



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118453840 A

(43) 申请公布日 2024. 08. 09

(21) 申请号 202410306985.4	(51) Int.Cl.
(22) 申请日 2018.03.14	A61K 38/20 (2006.01)
(30) 优先权数据	A61K 47/64 (2017.01)
62/471,832 2017.03.15 US	A61K 38/17 (2006.01)
62/521,009 2017.06.16 US	A61K 39/395 (2006.01)
(62) 分案原申请数据	A61P 35/00 (2006.01)
201880031776.6 2018.03.14	A61K 47/68 (2017.01)
(71) 申请人 库尔生物制药有限公司	A61K 9/00 (2006.01)
地址 美国马萨诸塞州	A61P 37/06 (2006.01)
(72) 发明人 罗纳德·D·赛德尔三世	C12N 15/62 (2006.01)
鲁道夫·J·查帕罗	C07K 16/28 (2006.01)
(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理	C07K 14/79 (2006.01)
有限责任公司 11258	C07K 14/55 (2006.01)
专利代理人 蒋桂梅	C07K 14/74 (2006.01)
	权利要求书2页 说明书133页
	序列表(电子公布) 附图155页

(54) 发明名称

用于调节免疫应答的方法

(57) 摘要

本公开提供调节个体中的免疫应答的方法。本公开提供治疗方法。本公开提供包括向个体施用多聚多肽(synTac)和免疫检查点抑制剂的方法。本公开提供包括向正经受用免疫检查点抑制剂进行的治疗的个体施用多聚多肽(synTac)的方法。

1. 一种调节有需要的个体的免疫应答的方法,所述方法包括向所述个体施用多聚多肽和免疫检查点抑制剂,

其中所述多聚多肽包含:

a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 表位;

ii) 第一主要组织相容性复合物 (MHC) 多肽;以及

b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 第二MHC多肽;和

ii) 任选地,免疫球蛋白 (Ig)Fc多肽或非Ig骨架,

其中所述多聚多肽包含一个或多个免疫调节性多肽,其中所述一个或多个免疫调节性多肽是:

A) 在所述第一多肽的C末端;

B) 在所述第二多肽的N末端;

C) 在所述第二多肽的C末端;或

D) 在所述第一多肽的C末端以及在所述第二多肽的N末端;并且

其中所述施用调节所述个体中的免疫应答。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述多聚多肽包含:

a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 表位;

ii) 第一MHC多肽;和

iii) 免疫调节性结构域;以及

b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 第二MHC多肽;和

ii) Ig Fc多肽。

3. 如权利要求1所述的方法,其中所述多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 表位;和

ii) 第一MHC多肽;以及

b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 免疫调节性结构域;

iii) 第二MHC多肽;和

ii) 免疫球蛋白 (Ig)Fc多肽。

4. 如权利要求1所述的方法,其中所述多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 表位;和

ii) 第一MHC多肽;以及

b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 第二MHC多肽;和

ii) Ig Fc多肽;和

iii) 免疫调节性结构域。

5. 如权利要求1所述的方法, 其中所述多聚多肽包含: a) 第一多肽, 其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 表位; 和

ii) 第一MHC多肽; 以及

b) 第二多肽, 其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 第二MHC多肽; 和

ii) 免疫调节性结构域。

6. 如权利要求1所述的方法, 其中所述多聚多肽包含: a) 第一多肽, 其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 表位; 和

ii) 第一MHC多肽; 以及

b) 第二多肽, 其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 免疫调节性结构域; 和

ii) 第二MHC多肽。

7. 如权利要求1所述的方法, 其中所述多聚多肽包含:

a) 第一多肽, 其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 表位;

ii) 第一MHC多肽; 和

iii) 免疫调节性结构域; 以及

b) 第二多肽, 其按从N末端至C末端顺序包含:

i) 第二MHC多肽。

8. 如权利要求1所述的方法, 其中所述多聚多肽的非Ig骨架是XTEN多肽、转铁蛋白多肽、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的方法, 其中所述多聚多肽的第一MHC多肽是 β 2-微球蛋白多肽; 并且其中所述第二MHC多肽是I类MHC重链多肽。

10. 如权利要求9所述的方法, 其中所述多聚多肽的 β 2-微球蛋白多肽包含与图6中阐述的氨基酸序列中的一者具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

用于调节免疫应答的方法

[0001] 本申请是申请号为201880031776.6的中国专利申请的分案申请,原申请是申请日为2018年3月14日的国际申请PCT/US2018/022492的中国国家阶段申请。

[0002] 交叉引用

[0003] 本申请要求2017年3月15日提交的美国临时专利申请号62/471,832和2017年6月16日提交的美国临时专利申请号62/521,009的权益,所述申请以引用的方式整体并入本文。

[0004] 引言

[0005] 适应性免疫应答涉及存在于T细胞的表面上的T细胞受体 (TCR) 与通过主要组织相容性复合物 (MHC; 在人中也称为人白细胞抗原 (HLA) 复合物) 来在抗原递呈细胞 (APC) 的表面上非共价递呈的小肽抗原啮合。这个啮合代表免疫系统的靶向机理,并且是为达成T细胞调节 (活化或抑制) 和效应物功能所必要的分子相互作用。在表位特异性细胞靶向之后,所靶向的T细胞通过见于APC上的共刺激性蛋白质与T细胞的对应共刺激性蛋白质的啮合而得以活化。两种信号-表位/TCR结合以及APC共刺激性蛋白质与T细胞共刺激性蛋白质啮合-均为驱动T细胞特异性和活化或抑制所需。TCR对给定表位具有特异性;然而,共刺激性蛋白质不具有表位特异性,而是通常在所有T细胞上或在大型T细胞子组上表达。

发明内容

[0006] 本公开提供调节个体中的免疫应答的方法。本公开提供治疗方法。本公开提供包括向个体施用多聚多肽 (synTac) 和免疫检查点抑制剂的方法。本公开提供包括向正经受用免疫检查点抑制剂进行治疗的个体施用多聚多肽 (synTac) 的方法。

附图说明

[0007] 图1A-图1D示意性描绘T细胞调节性多聚多肽的各种实施方案。在这些实施方案中,在存在于单独多肽中的MHC (例如HLA) 多肽之间形成二硫键。

[0008] 图2A-图2Q提供野生型人IL-2的氨基酸序列 (图2A); 以及变体IL-2多肽的氨基酸序列 (图2B-图2Q)。

[0009] 图3A-图3C提供IL-2受体 α 链 (图3A)、 β 链 (图3B) 和 γ 链 (图3C) 的氨基酸序列。

[0010] 图4A-图4C提供免疫球蛋白Fc多肽的氨基酸序列。

[0011] 图5A-图5C提供I类人白细胞抗原 (HLA) 重链多肽的氨基酸序列。信号序列加下划线。

[0012] 图6提供来自智人 (*Homo sapiens*) (NP_004039.1; SEQ ID NO:95)、黑猩猩 (*Pan troglodytes*) (NP_001009066.1; SEQ ID NO:195)、恒河猴 (*Macaca mulatta*) (NP_001040602.1; SEQ ID NO:96)、欧洲牛 (*Bos taurus*) (NP_776318.1; SEQ ID NO:97) 和小家鼠 (*Mus musculus*) (NP_033865.2; SEQ ID NO:98) 的 β -2微球蛋白 (β 2M) 前体 (即包括前导序列) 的多重氨基酸序列比对。氨基酸1-20是信号肽。

[0013] 图7A-图7B描绘在短暂转染之后本公开的IL-2/synTac (“Cue-IL-2-a”和“Cue-IL-

2-b”)的产生。图7A描绘未纯化产量；图7B描绘纯化产物。

[0014] 图8A-图8B描绘本公开的IL-2/synTac的产生,其中IL-2多肽存在于轻链(具有I类MHC分子的轻链(例如 $\beta 2M$)的多肽链)上或重链(具有I类MHC分子的重链的多肽链)上。

[0015] 图9描绘IL-2/syn-Tac的表达水平,其中IL-2是野生型(wt),或包含F42A、D20K、Q126A、E15A、Y45A和H16A的各种组合。

[0016] 图10描绘本公开的IL-2/synTac的表达,其中IL-2以一个拷贝(1X)、两个拷贝(2X)或三个拷贝(3X)存在于synTac中。

[0017] 图11描绘由本公开的IL-2/synTac在体外对抗原特异性CD8⁺T细胞和非特异性CD8⁺T细胞的刺激,其中包含F42A和H16A取代的IL-2变体以两个拷贝存在于synTac中。

[0018] 图12描绘IL-2/synTac与特异性(淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒;LCMV)或非特异性(OT1;识别卵白蛋白)CD8⁺T细胞的结合。

[0019] 图13描绘抗原特异性(LCMV)或非特异性(BL6)CD8⁺T细胞中由IL-2/synTac介导的信号传导。

[0020] 图14A-图14F描绘在用本公开的IL-2/synTac在各种IL-2/synTac浓度下刺激CD8⁺抗原特异性(LCMV)或非特异性(BL6)细胞之后,磷酸信号转导子和转录活化子5(pSTAT5)阳性细胞百分比。

[0021] 图15描绘本公开的IL-2/synTac的体内活性。左侧图版描绘在施用磷酸盐缓冲盐水(PBS)、重组IL-2(rIL-2)或本公开的IL-2/synTac之后,抗原特异性CD8⁺T细胞的数目的倍数变化。右侧图版描绘在施用PBS、rIL-2或本公开的IL-2/synTac之后,抗原特异性和非抗原特异性应答。

[0022] 图16A-图16B描绘剂量逐步升高(图16A)和施用途径(图16B)影响。

[0023] 图17A-图17B描绘IL-2拷贝数针对肿瘤的体内功效的影响。

[0024] 图18描绘在以10mg/kg的量在腹膜内施用IL-2/synTac之后,本公开的IL-2/synTac的血清半衰期。

[0025] 图19描绘在以10mg/kg的量在腹膜内施用IL-2/synTac之后2小时,本公开的IL-2/synTac的稳定性。

[0026] 图20描绘在使IL-2/synTac在4℃或37℃下保持5天之后,关于本公开的IL-2/synTac的尺寸排阻色谱法数据。

[0027] 图21提供本公开的IL-2/synTac的重链的氨基酸序列,具有前导肽,其中IL-2/synTac重链包含具有N297A取代的IgG1 Fc。

[0028] 图22提供本公开的IL-2/synTac的重链的氨基酸序列,不具有前导肽,其中IL-2/synTac重链包含具有N297A取代的IgG1 Fc。

[0029] 图23A-图23B提供编码图21中描绘的IL-2/synTac重链的核苷酸序列(图23A);以及所述序列的图例(图23B)。

[0030] 图24提供IL-2/synTac的重链的氨基酸序列,具有前导肽,其中IL-2/synTac重链包含具有L234A和L235A取代的IgG1 Fc。

[0031] 图25提供IL-2/synTac的重链的氨基酸序列,不具有前导肽,其中IL-2/synTac重链包含具有L234A和L235A取代的IgG1 Fc。

[0032] 图26A-图26B提供编码图24中描绘的IL-2/synTac重链的核苷酸序列(图26A);以

及所述序列的图例(图26B)。

[0033] 图27提供IL-2/synTac的重链的氨基酸序列,具有前导肽,其中IL-2/synTac重链包含具有L234F、L235E和P331S取代的IgG1 Fc。

[0034] 图28提供IL-2/synTac的重链的氨基酸序列,不具有前导肽,其中IL-2/synTac重链包含具有L234F、L235E和P331S取代的IgG1 Fc。

[0035] 图29A-图29B提供编码图27中描绘的IL-2/synTac重链的核苷酸序列(图29A);以及所述序列的图例(图29B)。

[0036] 图30提供IL-2/synTac的轻链的氨基酸序列,具有前导肽,其中IL-2/synTac轻链包含人乳头状瘤病毒(HPV)E7表位。

[0037] 图31提供IL-2/synTac的轻链的氨基酸序列,不具有前导肽,其中IL-2/synTac轻链包含HPV E7表位。

[0038] 图32提供编码图30中描绘的IL-2/synTac轻链的核苷酸序列。

[0039] 图33A-图33D提供野生型人IgG1 Fc(图33A)、具有L234F、L235E和P331S取代的IgG1 Fc(图33B)、具有N297A取代的IgG1 Fc(图33C)、以及具有L234A和L235A取代的IgG1 Fc(图33D)的氨基酸序列。

[0040] 图34A-图34C提供 β 2-微球蛋白(R12C)多肽(图34A)、变体IL-2(H16A;F42A)多肽(图34B)以及I类MHC-H链A0201(Y84A;A236C)(图34C)的氨基酸序列。

