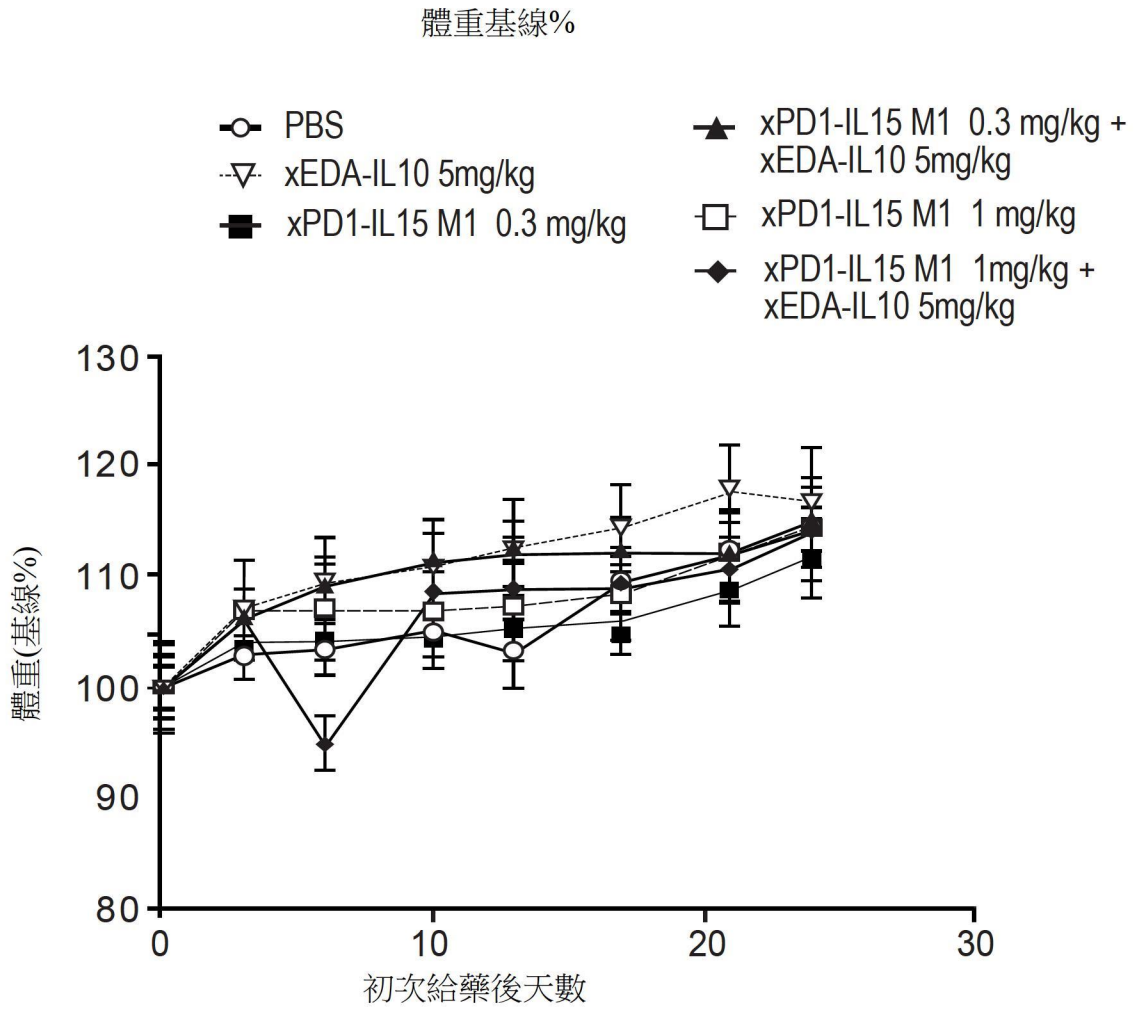


【圖16A】

MC38腫瘤療效



【圖16B】



【圖16C】