[0041] 图35描绘IL-2/synTac和抗PD1抗体对使肿瘤体积降低的协同作用。

[0042] 图36A-图36IIII提供4-1BBL(图36A)和变体4-1BBL多肽的实例(图36B-图36IIII)的氨基酸序列。

[0043] 图37提供4-1BB的氨基酸序列。

[0044] 图38A-图38B描绘根据本公开的一实施方案的由与synTac多肽接触3天(图38A)或5天(图38B)的靶标细胞达成的干扰素- γ (IFN- γ)分泌。

[0045] 图39A-图39B描绘根据本公开的一实施方案的由与synTac多肽接触3天(图39A)或5天(图39B)的靶标细胞达成的白介素-2(IL-2)分泌。

[0046] 图40A-图40B描绘根据本公开的一实施方案的由与synTac多肽接触3天(图40A)或5天(图40B)的靶标细胞达成的白介素-6(IL-6)分泌。

[0047] 图41A-图41B描绘根据本公开的一实施方案的由与synTac多肽接触3天(图41A)或5天(图41B)的靶标细胞达成的肿瘤坏死因子- α (TNF α)分泌。

[0048] 图42A-图42B描绘根据本公开的一实施方案的由与synTac多肽接触3天(图42A)或5天(图42B)的靶标细胞达成的白介素-10(IL-10)分泌。

[0049] 图43A-图43B描绘根据本公开的一实施方案的由与synTac多肽接触3天(图43A)或5天(图43B)的靶标细胞达成的白介素-17A(IL-17A)分泌。

[0050] 图44A-图44B描绘根据本公开的一实施方案的由与synTac多肽接触3天(图44A)或5天(图44B)的靶标细胞达成的白介素-4(IL-4)分泌。

[0051] 图45描绘根据本公开的一实施方案的与synTac多肽接触的靶标细胞的增殖。

[0052] 图46描绘根据本公开的一实施方案的与synTac多肽接触的靶标细胞的活力。

[0053] 图47描绘在CHO细胞中产生的各种synTac多肽的表达水平。

[0054] 图48描绘本公开的synTac多肽对肿瘤体积的体内影响。

[0055] 图49描绘共同施用各种剂量的4-1BBL/synTac和抗PD1抗体对肿瘤质量和粒酶B⁺肿瘤浸润性淋巴细胞 (TIL) 百分比的影响。

[0056] 图50A-图50B提供PD-L1多肽的氨基酸序列。

[0057] 图51提供CD80多肽的氨基酸序列。

[0058] 图52提供ICOS-L多肽的氨基酸序列。

[0059] 图53提供OX40L多肽的氨基酸序列。

[0060] 图54提供PD-L2多肽的氨基酸序列。

[0061] 图55提供CD86 (B7-2) 多肽的氨基酸序列。

[0062] 图56提供Fas配体 (FAS-L) 多肽的氨基酸序列。

[0063] 定义

[0064] 在本文中可互换使用的术语“多核苷酸”和“核酸”是指任何长度的核苷酸 (核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸) 聚合形式。因此,这个术语包括但不限于单链DNA或RNA、双链DNA或RNA、或多链DNA或RNA、基因组DNA、cDNA、DNA-RNA杂合物、或包含嘌呤和嘧啶碱基或其他天然核苷酸碱基、经化学或生物化学修饰核苷酸碱基、非天然核苷酸碱基或衍生核苷酸碱基的聚合物。

[0065] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,并且是指任何长度的氨基酸 (其可包括编码氨基酸和非编码氨基酸、经化学或生物化学修饰或衍生氨基酸) 聚合形式,以及具有经修饰肽骨架的多肽。

[0066] 当比较两个序列时,多核苷酸或多肽与另一多核苷酸或多肽具有某一“序列同一性”百分比,这意指当比对时,那个百分比的碱基或氨基酸是相同的,并且在同一相对位置中。序列同一性可以许多不同方式确定。为确定序列同一性,序列可使用可在万维网上在包括ncbi.nlm.nih.gov/BLAST、ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/、ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/、mafft.cbrc.jp/alignment/software/的站点处获得的各种适宜方法和计算机程序 (例如BLAST、T-COFFEE、MUSCLE、MAFFT等) 来比对。参见例如Altschul等 (1990), J.Mol.Biol.215:403-10。

[0067] 术语“保守性氨基酸取代”是指具有类似侧链的氨基酸残基在蛋白质中的可互换性。举例来说,一组具有脂族侧链的氨基酸由甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸组成;一组具有脂族-羟基侧链的氨基酸由丝氨酸和苏氨酸组成;一组具有含酰胺侧链的氨基酸由天冬酰胺和谷氨酰胺组成;一组具有芳族侧链的氨基酸由苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸组成;一组具有碱性侧链的氨基酸由赖氨酸、精氨酸和组氨酸组成;一组具有酸性侧链的氨基酸由谷氨酸和天冬氨酸组成;并且一组具有含硫侧链的氨基酸由半胱氨酸和甲硫氨酸组成。示例性保守性氨基酸取代群组是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸-甘氨酸、以及天冬酰胺-谷氨酰胺。

[0068] 如本文所用的“结合” (例如关于T细胞调节性多聚多肽与T细胞上的多肽 (例如T细胞受体) 的结合) 是指之间的非共价相互作用。结合相互作用通常通过小于 10^{-6} M、小于 10^{-7} M、小于 10^{-8} M、小于 10^{-9} M、小于 10^{-10} M、小于 10^{-11} M、小于 10^{-12} M、小于 10^{-13} M、小于 10^{-14} M或小于 10^{-15} M的解离常数 (K_d) 来表征。“亲和力”是指结合强度,增加的结合亲和力与较低 K_d 相关联。

[0069] 如本文所用的术语“免疫学突触”或“免疫突触”通常是指适应性免疫应答的两个相互作用性免疫细胞之间的天然界面,例如抗原递呈细胞 (APC) 或靶标细胞与效应细胞例

如淋巴细胞、效应T细胞、天然杀伤细胞等之间的界面。APC与T细胞之间的免疫学突触通常由T细胞抗原受体和主要组织相容性复合物分子的相互作用创立,例如如Bromley等, *Annu Rev Immunol.* 2001;19:375-96中所述;所述文献的公开内容以引用的方式整体并入本文。

[0070] “T细胞”包括所有类型的表达CD3的免疫细胞,包括T辅助细胞(CD4⁺细胞)、细胞毒性T细胞(CD8⁺细胞)、T调控性细胞(Treg)和NK-T细胞。

[0071] “共刺激性多肽”(在本文中也称为“免疫调节性多肽”),如所述术语在本文中所使用,包括抗原递呈细胞(APC)(例如树突细胞、B细胞等)上的多肽,所述多肽特异性结合T细胞上的同源共刺激性多肽(在本文中也称为“同源共免疫调节性多肽”),由此提供除由例如TCR/CD3复合物与装载有肽的主要组织相容性复合物(MHC)多肽的结合提供的初级信号之外,也介导T细胞应答的信号,所述T细胞应答包括但不限于增殖、活化、分化等。共刺激性配体可包括但不限于CD7、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、Fas配体(FasL)、诱导性共刺激性配体(ICOS-L)、细胞间粘附分子(ICAM)、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素(lymphotoxin)β受体、3/TR6、ILT3、ILT4、HVEM、结合Toll配体受体的激动剂或抗体和与B7-H3特异性结合的配体。共刺激性配体也尤其涵盖与存在于T细胞上的共刺激性分子特异性结合的抗体,所述共刺激性分子诸如但不限于CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、LIGHT、NKG2C、B7-H3和特异性结合CD83的配体。

[0072] T细胞调节性多聚多肽的“调节性结构域”(“MOD”)包含共刺激性多肽,例如IL-2多肽,诸如变体IL-2多肽。

[0073] 如本文所用的“异源性”意指核苷酸或多肽分别不见于天然核酸或蛋白质中。

[0074] 如本文所用的“重组”意指特定核酸(DNA或RNA)是由克隆、限制、聚合酶链式反应(PCR)和/或连接步骤的各种组合所产生的产物,所述各种组合导致构建体具有可与见于天然系统中的内源性核酸区分的结构性编码序列或非编码序列。编码多肽的DNA序列可从cDNA片段或从一系列合成寡核苷酸装配,以提供能够从细胞中或无细胞转录和翻译系统中含有的重组转录单元表达的合成核酸。

[0075] 术语“重组表达载体”或“DNA构建体”在本文中可互换用于指代包含载体和一种插入物的DNA分子。重组表达载体通常出于使插入物表达和/或繁殖的目的,或出于构建其他重组核苷酸序列的目的而产生。插入物可或可不以可操作方式连接于启动子序列,并且可或可不以可操作方式连接于DNA调控序列。

[0076] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”包括任何同种型的抗体或免疫球蛋白、抗体的保留与抗原的特异性结合的片段,包括但不限于Fab、Fv、scFv和Fd片段,嵌合抗体、人源化抗体、单链抗体(scAb)、单结构域抗体(dAb)、单结构域重链抗体、单结构域轻链抗体、双特异性抗体、多特异性抗体、以及包含抗体的抗原结合(在本文中也称为抗原结合性)部分和非抗体蛋白质的融合蛋白。所述术语也涵盖Fab'、Fv、F(ab')₂和/或保留与抗原的特异性结合的其他抗体片段以及单克隆抗体。如本文所用,单克隆抗体是由一组相同细胞产生的抗体,所述细胞全都通过重复细胞复制来由单一细胞产生。也就是说,细胞的克隆仅产生单一抗体种类。尽管单克隆抗体可使用杂交瘤生产技术来产生,但也可使用为本领域技术人员所知的其他生产方法(例如由抗体噬菌体展示文库获得抗体)。抗体可为单价的或二价的。抗体可为Ig单体,其是由以下四个多肽链组成的“Y形”分子:由二硫键连接的两个重链和两个轻

链。

[0077] 如本文所用的术语“人源化抗体”是指包含不同来源的抗体的各部分的抗体,其中至少一个部分包含人来源的氨基酸序列。举例来说,人源化抗体可包含源于诸如小鼠的非人来源的具有必要特异性的免疫球蛋白的部分,以及源于人来源的免疫球蛋白序列的部分(例如嵌合免疫球蛋白),所述部分通过常规技术(例如合成)来化学连结在一起,或使用遗传工程改造技术来制备成连续多肽(例如可使编码嵌合抗体的蛋白质部分的DNA表达以产生连续多肽链)。人源化抗体的另一实例是含有一个或多个包含源于非人来源的抗体的CDR和源于人来源的轻链和/或重链的框架区的抗体链的抗体(例如具有或不具有框架变化的CDR移植抗体)。嵌合或CDR移植单链抗体也由术语人源化免疫球蛋白所涵盖。参见例如Cabilly等,美国专利号4,816,567;Cabilly等,欧洲专利号0,125,023B1;Boss等,美国专利号4,816,397;Boss等,欧洲专利号0,120,694B1;Neuberger, M.S.等,WO 86/01533;Neuberger, M.S.等,欧洲专利号0,194,276B1;Winter, 美国专利号5,225,539;Winter, 欧洲专利号0,239,400B1;Padlan, E.A.等,欧洲专利申请号0,519,596A1。关于单链抗体,也参见Ladner等,美国专利号4,946,778;Huston, 美国专利号5,476,786;以及Bird, R.E.等, Science, 242:423-426(1988)。

[0078] 举例来说,人源化抗体可使用合成和/或重组核酸以制备编码所需人源化链的基因(例如cDNA)来产生。举例来说,编码人源化可变区的核酸(例如DNA)序列可使用PCR诱变方法以改变编码人或人源化链的DNA序列诸如来自先前经人源化的可变区的DNA模板来构建(参见例如Kamman, M., 等, Nucl. Acids Res., 17:5404(1989); Sato, K., 等, Cancer Research, 53:851-856(1993); Daugherty, B.L.等, Nucleic Acids Res., 19(9):2471-2476(1991);以及Lewis, A.P.和J.S.Crowe, Gene, 101:297-302(1991))。使用这些或其他适合方法,也可易于产生变体。举例来说,可对所克隆可变区进行诱变,并且可选择编码具有所需特异性的变体的序列(例如从噬菌体文库进行选择;参见例如Krebber等, 美国专利号5,514,548;Hoogenboom等, WO 93/06213, 1993年4月1日公开)。

[0079] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,例如完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;微型双功能抗体;线性抗体(Zapata等, Protein Eng. 8(10):1057-1062(1995));结构域抗体(dAb;Holt等(2003) Trends Biotechnol. 21:484);单链抗体分子;和由抗体片段形成的多特异性抗体。木瓜蛋白酶(Papain)消化抗体会产生两个相同抗原结合片段,称为“Fab”片段,各自具有单一抗原结合位点;以及残余“Fc”片段,标号反映能够易于结晶。胃蛋白酶(Pepsin)处理会产生具有两个抗原结合位点,并且仍然能够交联抗原的F(ab')₂片段。

[0080] “Fv”是含有完全抗原识别和结合位点的最小抗体片段。这个区域由处于紧密非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体组成。就是在这个构型中,各可变结构域的三个CDR相互作用以在V_H-V_L二聚体的表面上界定抗原结合位点。总之,六个CDR对抗体赋予抗原结合特异性。然而,即使单一可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的CDR的半个Fv)也能够识别和结合抗原,但亲和力低于整个结合位点。

[0081] “Fab”片段也含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH₁)。Fab片段与Fab'片段因在重链CH₁结构域的羧基末端添加有少许残基而不同,所述残基包括一个或多个来自抗体铰链区的半胱氨酸。Fab'-SH是在本文中对其中恒定结构域的半胱氨酸残基携

带游离硫醇基团的Fab'的标号。F(ab')₂抗体片段最初以在它们之间具有铰链半胱氨酸的各自Fab'片段形式产生。抗体片段的其他化学偶联也是已知的。

[0082] 来自任何脊椎动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”都可基于它们的恒定结构域的氨基酸序列而被指定为称为 κ (kappa)和 λ (lambda)的两种明确不同类型中的一者。视免疫球蛋白的重链的恒定结构域的氨基酸序列而定,免疫球蛋白可被指定为不同类别。存在五种主要类别的免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些类别中的若干可进一步分成子类(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA和IgA2。子类可进一步分成各种类型,例如IgG2a和IgG2b。

[0083] “单链Fv”或“sFv”或“scFv”抗体片段包含抗体的V_H结构域和V_L结构域,其中这些结构域存在于单一多肽链中。在一些实施方案中,Fv多肽进一步包含在V_H结构域与V_L结构域之间的使得sFv能够形成为抗原结合所需的结构的多肽接头。对于sFv的综述,参见Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷, Rosenberg和Moore编, Springer-Verlag, New York, 第269-315页(1994)。

[0084] 术语“微型双功能抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,所述片段包含在同一多肽链(V_H-V_L)中重链可变结构域(V_H)连接于轻链可变结构域(V_L)。通过使用太短以致不允许在同一链上的两个结构域之间进行配对的接头,结构域被迫与另一链的互补结构域配对,并且产生两个抗原结合位点。微型双功能抗体更充分描述于例如EP 404,097; WO 93/11161;以及Hollinger等(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448中。

[0085] 如本文所用,术语“亲和力”是指两个试剂(例如抗体和抗原)的可逆结合的平衡常数,并且表示为解离常数(K_d)。相比于抗体对无关氨基酸序列的亲和力,亲和力可为至少1倍大、至少2倍大、至少3倍大、至少4倍大、至少5倍大、至少6倍大、至少7倍大、至少8倍大、至少9倍大、至少10倍大、至少20倍大、至少30倍大、至少40倍大、至少50倍大、至少60倍大、至少70倍大、至少80倍大、至少90倍大、至少100倍大或至少1,000倍大或更多倍大。抗体对靶标蛋白质的亲和力可例如约100纳体积摩尔浓度(nM)至约0.1nM,约100nM至约1皮体积摩尔浓度(pM),或约100nM至约1飞体积摩尔浓度(fM)或更大亲和力。如本文所用,术语“亲和力”是指两个或更多个试剂的复合物在稀释之后的解离抗性。术语“免疫反应性”和“优先结合”在本文中关于抗体和/或抗原结合片段可互换使用。

[0086] 术语“结合”是指两个分子之间的归因于例如共价、静电、疏水性和离子性和/或氢键相互作用的直接缔合,所述相互作用包括诸如盐桥和水桥的相互作用。“特异性结合”是指以至少约10⁻⁷M的亲和力或更大亲和力进行结合,例如5x10⁻⁷M、10⁻⁸M、5x10⁻⁸M的亲和力以及更大亲和力。“非特异性结合”是指以小于约10⁻⁷M的亲和力进行结合,例如以10⁻⁶M、10⁻⁵M、10⁻⁴M等的亲和力进行结合。

[0087] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”意指见于重链多肽与轻链多肽两者的可变区内的非连续抗原结合位点。CDR已由Kabat等, *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat等, U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991) (在本文中也称为Kabat 1991); Chothia等, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987) (在本文中也称为Chothia 1987);以及MacCallum等, *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996) 描述,其中当相对于彼此加以比较时,定义包括氨基酸残基的重叠或子组。然而,将任一定义应用来指代抗体或移植抗体或其变体的CDR意图在如本

文所定义和所用的所述术语的范围内。作为比较,在下表中阐述如由以上引用的参考文献中的各者定义的涵盖CDR的氨基酸残基。表2中所列的CDR根据Kabat 1991所确定。

[0088] 表:CDR定义

[0089]		Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
	V _H CDR-1	31-35	26-32	30-35
	V _H CDR-2	50-65	53-55	47-58
	V _H CDR-3	95-102	96-101	93-101
	V _L CDR-1	24-34	26-32	30-36
	V _L CDR-2	50-56	50-52	46-55
	V _L CDR-3	89-97	91-96	89-96

[0090] ¹残基编号遵循Kabat等(上文)的命名法

[0091] ²残基编号遵循Chothia等(上文)的命名法

[0092] ³残基编号遵循MacCallum等(上文)的命名法

[0093] 如本文所用,术语“CDR-L1”、“CDR-L2”和“CDR-L3”分别是指轻链可变区中的第一CDR、第二CDR和第三CDR。如本文所用,术语“CDR-H1”、“CDR-H2”和“CDR-H3”分别是指重链可变区中的第一CDR、第二CDR和第三CDR。如本文所用,术语“CDR-1”、“CDR-2”和“CDR-3”分别是指任一链的可变区的第一CDR、第二CDR和第三CDR。

[0094] 如本文所用,术语“框架”在关于抗体可变区使用时意指在抗体的可变区内处于CDR区外部的所有氨基酸残基。可变区框架通常是长度在约100-120个氨基酸之间的不连续氨基酸序列,但意图仅涉及在CDR外部的那些氨基酸。如本文所用,术语“框架区”意指框架的由CDR分隔的各结构域。

[0095] 术语“治疗(treatment/treating)”等在本文中用于一般性意指获得所需药理学和/或生理学作用。作用就完全或部分预防疾病或其症状而言可为防治性的,和/或就部分或完全治愈疾病和/或可归因于疾病的不利影响而言可为治疗性的。如本文所用的“治疗”涵盖对哺乳动物的疾病或症状的任何治疗,并且包括:(a)预防所述疾病或症状在可易于获得所述疾病或症状,但尚未被诊断为患有它的受试者中出现;(b)抑制所述疾病或症状,即遏止它的发展;或(c)减轻所述疾病,即导致所述疾病的消退。治疗剂可在疾病或损伤发作之前、期间或之后施用。受到特别关注的是治疗进行性疾病,其中治疗使患者的不合需要临床症状稳定或减轻。合乎需要的是,所述治疗在受影响组织中的功能完全丧失之前进行。合乎需要的是,主题疗法将在疾病的有症状阶段期间施用,并且在一些情况下,在疾病的有症状阶段之后施用。

[0096] 术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”在本文中可互换使用,并且是指需要诊断、治疗或疗法的任何哺乳动物受试者。哺乳动物包括例如人、非人灵长类动物、啮齿动物(例如大鼠;小鼠)、兔形动物(例如兔)、有蹄动物(例如母牛、绵羊、猪、马、山羊等)等。

[0097] 在进一步描述本发明之前,应了解本发明不限于所述特定实施方案,因此,当然可变化。也应了解本文所用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,并且不意图具有限制性,因为本发明的范围将仅受限于随附权利要求。

[0098] 当提供数值范围时,应了解除非上下文另外明确规定,否则在那个范围的上限与下限之间的达到下限单位的十分之一的各间插值以及在那个陈述范围内的任何其他陈述

值或间插值都涵盖在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括在较小范围中,并且也涵盖在本发明内,服从于陈述范围内的任何明确排除的限值。当陈述范围包括一个或两个限值时,排除那些所包括限值中的任一者或两者的范围也包括在本发明中。

[0099] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语都具有与由本发明所属领域中的普通技术人员通常理解相同的含义。尽管与本文所述的那些方法和材料类似或等效的任何方法和材料也都可用于实施或测试本发明,但现时描述优选方法和材料。本文提及的所有出版物都以引用的方式并入本文以公开和描述与引用所述出版物有关的方法和/或材料。

[0100] 必须注意的是,除非上下文另外明确规定,否则如本文以及随附权利要求中所用,单数形式“一个(种)(a/an)”和“这个(种)(the)”包括复数个(种)指示物。因此,举例来说,提及“一个(种)变体IL-2多肽”包括复数个(种)所述多肽,并且提及“这个(种)I类HLA重链多肽”包括提及一个(种)或多个(种)I类HLA重链多肽及其为本领域技术人员所知的等效物,诸如此类。应进一步注意权利要求可被起草来排除任何任选要素。因此,这个陈述意图充当与叙述权利要求要素关联使用诸如“只有”、“仅有”等的排他性术语或使用“否定性”限制的前提基础。

[0101] 应了解,为明晰起见在单独实施方案的情形下描述的本发明的某些特征也可于单一实施方案中组合提供。相反,为简洁起见在单一实施方案的情形下描述的本发明的各种特征也可单独或以任何适合子组合提供。与本发明有关的实施方案的所有组合都由本发明明确包括,并且在本文中公开,就好像各个和每个组合都被个别地和明确地公开一样。此外,各种实施方案及其要素的所有子组合也都由本发明明确包括,并且在本文中公开,就好像各个和每个所述子组合都被个别地和明确地在本文中公开一样。

[0102] 本文讨论的出版物仅由于它们的公开内容在本申请的提交日期之前而加以提供。本文中没有内容应解释为承认本发明无权借助先前发明而先于所述出版物。此外,提供的出版日期可不同于可能需要独立确认的实际出版日期。

具体实施方式

[0103] 本公开提供包括向有需要的个体施用T细胞调节性多聚多肽(“synTac”多聚多肽)和至少一种额外治疗剂的治疗方法。在一些情况下,至少一种额外治疗剂是免疫检查点抑制剂。在一些情况下,免疫检查点抑制剂是对免疫检查点具有特异性的抗体。本公开提供包括向个体施用多聚多肽(synTac)和免疫检查点抑制剂的方法。本公开提供包括向正经受用免疫检查点抑制剂进行治疗的个体施用多聚多肽(synTac)的方法。

[0104] “T细胞调节性多聚多肽”在本文中也称为“synTac多肽”或“synTac多聚多肽”,或简称为“synTac”。synTac多肽包含调节性结构域。在一些情况下,调节性结构域包含野生型氨基酸序列,例如见于天然存在的调节性多肽中的氨基酸序列。在一些情况下,调节性结构域是变体调节性结构域,其中相较于野生型调节性结构域对免疫调节性多肽的亲合力,所述变体调节性结构域展现对免疫调节性多肽的结合亲合力降低。synTac多肽可调节靶标T细胞的活性。包含变体调节性结构域的synTac多肽提供增强的靶标细胞特异性。

[0105] 在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用synTac和免疫检查点抑制剂。在一些情况下,相较于synTac在单独施用时的作用(在单药疗法的情况下)或单独

免疫检查点抑制剂的作用(在单药疗法的情况下), synTac和免疫检查点抑制剂提供协同作用。

[0106] 在一些情况下, 相比于以单药疗法施用的synTac或以单药疗法施用的免疫检查点抑制剂的累加作用, synTac和免疫检查点抑制剂的组合更有效。举例来说, 在一些情况下, synTac和免疫检查点抑制剂的协同作用容许对有需要的个体使用较低剂量的所述synTac或所述免疫检查点抑制剂, 和/或以较小频率施用所述synTac或所述免疫检查点抑制剂。能够利用较低剂量的治疗剂(synTac或免疫检查点抑制剂) 和/或以较小频率施用所述药剂可使可与在单药疗法的情况下施用治疗剂相关的毒性或其他不利副作用降低, 而不使治疗剂在治疗中的功效降低。此外, 相较于用synTac单药疗法或免疫检查点抑制剂单药疗法获得的临床益处, synTac和免疫检查点抑制剂的协同作用可导致临床益处增强。临床益处的实例包括例如个体中的肿瘤质量降低; 个体中的癌细胞的数目降低; 个体的存活时间增加; 缓解时间增加; 等。最后, synTac和免疫检查点抑制剂的协同作用可使与synTac单药疗法或免疫检查点抑制剂单药疗法相关的不利或非所要副作用降低。

[0107] 免疫检查点抑制剂

[0108] 示例性免疫检查点抑制剂包括靶向免疫检查点多肽的抑制剂, 所述多肽诸如CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精氨酸酶、CD137(也称为4-1BB)、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1和PD-L2。在一些情况下, 免疫检查点多肽是选自CD27、CD28、CD40、ICOS、OX40、GITR、CD122和CD137的刺激性检查点分子。在一些情况下, 免疫检查点多肽是选自A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、IDO、KIR、LAG3、PD-1、TIM3、CD96、TIGIT和VISTA的抑制性检查点分子。

[0109] 在一些情况下, 免疫检查点抑制剂是对免疫检查点具有特异性的抗体。在一些情况下, 抗免疫检查点抗体是单克隆抗体。在一些情况下, 抗免疫检查点抗体是人源化的或去免疫化的, 以使抗体不在人中实质上引发免疫应答。在一些情况下, 抗免疫检查点抗体是人源化单克隆抗体。在一些情况下, 抗免疫检查点抗体是去免疫化单克隆抗体。在一些情况下, 抗免疫检查点抗体是完全人单克隆抗体。在一些情况下, 抗免疫检查点抗体抑制免疫检查点多肽与免疫检查点多肽的配体的结合。在一些情况下, 抗免疫检查点抗体抑制免疫检查点多肽与免疫检查点多肽的受体的结合。

[0110] 对免疫检查点具有特异性以及充当免疫检查点抑制剂的抗体例如单克隆抗体在本领域中是已知的。参见例如Wurz等(2016) Ther. Adv. Med. Oncol. 8:4; 以及Naidoo等(2015) Ann. Oncol. 26:2375。

[0111] 适合抗免疫检查点抗体包括但不限于尼鲁单抗(nivolumab) (Bristol-Myers Squibb)、帕博利珠单抗(pembrolizumab) (Merck)、匹迪珠单抗(pidilizumab) (Curetech)、AMP-224 (GlaxoSmithKline/Amplimmune)、MPDL3280A (Roche)、MDX-1105 (Medarex, Inc./Bristol Myer Squibb)、MEDI-4736 (Medimmune/AstraZeneca)、阿瑞鲁单抗(arelumab) (Merck Serono)、易普利单抗(ipilimumab) (叶沃(YERVOY), (Bristol-Myers Squibb))、曲美木单抗(tremelimumab) (Pfizer)、匹迪珠单抗(CureTech, Ltd.)、IMP321 (Immutep S.A.)、MGA271 (Macrogenics)、BMS-986016 (Bristol-Meyers Squibb)、立鲁单抗(lirilumab) (Bristol-Myers Squibb)、乌瑞鲁单抗(urelumab) (Bristol-Meyers

Squibb)、PF-05082566(Pfizer)、IPH2101(Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb)、MEDI-6469(MedImmune/AZ)、CP-870,893(Genentech)、莫木利珠单抗(Mogamulizumab)(Kyowa Hakko Kirin)、瓦利鲁单抗(Varlilumab)(CelIDex Therapeutics)、阿维鲁单抗(Avelumab)(EMD Serono)、加利昔单抗(Galiximab)(Biogen Idec)、AMP-514(Amplimmune/AZ)、AUNP 12(Aurigene和Pierre Fabre)、吡啶莫德(Indoximod)(NewLink Genetics)、NLG-919(NewLink Genetics)、INCB024360(Incyte);KN035;及其组合。

[0112] 适合抗LAG3抗体包括例如BMS-986016和LAG525。适合抗GITR抗体包括例如TRX518、MK-4166、INCAGN01876和MK-1248。适合抗OX40抗体包括例如MEDI0562、INCAGN01949、GSK2831781、GSK-3174998、MOXR-0916、PF-04518600和LAG525。适合抗VISTA抗体提供于例如WO 2015/097536中。

[0113] 抗免疫检查点抗体的适合剂量是每天约1mg/kg至约2400mg/kg,诸如每天约1mg/kg至约1200mg/kg,包括每天约50mg/kg至约1200mg/kg。所述药剂的其他代表性剂量包括每天约5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg、100mg/kg、125mg/kg、150mg/kg、175mg/kg、200mg/kg、250mg/kg、300mg/kg、400mg/kg、500mg/kg、600mg/kg、700mg/kg、800mg/kg、900mg/kg、1000mg/kg、1100mg/kg、1200mg/kg、1300mg/kg、1400mg/kg、1500mg/kg、1600mg/kg、1700mg/kg、1800mg/kg、1900mg/kg、2000mg/kg、2100mg/kg、2200mg/kg和2300mg/kg。抗体的有效剂量可以两次、三次、四次、五次、六次或更多次子剂量施用,所述子剂量全天在适当间隔下分开施用。

[0114] 抗PD-1抗体

[0115] 在一些情况下,免疫检查点抑制剂是抗PD-1抗体。

[0116] 适合抗PD-1抗体包括例如尼鲁单抗、帕博利珠单抗(也称为MK-3475)、匹迪珠单抗、SHR-1210、PDR001和AMP-224。在一些情况下,抗PD-1单克隆抗体是尼鲁单抗、帕博利珠单抗或PDR001。适合抗PD1抗体描述于美国专利公布号2017/0044259中。对于匹迪珠单抗,参见例如Rosenblatt等(2011)J.Immunother.34:409-18。

[0117] 在一些情况下,抗PD1抗体是帕博利珠单抗。帕博利珠单抗的重链的氨基酸序列是:

[0118] QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRV
TLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWQGGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES
KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
(SEQ ID NO:51)。重链可变(VH)区的氨基酸序列加下划线。

[0119] 帕博利珠单抗的轻链的氨基酸序列是:

[0120] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSG
SGSGTDFLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:52)。轻链可变(VL)区的氨基酸序列加下划线。

[0121] 在一些情况下,抗PD-1抗体包含帕博利珠单抗的VH区和VL区。在一些情况下,抗PD-1抗体包含帕博利珠单抗的重链CDR和轻链CDR。

[0122] 在一些情况下,抗PD-1抗体是尼鲁单抗(也称为MDX-1106或BMS-936558;参见例如Topalian等(2012)N.Eng.J.Med.366:2443-2454;以及美国专利号8,008,449)。尼鲁单抗的重链的氨基酸序列是:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAP
GKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNS
[0123] LRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR
STSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTK
[0124] NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK
(SEQ ID NO:53)。

[0125] 尼鲁单抗的轻链的氨基酸序列是:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA
PRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQS
[0126] SNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLN
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:54)。

[0127] 在一些情况下,抗PD-1抗体包含尼鲁单抗的重链CDR和轻链CDR。

[0128] 抗CTLA4抗体

[0129] 在一些情况下,抗CTLA-4抗体是易普利单抗或曲美木单抗。对于曲美木单抗,参见例如Ribas等(2013)J.Clin.Oncol.31:616-22。

[0130] 在一些情况下,抗CTLA-4抗体是易普利单抗。易普利单抗的重链的氨基酸序列是:

[0131] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISYDGN NKYYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO:55)。VH区的氨基酸序列加下划线。

[0132] 易普利单抗的轻链的氨基酸序列是：

[0133] EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGS
GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
ID NO:56)。VL区的氨基酸序列加下划线。

[0134] 在一些情况下，抗CTLA4抗体包含易普利单抗的VH区和VL区。在一些情况下，抗CTLA4抗体包含易普利单抗的重链CDR和轻链CDR。

[0135] 抗PD-L1抗体

[0136] 在一些情况下，免疫检查点抑制剂是抗PD-L1单克隆抗体。在一些情况下，抗PD-L1单克隆抗体是BMS-935559、MEDI4736、MPDL3280A (也称为RG7446)、KN035或MSB0010718C。在一些实施方案中，抗PD-L1单克隆抗体是MPDL3280A (阿特珠单抗 (atezolizumab)) 或MEDI4736 (度伐鲁单抗 (durvalumab))。对于度伐鲁单抗，参见例如WO 2011/066389。对于阿特珠单抗，参见例如美国专利号8,217,149。

[0137] 在一些情况下，抗PD-L1抗体是阿特珠单抗。阿特珠单抗的重链的氨基酸序列是：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAP

[0138] GKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS
LRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGGTGLVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV
[0139] LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (SEQ ID NO:57)。

[0140] 阿特珠单抗的轻链的氨基酸序列是：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGK
APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ

[0141] YLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:58)。

[0142] 在一些情况下，抗PD-L1抗体包含阿特珠单抗的重链CDR和轻链CDR。

[0143] 在一些情况下，抗PDL1抗体是KN035，其是一种融合于人IgG1Fc多肽的完全人源化抗PD-L1单结构域抗体。Zhang等 (2017) Cell Discov.3:17004；以及WO 2017/020801。KN035

的单结构域抗体部分可包含氨基酸序列:QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGKMSSRRRCMAWFRQAPGKERERVAKLLTTSGSTYLADSVKGRFTISQNNAKSTVYLQMNSLKPEDTAMYYCAADSFEDPTCTLVTSSGAFQYWGQGTQVTVS (SEQ ID NO:216),其中加下划线氨基酸是CDR1、CDR2和CDR3。

[0144] T细胞调节性多聚多肽 (SYNTACS)

[0145] 以下描述适用于本公开的方法中的多聚 (例如异二聚、异三聚) 多肽。多聚多肽是T细胞调节性多肽,并且在本文中也称为“T细胞调节性多聚多肽”或“synTac”(代表“用于T细胞活化的免疫学突触(immunological synapse for T cell activation)”)。

[0146] T细胞调节性多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;ii) 第一主要组织相容性复合物(MHC多肽);以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 任选地,免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig骨架,其中所述多聚多肽包含一个或多个免疫调节性(“MOD”)结构域,其中所述一个或多个免疫调节性结构域:A)在所述第一多肽的C末端;B)在所述第二多肽的N末端;C)在所述第二多肽的C末端;或D)在所述第一多肽的C末端以及在所述第二多肽的N末端。在一些情况下,T细胞多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;ii) 第一MHC多肽;和iii) 免疫调节性结构域;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况下,T细胞多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 免疫调节性结构域;iii) 第二MHC多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况下,T细胞多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 免疫调节性(“MOD”)结构域。在一些情况下,T细胞多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 免疫调节性结构域。在一些情况下,T细胞多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 免疫调节性结构域;和ii) 第二MHC多肽。在一些情况下,T细胞多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;ii) 第一MHC多肽;和iii) 免疫调节性结构域;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 第二MHC多肽。

[0147] 在一些情况下,多聚多肽包含非Ig骨架。举例来说,在一些情况下,非Ig骨架是XTEN多肽、转铁蛋白(transferrin)多肽、Fc受体多肽、弹性蛋白(elastin)样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。

[0148] 在一些情况下,第一MHC多肽是 β 2-微球蛋白(β 2M)多肽;并且第二MHC多肽是I类MHC重链多肽。适合 β 2-M多肽包含与图6中描绘的 β 2M多肽的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,I类MHC重链多肽是HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与图5A-图5C中的一者中阐述的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,第一MHC多肽是II类MHC α 链多肽;并且第二MHC多肽是II类MHC β 链多肽。

[0149] 存在于多聚多肽中的表位可为T细胞表位。

[0150] 在一些情况下,多聚多肽包含Ig Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽是IgG1 Fc多

肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽包含与图4A-图4C中描绘的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0151] 多聚多肽的第一多肽和第二多肽可以非共价方式缔合。多聚多肽的第一多肽和第二多肽可共价连接。多聚多肽的第一多肽和第二多肽可共价连接,其中共价连接通过二硫键来达成。在一些情况下,第一MHC多肽或表位与第一MHC多肽之间的接头包含氨基酸取代以提供第一Cys残基,并且第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,并且其中二硫键在所述第一Cys残基与所述第二Cys残基之间。

[0152] 多聚多肽可在以下中的一者或多者之间包括接头:表位与第一MHC多肽;两个拷贝的免疫调节性(“MOD”)多肽;免疫调节性多肽与第二MHC多肽;以及第二MHC多肽与Ig Fc多肽。

[0153] 适于包括在T细胞多聚多肽中的免疫调节性多肽包括但不限于4-1BBL多肽、B7-1多肽;B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、IL-2多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。

[0154] 多聚多肽可包括2个或更多个免疫调节性多肽。多聚多肽可包括2个免疫调节性多肽。在一些情况下,2个免疫调节性多肽是串联的。多聚多肽可包括3个免疫调节性多肽。在一些情况下,3个免疫调节性多肽是串联的。

[0155] 多聚多肽可包含第三多肽,其中所述第三多肽包含含有与第一多肽或第二多肽的免疫调节性多肽具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的免疫调节性多肽。在一些情况下,第三多肽共价连接于第一多肽。

[0156] 适合多聚多肽的实例描述于WO 2017/151940;WO 2017/201210;和PCT/US2017/067663中。WO 2017/151940、WO 2017/201210和PCT/US2017/067663的公开内容以引用的方式并入本文。

[0157] MHC多肽

[0158] 如上所指示,本公开的多聚多肽包括MHC多肽。出于本公开的目的,术语“主要组织相容性复合物(MHC)多肽”意图包括各个物种的MHC多肽,包括人MHC(也被称为人白细胞抗原(HLA))多肽、啮齿动物(例如小鼠、大鼠等)MHC多肽和其他哺乳动物物种(例如兔形动物、非人灵长类动物、犬科动物、猫科动物、有蹄动物(例如马科动物、牛科动物、羊科动物、山羊科动物等))的MHC多肽等。术语“MHC多肽”意图包括I类MHC多肽(例如 β -2微球蛋白和I类MHC重链)和II类MHC多肽(例如II类MHC α 多肽和II类MHC β 多肽)。

[0159] 如上所指示,在本公开的多聚多肽的一些实施方案中,第一和第二MHC多肽是I类MHC多肽;例如在一些情况下,第一MHC多肽是I类MHC β 2-微球蛋白(β 2M)多肽,并且第二MHC多肽是I类MHC重链(H链)。在其他情况下,第一和第二MHC多肽是II类MHC多肽;例如在一些情况下,第一MHC多肽是II类MHC α 链多肽,并且第二MHC多肽是II类MHC β 链多肽。在其他情况下,第一多肽是II类MHC β 链多肽,并且第二MHC多肽是II类MHC α 链多肽。

[0160] 在一些情况下,本公开的多聚多肽的MHC多肽是人MHC多肽,其中人MHC多肽也被称为“人白细胞抗原”(“HLA”)多肽。在一些情况下,本公开的多聚多肽的MHC多肽是I类HLA多肽,例如 β 2-微球蛋白多肽或I类HLA重链多肽。I类HLA重链多肽包括HLA-A重链多肽、HLA-B重链多肽、HLA-C重链多肽、HLA-E重链多肽、HLA-F重链多肽和HLA-G重链多肽。在一些情况

下,本公开的多聚多肽的MHC多肽是II类HLA多肽,例如II类HLA α 链或II类HLA β 链。II类MHC多肽包括II类MCH DP α 和 β 多肽、DM α 和 β 多肽、DOA α 和 β 多肽、DOB α 和 β 多肽、DQ α 和 β 多肽、以及DR α 和 β 多肽。

[0161] 在一些情况下,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与图5A-图5C中的一者中描绘的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0162] HLA-A

[0163] 作为一实例,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-A重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR KVKAHSQTHRVDLGT LRGYNQSEAGSHTVQRM YGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLR RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:59)。

[0164] HLA-A (Y84A;A236C)

[0165] 在一些情况下,I类MHC重链多肽包含Y84A和A236C取代。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-A重链(Y84A;A236C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR KVKAHSQTHRVDLGT LRGA YNQSEAGSHTVQRM YGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLR RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGT FQKWA AVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:5

0),其中氨基酸84是Ala,并且氨基酸236是Cys。在一些情况下,Cys-236与包含R12C取代的变体 β 2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

[0166] HLA-A (Y84C;A139C)

[0167] 在一些情况下,I类MHC重链多肽包含Y84C和A139C取代。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-A重链(Y84C;A139C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQF

VRFDSAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKYKAHSQTHRV
DLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAY
DGKDYLALKE DLRSWTAADMCAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYL
EGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRC
WALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWAAV

VVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:196), 其中氨基酸84是Cys, 并且氨基酸139是Cys。在一些情况下, Cys-84与Cys-139形成链内二硫键。

[0168] HLA-A A11 (HLA-A11)

[0169] 作为一个非限制性实例, 多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-A A11 (也被称为“HLA-A11”)重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列: GSHSMRYFYT SVSRPGR GEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRN VKAQSQTDRVDLGTLRGYYNQSE DGSHTIQIMYGCDVGP DGRFLRGYRQDAYDGKDYLALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQQRAYLEGT CVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:197)。这种I类MHC重链可主要处于亚洲人群中, 包括亚裔个体的群体。

[0170] HLA-A A11 (Y84A;A236C)

[0171] 作为一个非限制性实例, 在一些情况下, I类MHC重链多肽是包含Y84A和A236C取代的HLA-A A11等位基因。举例来说, 在一些情况下, I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-A A11重链 (Y84A;A236C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFD
SDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRN VKAQSQTDRVDLGTL
RGAYNQSE DGSHTIQIMYGCDVGP DGRFLRGYRQDAYDGKDYLALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQQRAYLEGT CVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGT FQKWAAVVVPSGEEQR
YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:198), 其中氨基酸84是Ala, 并且氨基酸236是Cys。在一些情况下, Cys-236与包含R12C取代的变体β2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

[0172] HLA-B

[0173] 作为另一实例, 多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-B重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列: GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVG YVDDTQFVRFDSAASPREEPRA PWIEQEGPEYWD RNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGYYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGP DGRLLRGHDQYAYDGKDYLALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQQRAYLEGT CVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGT FQKWAAVVVPSGEEQR
YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:199), 其中氨基酸84是Ala, 并且氨基酸236是Cys。在一些情况下, Cys-236与包含R12C取代的变体β2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

LNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:199)。

[0174] HLA-B (Y84A;A236C)

[0175] 作为一个非限制性实例,在一些情况下,I类MHC重链多肽是包含Y84A和A236C取代的HLA-B多肽。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-B重链(Y84A;A236C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列: GSH

SMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPR
APWIEQEGPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGA^YYNQSEAGS
HTLQSMYGCDVGPDGRLLRGHDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTA
ADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRYLENGKDK
LERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPC^GGDRTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLP

KPLTLRWEP (SEQ ID NO:200),其中氨基酸84是Ala,并且氨基酸236是Cys。在一些情况下,Cys-236与包含R12C取代的变体 β 2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

[0176] HLA-B (Y84C;A139C)

[0177] 在一些情况下,I类MHC重链多肽包含Y84C和A139C取代。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-B重链(Y84C;A139C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列: GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQF

VRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESL
RNLRGC^YYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDGRLLRGHDQYAYDGK
DYIALNEDLRSWTAADTCAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEV
EWLRRYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFY
PAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWAAVVVPSGE

EQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:201),其中氨基酸84是Cys,并且氨基酸139是Cys。在一些情况下,Cys-84与Cys-139形成链内二硫键。

[0178] HLA-C

[0179] 作为另一实例,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-C重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列: CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWIEQEGPEYWDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDGRLLRGYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQRLAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWAAVVVPSGEEQRYTCHMQHEGLQEPLTLRWE

(SEQ ID NO:202)。

[0180] HLA-C (Y84A;A236C)

[0181] 作为一个非限制性实例,在一些情况下,I类MHC重链多肽是包含Y84A和A236C取代的HLA-C多肽。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-C重链(Y84A;A236C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRG
EPRAPWVEQEGPEYWDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGAAYNQS
EDGSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYDQSAYDGKDYIALNEDLRS
WTAADTAAQITQRKLEAARAAEQRLRAYLEGTCVEWLRRYLENG
KETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHMQH

EGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:203), 其中氨基酸84是Ala,并且氨基酸236是Cys。

在一些情况下,Cys-236与包含R12C取代的变体 β 2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

[0182] HLA-C (Y84C;A139C)

[0183] 在一些情况下,I类MHC重链多肽包含Y84C和A139C取代。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-C重链(Y84C;A139C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列: CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQF

VRFDSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQNYKRQAQADRV
SLRNLRGCYNQSEEDGSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYDQSAYD
GKDYIALNEDLRSWTAADTCAQITQRKLEAARAAEQRLRAYLEGT
CVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALG
FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPS

GQEQRYTCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:204), 其中氨基酸84是Cys,并且氨基酸139是Cys。在一些情况下,Cys-84与Cys-139形成链内二硫键。

[0184] 在一些情况下,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与图3A-图3C中的一者中描绘的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0185] 作为一实例,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与图3A中描绘的人HLA-A重链多肽的氨基酸序列的氨基酸25-365具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0186] 作为另一实例,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与图3B中描绘的人HLA-B重链多肽的氨基酸序列的氨基酸25-362具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0187] 作为另一实例,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与图3C中描绘的人HLA-C重链多肽的氨基酸序列的氨基酸25-362具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0188] 作为另一实例,多聚多肽的I类MHC重链多肽可包含与以下氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

GPHSLRYFVTA VSRPGLGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDADN
PRFEPRAPWMEQEGPEYWEEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRYY
NQSKGGSHTFQRMFGCDVGSDWRLLRGYQQFAYDGRDYIALNE
DLKTWTAADTAALITRRKWEQAGDAEYYRAYLEGECEVWLRRY
LELGNETLLRTDSPKAHVITYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLT
WQLNGEDLTQDMELVETRPAGDGTQKWA AVVVPLGKEQNYT
CHVHHKGLPEPLTLRW (SEQ ID NO:60)。

[0189] 多聚多肽的 β 2-微球蛋白(β 2M)多肽可为人 β 2M多肽、非人灵长类动物 β 2M多肽、鼠 β 2M多肽等。在一些情况下, β 2M多肽包含与图6中描绘的 β 2M氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下, β 2M多肽包含与图6中描绘的 β 2M氨基酸序列的氨基酸21至119具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0190] 在一些情况下,相对于参照MHC多肽(其中参照MHC多肽可为野生型MHC多肽),MHC多肽包含单一氨基酸取代,其中所述单一氨基酸取代用半胱氨酸(Cys)残基取代氨基酸。当存在于本公开的多聚多肽的第一多肽的MHC多肽中时,所述半胱氨酸残基可与存在于本公开的多聚多肽的第二多肽链中的半胱氨酸残基形成二硫键。

[0191] 在一些情况下,多聚多肽的第一多肽中的第一MHC多肽和/或多聚多肽的第二多肽中的第二MHC多肽包括氨基酸取代以用半胱氨酸取代氨基酸,其中所述第一MHC多肽中的取代半胱氨酸与所述第二MHC多肽中的半胱氨酸形成二硫键,其中所述第一MHC多肽中的半胱氨酸与所述第二MHC多肽中的取代半胱氨酸形成二硫键,或其中所述第一MHC多肽中的取代半胱氨酸与所述第二MHC多肽中的取代半胱氨酸形成二硫键。

[0192] 举例来说,在一些情况下,HLA β 2-微球蛋白和I类HLA重链中的以下各对残基中的一对被半胱氨酸取代(其中残基编号是成熟多肽的那些残基编号):1) β 2M残基12、I类HLA重链残基236;2) β 2M残基12、I类HLA重链残基237;3) β 2M残基8、I类HLA重链残基234;4) β 2M残基10、I类HLA重链残基235;5) β 2M残基24、I类HLA重链残基236;6) β 2M残基28、I类HLA重链残基232;7) β 2M残基98、I类HLA重链残基192;8) β 2M残基99、I类HLA重链残基234;9) β 2M残基3、I类HLA重链残基120;10) β 2M残基31、I类HLA重链残基96;11) β 2M残基53、I类HLA重链残基35;12) β 2M残基60、I类HLA重链残基96;13) β 2M残基60、I类HLA重链残基122;14) β 2M残基63、I类HLA重链残基27;15) β 2M残基Arg3、I类HLA重链残基Gly120;16) β 2M残基His31、I类HLA重链残基Gln96;17) β 2M残基Asp53、I类HLA重链残基Arg35;18) β 2M残基Trp60、I类HLA重链残

基Gln96;19) β 2M残基Trp60、I类HLA重链残基Asp122;20) β 2M残基Tyr63、I类HLA重链残基Tyr27;21) β 2M残基Lys6、I类HLA重链残基Glu232;22) β 2M残基Gln8、I类HLA重链残基Arg234;23) β 2M残基Tyr10、I类HLA重链残基Pro235;24) β 2M残基Ser11、I类HLA重链残基Gln242;25) β 2M残基Asn24、I类HLA重链残基Ala236;26) β 2M残基Ser28、I类HLA重链残基Glu232;27) β 2M残基Asp98、I类HLA重链残基His192;和28) β 2M残基Met99、I类HLA重链残基Arg234。I类MHC/HLA重链的氨基酸编号参照不具有信号肽的成熟I类MHC/HLA重链。举例来说,在图5A中描绘的包括信号肽的氨基酸序列中,Gly120是Gly144;Gln96是Gln120;等。在一些情况下, β 2M多肽包含R12C取代,并且I类HLA重链包含A236C取代;在所述情况下,在 β 2M多肽的Cys-12与I类HLA重链的Cys-236之间形成二硫键。举例来说,在一些情况下,成熟HLA-A氨基酸序列的残基236(即图5A中描绘的氨基酸序列的残基260)被Cys取代。在一些情况下,成熟HLA-B氨基酸序列的残基236(即图5B中描绘的氨基酸序列的残基260)被Cys取代。在一些情况下,成熟HLA-C氨基酸序列的残基236(即图5C中描绘的氨基酸序列的残基260)被Cys取代。在一些情况下,图6中描绘的氨基酸序列的残基32(对应于成熟 β 2M的Arg-12)被Cys取代。

[0193] 在一些情况下, β 2M多肽包含氨基酸序列: **IQRTPKIQVY SRH PAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLFS KDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSP KIVKWDRD M (SEQ ID NO:61)**。在一些情况下, β 2M多肽包含氨基酸序列: **I QRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGE RIEKVE HSDLFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVT LSQP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:48)**。

[0194] 在一些情况下,I类HLA重链多肽包含氨基酸序列:

**GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRM
EPRAPWIEQEGPEYWDGETRQVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSE
AGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYLKEDLR
[0195] WTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLEN
GKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQ
RDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRVYTCV
QHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:59)**。

[0196] 在一些情况下,I类HLA重链多肽包含氨基酸序列:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAAS
QRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKYKAHSQTHRVDLGLRGYY
NQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDIALKE
[0197] DLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRR
YLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVELTRPCCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR
TCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:62)。

[0198] 在一些情况下, I 类 HLA 重链多肽包含氨基酸序列: GSHSMRY
FFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWI
EQEGPEYWDGETRKYKAHSQTHRVDLGLRGAYNQSEAGSHTV
QRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDIALKEDLRSWTAAD
MAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETL
QRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVELTRPCCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGL
PKPLTLRWE (SEQ ID NO:50)。

[0199] 在一些情况下, β 2M 多肽包含以下氨基酸序列:

[0200] IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLK
NGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVN
HVTLSQP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:48); 并且本公开的多聚多肽的

I 类 HLA 重链多肽包含以下氨基酸序列:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAAS
QRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKYKAHSQTHRVDLGLRGYY
NQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDIALKE
[0201] DLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRR
YLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVELTRPCCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR
TCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:62), 其中加下划线并且用粗体

表示的 Cys 残基在多聚多肽中彼此形成二硫键。

[0202] 在一些情况下, β 2M 多肽包含氨基酸序列: IQRTPKIQVYSCH

PAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSK
DWSFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLTSQPKIVKWDRDM (S
EQ ID NO:48)。

[0203] 骨架多肽

[0204] T细胞调节性多聚多肽包含Fc多肽或另一适合骨架多肽。

[0205] 适合骨架多肽包括基于抗体的骨架多肽和非基于抗体的骨架。非基于抗体的骨架包括例如白蛋白、XTEN(延伸重组)多肽、转铁蛋白、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽(参见例如Hassouneh等(2012)Methods Enzymol.502:215;例如包含五肽重复单元(Val-Pro-Gly-X-Gly;SEQ ID NO:212)的多肽,其中X是除脯氨酸以外的任何氨基酸)、白蛋白结合多肽、丝样多肽(参见例如Valluzzi等(2002)Philos Trans R Soc Lond BBiol Sci.357:165)、丝-弹性蛋白样多肽(SELP;参见例如Megeed等(2002)Adv Drug Deliv Rev.54:1075)等。适合XTEN多肽包括例如WO 2009/023270、WO 2010/091122、WO 2007/103515、US2010/0189682和US2009/0092582中公开的那些;也参见Schellenberger等(2009)Nat Biotechnol.27:1186。适合白蛋白多肽包括例如人血清白蛋白。

[0206] 在一些情况下,适合骨架多肽将是半衰期延长多肽。因此,在一些情况下,相较于缺乏适合骨架多肽的对照多聚多肽,所述适合骨架多肽使多聚多肽的体内半衰期(例如血清半衰期)增加。举例来说,在一些情况下,相较于缺乏骨架多肽的对照多聚多肽,所述骨架多肽使多聚多肽的体内半衰期(例如血清半衰期)增加至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%,增加至至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或超过100倍。作为一实例,在一些情况下,相较于缺乏Fc多肽的对照多聚多肽,所述Fc多肽使多聚多肽的体内半衰期(例如血清半衰期)增加至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%,增加至至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或超过100倍。

[0207] Fc多肽

[0208] 在一些情况下,多聚多肽的第一和/或第二多肽链包含Fc多肽。多聚多肽的Fc多肽可为人IgG1 Fc、人IgG2 Fc、人IgG3 Fc、人IgG4Fc等。在一些情况下,Fc多肽包含与图4A-图4C中描绘的Fc区的氨基酸序列具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc区包含与图4A中描绘的人IgG1 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc区包含与图4A中描绘的人IgG1 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;并且包含对N77的取代;例如Fc多肽包含N77A取代。在一些情况下,Fc多肽包含与图4A中描绘的人IgG2 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如Fc多肽包含与图4A中描绘的人IgG2 Fc多肽的氨基酸99-325具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,

Fc多肽包含与图4A中描绘的人IgG3 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列；例如Fc多肽包含与图4A中描绘的人IgG3 Fc多肽的氨基酸19-246具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图4B中描绘的人IgM Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列；例如Fc多肽包含与图4B中描绘的人IgM Fc多肽的氨基酸1-276具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图4C中描绘的人IgAFc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列；例如Fc多肽包含与图4C中描绘的人IgA Fc多肽的氨基酸1-234具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0209] 在一些情况下,存在于多聚多肽中的Fc多肽包含图33A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc)。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处是N297被除天冬酰胺以外的氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33C中描绘的氨基酸序列(包含N297A取代的人IgG1 Fc)。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处是L234被除亮氨酸以外的氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33A中描绘的氨基酸序列(人IgG1Fc),例外之处是L235被除亮氨酸以外的氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33D中描绘的氨基酸序列(包含L234A取代和L235A取代的人IgG1 Fc)。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处是P331被除脯氨酸以外的氨基酸取代；在一些情况下,取代是P331S取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处是用除亮氨酸以外的氨基酸在L234和L235处进行取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处是用除亮氨酸以外的氨基酸在L234和L235处进行取代,以及P331被除脯氨酸以外的氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽包含图33B中描绘的氨基酸序列(包含L234F、L235E和P331S取代的人IgG1 Fc)。在一些情况下,存在于多聚多肽中的Fc多肽是包含L234A和L235A取代的IgG1 Fc多肽。

[0210] 接头

[0211] 多聚多肽可包括插入在例如表位与MHC多肽之间；MHC多肽与免疫调节性多肽之间；MHC多肽与Ig Fc多肽之间；第一免疫调节性多肽与第二免疫调节性多肽之间；或第二免疫调节性多肽与第三免疫调节性多肽之间的接头肽。

[0212] 举例来说,多聚多肽可包括插入在例如表位与MHC多肽之间；MHC多肽与免疫调节性多肽之间；MHC多肽与Ig Fc多肽之间；第一变体IL-2多肽与第二变体IL-2多肽之间；或第二变体IL-2多肽与第三变体IL-2多肽之间的接头肽。作为另一实例,多聚多肽可包括插入

在例如表位与MHC多肽之间;MHC多肽与免疫调节性多肽之间;MHC多肽与Ig Fc多肽之间;第一变体4-1BBL多肽与第二变体4-1BBL多肽之间;或第二变体4-1BBL多肽与第三变体4-1BBL多肽之间的接头肽。

[0213] 适合接头(也被称为“间隔体”)可易于选择,并且可具有许多适合长度中的任一者,诸如1个氨基酸至25个氨基酸、3个氨基酸至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸、或7个氨基酸至8个氨基酸。适合接头的长度可为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个氨基酸。

[0214] 示例性接头包括甘氨酸聚合物($(G)_n$)、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:210)和 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:211),其中n是至少是1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物以及本领域中已知的其他柔性接头。可使用甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物;Gly与Ser两者均是相对无结构化的,因此可充当组分之间的中性系链。可使用甘氨酸聚合物;甘氨酸即使相比于丙氨酸也会获取显著更多 Φ - Ψ 空间,并且相比于具有较长侧链的残基,受到的限制少得多(参见Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142(1992))。

[0215] 示例性接头可包含包括但不限于GGSG(SEQ ID NO:65)、GGSGG(SEQ ID NO:66)、GSGSG(SEQ ID NO:67)、GSGGG(SEQ ID NO:68)、GGGSG(SEQ ID NO:69)、GSSSG(SEQ ID NO:70)等的氨基酸序列。示例性接头可包括例如 $Gly(Ser_4)_n$,其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO:71),其中n是4。在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO:72),其中n是5。在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:205),其中n是1。在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:206),其中n是2。在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:207),其中n是3。在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:208),其中n是4。在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:209),其中n是5。在一些情况下,接头包含氨基酸序列AAAGG(SEQ ID NO:73)。

[0216] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽的第一多肽中的接头多肽包括可与存在于本公开的多聚多肽的第二多肽中的半胱氨酸残基形成二硫键的半胱氨酸残基。在一些情况下,举例来说,适合接头包含氨基酸序列

GCGASGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:74)。

[0217] 表位

[0218] 存在于本公开的多聚多肽中的表位(呈现一个或多个表位的肽)可具有约4个氨基酸至约25个氨基酸的长度,例如所述表位可具有4个氨基酸(aa)至10aa、10aa至15aa、15aa至20aa、或20aa至25aa的长度。举例来说,存在于本公开的多聚多肽中的表位可具有4个氨基酸(aa)、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa、20aa、21aa、22aa、23aa、24aa或25aa的长度。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的表位具有5个氨基酸至10个氨基酸,例如5aa、6aa、7aa、8aa、9aa或10aa的长度。

[0219] 存在于本公开的多聚多肽中的表位由T细胞特异性结合,即所述表位由表位特异性T细胞特异性结合。表位特异性T细胞结合具有参照氨基酸序列的表位,但不实质上结合不同于所述参照氨基酸序列的表位。举例来说,表位特异性T细胞结合具有参照氨基酸序列

的表位,并且如果结合的话,那么以小于 10^{-6} M、小于 10^{-5} M或小于 10^{-4} M的亲合力结合不同于所述参照氨基酸序列的表位。表位特异性T细胞可以至少 10^{-7} M、至少 10^{-8} M、至少 10^{-9} M或至少 10^{-10} M的亲合力结合它对其具有特异性的表位。

[0220] 适合表位包括但不限于存在于癌症相关抗原中的表位。癌症相关抗原包括但不限于 α -叶酸受体;碳酸酐酶IX (CAIX);CD19;CD20;CD22;CD30;CD33;CD44v7/8;癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen,CEA);上皮糖蛋白-2 (EGP-2);上皮糖蛋白-40 (EGP-40);叶酸结合蛋白 (FBP);胎儿乙酰胆碱受体;神经节苷脂抗原GD2;Her2/neu;IL-13R-a2; κ 轻链;LeY;L1细胞粘附分子;黑素瘤相关抗原 (MAGE);MAGE-A1;间皮素 (mesothelin);MUC1;NKG2D配体;癌胚抗原 (oncofetal antigen) (h5T4);前列腺干细胞抗原 (PSCA);前列腺特异性膜抗原 (PSMA);肿瘤相关糖蛋白-72 (TAG-72);以及血管内皮生长因子受体-2 (VEGF-R2)。参见例如Vigneron等 (2013) Cancer Immunity 13:15;以及Vigneron (2015) BioMed Res.Int' l 文章标识符948501。在一些情况下,表位是人乳头状瘤病毒E7抗原表位;参见例如Ramos等 (2013) J. Immunother. 36:66。

[0221] 在一些情况下,表位是HPV16E7/82-90 (LLMGTLGIV;SEQ ID NO:75)。在一些情况下,表位是HPV16E7/86-93 (TLGIVCPI;SEQ ID NO:76)。在一些情况下,表位是HPV16E7/11-20 (YMLDLQPETT;SEQ ID NO:77)。在一些情况下,表位是HPV16E7/11-19 (YMLDLQPET;SEQ ID NO:78)。对于额外适合HPV表位,参见例如Ressing等 ((1995) J. Immunol. 154:5934)。

[0222] 免疫调节性多肽

[0223] 适合免疫调节性多肽包括但不限于IL-2多肽、4-1BBL多肽、B7-1多肽;B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。

[0224] 在一些情况下,免疫调节性多肽包含与图50A或图50B中描绘的PD-L1多肽的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0225] 在一些情况下,免疫调节性多肽包含与图51中描绘的CD80多肽的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0226] 在一些情况下,免疫调节性多肽包含与图51中描绘的ICOS-L多肽的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0227] 在一些情况下,免疫调节性多肽包含与图53中描绘的OX40L多肽的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0228] 在一些情况下,免疫调节性多肽包含与图54中描绘的PD-L2多肽的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0229] 在一些情况下,免疫调节性多肽包含与图55中描绘的CD86多肽的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0230] 在一些情况下,免疫调节性多肽包含与图56中描绘的FAS-L多肽的氨基酸序列具

有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0231] 在一些情况下,相较于野生型免疫调节性多肽对在T细胞的表面上表达的同源共免疫调节性多肽的结合亲和力,存在于synTac中的免疫调节性多肽展现对同一同源共免疫调节性多肽的结合亲和力降低。在一些情况下,当synTac包含亲和力降低的免疫调节性多肽时,所述synTac多肽展现与在T细胞的表面上表达的同源共免疫调节性多肽的结合降低。举例来说,在一些情况下,相比于包含野生型免疫调节性多肽的对照synTac多肽对同源共免疫调节性多肽的结合亲和力,包含亲和力降低的免疫调节性多肽的synTac多肽以小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%、或小超过95%的结合亲和力结合同一同源共免疫调节性多肽。

[0232] 测定结合亲和力

[0233] 免疫调节性多肽与它的同源共免疫调节性多肽之间的结合亲和力可通过生物层干涉测量术(BLI),使用纯化免疫调节性多肽和纯化同源共免疫调节性多肽来测定。本公开的synTac与它的同源共免疫调节性多肽之间的结合亲和力也可通过BLI,使用纯化synTac和同源共免疫调节性多肽来测定。BLI方法为本领域技术人员所熟知。参见例如Lad等(2015) J. Biomol. Screen. 20 (4) : 498-507; 以及Shah和Duncan (2014) J. Vis. Exp. 18: e51383。本公开中所述的在免疫调节性多肽与它的同源共免疫调节性多肽之间,或在synTac与它的同源共免疫调节性多肽之间的特异性和相对结合亲和力可使用以下程序来测定。

[0234] 为测定本公开的synTac与它的同源共免疫调节性多肽之间的结合亲和力,可使用Octet RED 96 (Pal FortéBio) 仪器或类似仪器如下进行BLI测定。为测定T细胞调节性多聚多肽(例如本公开的synTac;或对照T细胞调节性多聚多肽(其中对照T细胞调节性多聚多肽包含野生型免疫调节性多肽))的结合亲和力,将所述T细胞调节性多聚多肽固定于不溶性载体(“生物传感器”)上。经固定T细胞调节性多聚多肽是“靶标”。固定可通过将捕集抗体固定于不溶性载体上来实现,其中所述捕集抗体会固定T细胞调节性多聚多肽。举例来说,固定可通过将抗Fc(例如抗人IgG Fc)抗体固定于不溶性载体上来实现,其中经固定抗Fc抗体结合并固定T细胞调节性多聚多肽(其中T细胞调节性多聚多肽包含IgFc多肽)。将共免疫调节性多肽在若干不同浓度下施加于经固定T细胞调节性多聚多肽,并且记录仪器的响应。测定在包含25mM HEPES (pH 6.8)、5%聚(乙二醇) 6000、50mM KCl、0.1%牛血清白蛋白和0.02%吐温20非离子型清洁剂的液体介质中进行。在30°C下进行共免疫调节性多肽与经固定T细胞调节性多聚多肽的结合。作为结合亲和力的阳性对照,可使用抗I类MHC单克隆抗体。举例来说,可使用抗I类HLA单克隆抗体W6/32(美国典型培养物保藏中心编号HB-95; Parham等(1979) J. Immunol. 123:342),其具有7nM的 K_D 。标准曲线可使用抗I类MHC单克隆抗体的连续稀释液来产生。共免疫调节性多肽或抗I类MHC mAb是“分析物”。BLI分析从:i)来自经固定多肽(“靶标”);和ii)来自内部参照层的两个表面反射的白光的干涉图案。结合于生物传感器尖端的分子(“分析物”;例如共免疫调节性多肽;抗HLA抗体)的数目变化导致干涉图案变动;干涉图案的这个变动可加以实时测量。描述靶标/分析物相互作用的亲和力的两个动力学术语是缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。这两个术语的比率(k_a/k_d)产生亲和常数

K_D 。

[0235] 如上所指示,测定免疫调节性多肽(例如IL-2或IL-2变体)与它的同源共免疫调节性多肽(例如IL-2R)之间的结合亲和力也可通过BLI来测定。测定与以上对于synTac多聚多肽所述的测定类似。可使用Octet RED 96(Pal FortéBio)仪器或类似仪器如下进行BLI测定。将本公开的synTac的组成性免疫调节性多肽(例如本公开的变体IL-2多肽;以及对对照免疫调节性多肽(其中对照免疫调节性多肽包括野生型免疫调节性多肽,例如野生型IL-2))固定于不溶性载体(“生物传感器”)上。免疫调节性多肽是“靶标”。固定可通过将捕集抗体固定于不溶性载体上来实现,其中所述捕集抗体会固定免疫调节性多肽。举例来说,如果靶标融合于免疫亲和标签(例如FLAG、人IgG Fc),那么固定可通过于不溶性载体上固定针对所述免疫亲和标签的适当抗体(例如人IgG Fc抗体)来实现,其中经固定抗体结合并固定免疫调节性多肽(其中免疫调节性多肽包含IgFc多肽)。将一种共免疫调节性多肽(或多种多肽)在若干不同浓度下施加于经固定免疫调节性多肽,并且记录仪器的响应。或者,将一种共免疫调节性多肽(或多种多肽)固定于生物传感器(例如对于IL-2受体异三聚体,以单体亚单位、异二聚子复合形或完全异三聚体形式)并将免疫调节性多肽在若干不同浓度下施加于一种或多种经固定共免疫调节性多肽,并且记录仪器的响应。测定在包含25mM HEPES (pH 6.8)、5%聚(乙二醇)6000、50mM KCl、0.1%牛血清白蛋白和0.02%吐温20非离子型清洁剂液体介质中进行。在30℃下进行共免疫调节性多肽与经固定免疫调节性多肽的结合。作为结合亲和力的阳性对照,可使用抗I类MHC单克隆抗体。举例来说,可使用抗I类HLA单克隆抗体W6/32(美国典型培养物保藏中心编号HB-95;Parham等(1979)J. Immunol. 123: 342),其具有7nM的 K_D 。标准曲线可使用抗I类MHC单克隆抗体的连续稀释液来产生。共免疫调节性多肽或抗I类MHC mAb是“分析物”。BLI分析从:i)来自经固定多肽(“靶标”);和ii)来自内部参照层的两个表面反射的白光的干涉图案。结合于生物传感器尖端的分子(“分析物”;例如共免疫调节性多肽;抗HLA抗体)的数目变化导致干涉图案变动;干涉图案的这个变动可加以实时测量。描述靶标/分析物相互作用的亲和力的两个动力学术语是缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。这两个术语的比率(k_a/k_d)产生亲和常数 K_D 。因此,测定野生型免疫调节性多肽(例如IL-2)对它的受体(例如IL-2R)的结合亲和力与变体免疫调节性多肽(例如如本文公开的IL-2变体)对它的同源共免疫调节性多肽(例如它的受体)(例如IL-2R)的结合亲和力两者允许测定所述变体共免疫调节性多肽相较于所述野生型共免疫调节性多肽,对所述同源共免疫调节性多肽的相对结合亲和力。也就是说,可确定变体免疫调节性多肽对它的受体(它的同源共免疫调节性多肽)的结合亲和力相较于野生型免疫调节性多肽对同一同源共免疫调节性多肽的结合亲和力是否降低,并且如果是这样的话,那么从野生型共免疫调节性多肽的结合亲和力开始的降低百分比是多少。

[0236] BLI测定在多孔板中进行。为操作测定,在Octet数据获取软件中确定板布局,确定测定步骤,并且指定生物传感器。使生物传感器组件水化。使水化生物传感器组件和测定板在Octet仪器上平衡10分钟。一旦获取数据,就将所获取数据载入Octet数据分析软件中。通过指定用于参照减除的方法、y轴对准、步骤间修正和Savitzky-Golay滤波来在处理窗口中处理数据。通过指定分析步骤(缔合和解离),选择曲线拟合模型(1:1)、拟合方法(整体)和目标窗口(以秒计)来在分析窗口中分析数据。评估拟合的品质。如果在3倍范围内,那么各次数据追踪的 K_D 值(分析物浓度)可加以平均化。 K_D 误差值应在亲和常数值的一个数量级内;

R²值应高于0.95。参见例如Abdiche等(2008) J. Anal. Biochem. 377:209。

[0237] 在一些情况下,当通过BLI来测量(如上所述)时,i)对照T细胞调节性多聚多肽(其中所述对照包含野生型免疫调节性多肽,例如野生型IL-2)对同源共免疫调节性多肽(例如IL-2R)的结合亲和力与ii)本公开的包含所述野生型免疫调节性多肽的变体(例如变体IL-2)的T细胞调节性多聚多肽对所述同源共免疫调节性多肽(例如IL-2R)的结合亲和力的比率是至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少10²:1、至少5x10²:1、至少10³:1、至少5x10³:1、至少10⁴:1、至少10⁵:1或至少10⁶:1。在一些情况下,当通过BLI来测量时,i)对照T细胞调节性多聚多肽(其中所述对照包含野生型免疫调节性多肽)对同源共免疫调节性多肽的结合亲和力与ii)本公开的包含所述野生型免疫调节性多肽的变体的T细胞调节性多聚多肽对所述同源共免疫调节性多肽的结合亲和力的比率在1.5:1至10⁶:1,例如1.5:1至10:1、10:1至50:1、50:1至10²:1、10²:1至10³:1、10³:1至10⁴:1、10⁴:1至10⁵:1、或10⁵:1至10⁶:1的范围内。

[0238] 在一些情况下,当通过BLI来测量(如上所述)时,i)对照免疫调节性多肽(其中所述对照包括野生型免疫调节性多肽,例如野生型IL-2)对同源共免疫调节性多肽(例如IL-2R)的结合亲和力与ii)本公开的包括所述野生型免疫调节性多肽的变体(例如变体IL-2)的免疫调节性多肽对所述同源共免疫调节性多肽(例如IL-2R)的结合亲和力的比率是至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少10²:1、至少5x10²:1、至少10³:1、至少5x10³:1、至少10⁴:1、至少10⁵:1或至少10⁶:1。在一些情况下,当通过BLI来测量时,i)对照免疫调节性多肽(其中所述对照包括野生型免疫调节性多肽)对同源共免疫调节性多肽的结合亲和力与ii)本公开的包括所述野生型免疫调节性多肽的变体的免疫调节性多肽对所述同源共免疫调节性多肽的结合亲和力的比率在1.5:1至10⁶:1,例如1.5:1至10:1、10:1至50:1、50:1至10²:1、10²:1至10³:1、10³:1至10⁴:1、10⁴:1至10⁵:1、或10⁵:1至10⁶:1的范围内。

[0239] IL-2/synTac

[0240] 在一些情况下,多聚多肽包含野生型(天然存在的)IL-2作为调节性结构域。在一些情况下,多聚多肽包含变体IL-2多肽作为调节性结构域。

[0241] 包含IL-2多肽作为调节性(“MOD”)结构域的T细胞调节性多聚多肽也被称为“IL-2/synTac”、“IL-2/synTac多肽”或“IL-2/多聚多肽”。

[0242] 在一些情况下,IL-2/synTac多肽包含野生型IL-2多肽。在一些情况下,synTac多肽包含单个拷贝的野生型IL-2多肽。在一些情况下,synTac多肽包含两个拷贝的野生型IL-2多肽。在一些情况下,synTac多肽包含三个拷贝的野生型IL-2多肽。在一些情况下,野生型IL-2多肽包含与图2A中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。人IL2多肽的野生型氨基酸序列可为如下:

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMI

LNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLE

EVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE

TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1)。

[0243] 在一些情况下,synTac多肽包含变体IL-2多肽。相较于野生型IL-2对IL2R的结合

亲和力,存在于多聚多肽中的变体IL-2多肽展现对所述IL2R的结合亲和力降低。相较于包含野生型IL-2的对照多聚多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)的结合亲和力,包含变体IL-2多肽的多聚多肽也展现对IL2R的结合亲和力降低。

[0244] 在一些情况下,相较于包含图2A中描绘的氨基酸序列的IL2多肽对IL2R的结合亲和力,IL-2/synTac多肽展现对IL2R的结合亲和力降低。举例来说,在一些情况下,IL-2/synTac多肽以小于包含含有图2A中描绘的氨基酸序列的IL2多肽的对照synTac多肽对包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R的结合亲和力的结合亲和力结合IL2R。举例来说,在一些情况下,相比于包含含有图2A中描绘的氨基酸序列的IL-2多肽的对照synTac多肽对包含IL2R(例如含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)的结合亲和力,IL-2/synTac多肽以小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%、或小超过95%的结合亲和力结合IL2R。

[0245] 在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R具有100nm至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R具有约100nm至500nm的结合亲和力。举例来说,在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)具有约100nm至约150nm、约150nm至约200nm、约200nm至约250nm、约250nm至约300nm、约300nm至约350nm、约350nm至约400nm、约400nm至约450nm、或约450nm至约500nm的结合亲和力。在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)具有约500nm至1 μ M的结合亲和力。举例来说,在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)具有约500nm至约600nm、约600nm至约700nm、约700nm至约800nm、约800nm至约900nm、或约900nm至约1 μ M的结合亲和力。在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)具有约1 μ M至10 μ M的结合亲和力。举例来说,在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)具有约1 μ M至2 μ M、约2 μ M至约3 μ M、约3 μ M至约4 μ M、约4 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约6 μ M、约6 μ M至约7 μ M、约7 μ M至约8 μ M、约8 μ M至约9 μ M、或约9 μ M至约10 μ M的结合亲和力。在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)具有约10 μ M至100 μ M的结合亲和力。举例来说,在一些情况下,IL-2/synTac多肽对IL2R(例如包含含有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列(成熟形式)的 α 、 β 和 γ 多肽的IL2R)具有约10 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约30 μ M、约30 μ M至约40 μ M、约40 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约60 μ M、约60 μ M至约70 μ M、约70 μ M至约80 μ M、约80 μ M至约90 μ M、或约90 μ M至约100 μ M的结合亲和力。

[0246] 相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于IL-2/synTac多肽中的变体IL2多肽具有单一氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于IL-2/synTac多肽中的变体IL2多肽具有2至10个氨基酸取代。在一些情

况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有2个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有3个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有4个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有5个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有6个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有7个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有8个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有9个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型IL2多肽(例如包含图2A中描绘或如以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列的IL2多肽),存在于本公开的synTac多肽中的变体IL2多肽具有10个氨基酸取代。

[0247] 在一些情况下,本公开的多聚多肽包含第一多肽和第二多肽,其中所述第一多肽按从氨基末端(N末端)至羧基末端(C末端)顺序包含:a)表位(例如T细胞表位);b)第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽和c)免疫调节性多肽(例如本公开的变体IL2多肽);并且其中所述第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:a)第二MHC多肽;和b)免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。在其他情况下,本公开的多聚多肽包含第一多肽和第二多肽,其中所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:a)表位(例如T细胞表位);和b)第一MHC多肽;并且其中所述第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:a)免疫调节性多肽(例如本公开的变体IL2多肽);b)第二MHC多肽;和c)Ig Fc多肽。在一些情况下,第一和第二MHC多肽是I类MHC多肽;例如在一些情况下,第一MHC多肽是I类MHC β 2-微球蛋白(B2M或 β 2M)多肽,并且第二MHC多肽是I类MHC重链(H链);或第一MHC多肽是I类MHC H链,并且第二MHC多肽是I类MHC β 2M多肽。在其他情况下,第一和第二MHC多肽是II类MHC多肽;例如在一些情况下,第一MHC多肽是II类MHC α 链多肽,并且第二MHC多肽是II类MHC β 链多肽。在其他情况下,第一多肽是II类MHC β 链多肽,并且第二MHC多肽是II类MHC α 链多肽。在一些情况下,多聚多肽包括两个或更多个免疫调节性多肽,其中至少一个免疫调节性多肽是本公开的变体IL2免疫调节性多肽。当本公开的多聚多肽包括两个或更多个免疫调节性多肽时,在一些情况下,所述两个或更多个免疫调节性多肽存在于同一多肽链中,并且可为串联的。当本公开的多聚多肽包括两个或更多个免疫调节性多肽时,在一些情况下,所述两个或更多个免疫调节性多肽存在于单独多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽是异二聚体。在一些情况下,本公开的多聚多肽是三聚多肽。

[0248] 在一些情况下,多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)第二MHC多肽;和ii)Ig Fc多肽;和iii)免疫调节性结构域(例如本公开的变体IL2多肽)。在一些情况下,

本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)第二MHC多肽;和ii)免疫调节性结构域(例如本公开的变体IL2多肽)。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)免疫调节性结构域(例如本公开的变体IL2多肽);和ii)第二MHC多肽。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii)第一MHC多肽;和iii)免疫调节性结构域(例如本公开的变体IL2多肽);以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)第二MHC多肽。在一些情况下,当本公开的多聚多肽包含非Ig骨架时,所述非Ig骨架是XTEN肽、转铁蛋白多肽、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。

[0249] 在一些情况下,本公开的多聚多肽是单价的。在一些情况下,本公开的多聚多肽是多价的。在一些情况下,本公开的多价多聚多肽在第一多肽或第二多肽中的一者上包含免疫球蛋白Fc多肽。举例来说,视存在于本公开的多聚多肽中的Fc多肽而定,所述多聚多肽可为同二聚体,其中所述多聚多肽的两个分子存在于所述同二聚体中,其中所述多聚多肽的两个分子可例如通过存在于两个分子中的Fc多肽来彼此以二硫键连接。作为另一实例,本公开的多聚多肽可包含所述多聚多肽的三个、四个或五个分子,其中所述多聚多肽的所述分子可例如通过存在于所述分子中的Fc多肽来彼此以二硫键连接。

[0250] 在一些情况下,多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii) β 2M多肽;和iii)本公开的变体IL2多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)I类MHC重链;和ii)Fc多肽。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii) β 2M多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)本公开的变体IL2多肽;ii)I类MHC重链;和iii)Fc多肽。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii) β 2M多肽;iii)本公开的第一变体IL2多肽;iv)本公开的第二变体IL2多肽;和v)本公开的第三变体IL2多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)I类MHC重链;和ii)Fc多肽。在一些情况下,第一、第二和第三变体IL2多肽具有相同氨基酸序列。在一些情况下,第一、第二和第三变体IL2多肽在氨基酸序列方面不同于彼此。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii) β 2M多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)本公开的第一变体IL2多肽;ii)本公开的第二变体IL2多肽;和iii)本公开的第三变体IL2多肽;iv)I类MHC重链;和v)Fc多肽。在一些情况下,第一、第二和第三变体IL2多肽具有相同氨基酸序列。在一些情况下,第一、第二和第三变体IL2多肽在氨基酸序列方面不同于彼此。

[0251] F42取代

[0252] 在一些情况下,存在于多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或

Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0253] Y45取代

[0254] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45是除酪氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸45是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45是Val。在一些情况下,存在于本

公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45是Leu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45是Ile。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0255] Q126取代

[0256] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸126是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126是Val。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126是Leu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126是Ile。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,

本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0257] F42和H16取代

[0258] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;并且其中氨基酸16是除组氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸16是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸16是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I

类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含2个拷贝的包含F42A和H16A取代的IL-2变体,其中所述多聚多肽包含I类HLA重链和 β 2M多肽,并且其中所述2个拷贝的IL-2 (F42A、H16A) 在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。在一些情况下,变体IL-2多肽包含图34B中描绘的氨基酸序列(包含H16A和F42A取代)。

[0259] F42和D20取代

[0260] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;并且其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸20是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸20是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,并且氨基酸20是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu,并且氨基酸20是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,并且氨基酸20是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸20是Asn。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列

具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸20是Gln。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸20是Lys。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸20是Arg。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,并且氨基酸20是His。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0261] F42、D20和E15取代

[0262] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu;并且其中氨基酸15是除谷氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸15是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。在一些情况下,本公开的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸15是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His;并且其中氨基酸15是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基

酸20是Ala,并且氨基酸15是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gly,并且氨基酸15是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,氨基酸20是Ala,并且氨基酸15是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,氨基酸20是Ala,并且氨基酸15是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Asn,并且氨基酸15是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gln,并且氨基酸15是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Lys,并且氨基酸15是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是His,并且氨基酸15是Ala。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0263] F42、D20和H16取代

[0264] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu;并且其中氨基酸16是除组氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸16是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His;并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gly,并且氨基酸16是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,氨基酸20是Ala,并且氨基酸16是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu,氨基酸20是Ala,并且氨基酸16是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,氨基酸20是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Asn,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gln,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Lys,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Arg,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序

列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是His,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0265] F42、D20和Q126取代

[0266] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu;并且其中氨基酸126是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸126是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His;并且其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,氨基酸20是Ala,并且氨基酸126是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘

的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu,氨基酸20是Ala,并且氨基酸126是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,氨基酸20是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Asn,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gln,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Lys,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Arg,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是His,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0267] F42、D20和Y45取代

[0268] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu;并且其中氨基酸45是除酪氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸45是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、

Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His;并且其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Ala,并且氨基酸45是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gly,并且氨基酸45是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,氨基酸20是Ala,并且氨基酸45是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu,氨基酸20是Ala,并且氨基酸45是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,氨基酸20是Ala,并且氨基酸45是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Asn,并且氨基酸45是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gln,并且氨基酸45是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Lys,并且氨基酸45是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Arg,并且氨基酸45是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是His,并且氨基酸45是Ala。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当

本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0269] F4、D20、Y45和H16取代

[0270] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu;其中氨基酸45是除酪氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸45是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;并且其中氨基酸16是除组氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸16是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His;其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gly,氨基酸45是Gly,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Gly,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Gly,并且氨基酸16是Val。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,氨

氨酸20是Ala,氨基酸45是Ala,并且氨基酸16是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Asn,氨基酸45是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gln,氨基酸45是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Lys,氨基酸45是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Arg,氨基酸45是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是His,氨基酸45是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0271] F42、D20、Y45和Q126取代

[0272] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu;其中氨基酸45是除酪氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸45是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;并且其中氨基酸126是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸126是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨

氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His;其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gly,氨基酸45是Gly,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Gly,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Leu,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Gly,并且氨基酸126是Val。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ile,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Ala,并且氨基酸126是Gly。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Asn,氨基酸45是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gln,氨基酸45是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Lys,氨基酸45是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Arg,氨基酸45是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图20中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是His,氨基酸45是Ala,并且氨基酸126是Ala。在一些情况下,单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是

串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0273] F42、D20、Y45、H16和Q126取代

[0274] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸20是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu;其中氨基酸45是除酪氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸45是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu;其中氨基酸126是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸126是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;并且其中氨基酸16是除组氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸16是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸20是Asn、Gln、Lys、Arg或His;其中氨基酸45是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile;并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Ala,氨基酸45是Ala,氨基酸126是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Ala,氨基酸20是Gly,氨基酸45是Gly,氨基酸126是Ala,并且氨基酸16是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42是Val,氨基酸20是Ala,氨基酸45是

Gly, 氨基酸126是Ala, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是Leu, 氨基酸20是Ala, 氨基酸45是Gly, 氨基酸126是Val, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是Ile, 氨基酸20是Ala, 氨基酸45是Ala, 氨基酸126是Gly, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是Ala, 氨基酸20是Asn, 氨基酸45是Ala, 氨基酸126是Ala, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是Ala, 氨基酸20是Gln, 氨基酸45是Ala, 氨基酸126是Ala, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是Ala, 氨基酸20是Lys, 氨基酸45是Ala, 氨基酸126是Ala, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是Ala, 氨基酸20是Arg, 氨基酸45是Ala, 氨基酸126是Ala, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是Ala, 氨基酸20是His, 氨基酸45是Ala, 氨基酸126是Ala, 并且氨基酸16是Ala。在一些情况下, 单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下, 本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽, 例如其中所述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的, 或是串联的, 并且由接头肽分隔。在一些情况下, 本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽, 例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的, 或是串联的, 并且由接头肽分隔。在一些情况下, 当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时, 一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下, 当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时, 一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下, 变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0275] F42、Q126和H16取代

[0276] 在一些情况下, 存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 其中氨基酸42是除苯丙氨酸以外的氨基酸, 例如其中氨基酸42是Gly、Ala、Val、Leu、

Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu；其中氨基酸126是除谷氨酰胺以外的氨基酸，例如其中氨基酸126是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu；并且其中氨基酸16是除组氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸16是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile；其中氨基酸126是Ala、Gly、Val、Leu或Ile；并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala、Gly、Val、Leu或Ile；其中氨基酸126是Asn、Gln、Lys、Arg或His；并且其中氨基酸16是Ala、Gly、Val、Leu或Ile。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala，氨基酸126是Ala，并且氨基酸16是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala，氨基酸126是Gly，并且氨基酸16是Gly。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Val，氨基酸126是Ala，并且氨基酸16是Gly。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ile，氨基酸126是Ala，并且氨基酸16是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala，氨基酸126是Asn，并且氨基酸16是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala，氨基酸126是Ala，并且氨基酸16是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala，氨基酸126是Lys，并且氨基酸16是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala，氨基酸126是Arg，并且氨基酸16是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体IL-2多肽包含与图2Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中氨基酸42是Ala，氨基酸126是His，并且氨基酸16是Ala。在一些情况下，单个拷贝的变体IL-2多肽存在于本公开的多聚多肽中。在一些情况下，本公开的多聚多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽，例如其中所

述两个拷贝是在所述两个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含三个拷贝的变体IL-2多肽,例如其中所述三个拷贝是在所述三个拷贝之间无接头的情况下串联的,或是串联的,并且由接头肽分隔。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含I类HLA重链的多肽链上。在一些情况下,当本公开的IL-2/synTac包含I类HLA重链和 β 2M时,一个或多个IL-2多肽在包含 β 2M多肽的多肽链上。在一些情况下,变体IL-2多肽或包含所述变体IL-2多肽的synTac对IL2R具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,变体IL-2多肽具有133个氨基酸的长度。

[0277] 4-1BBL

[0278] 在一些情况下,适用于本公开的方法中的synTac包含4-1BBL多肽作为免疫调节性结构域。适合4-1BBL免疫调节性结构域包括野生型4-1BBL免疫调节性结构域和变体4-1BBL免疫调节性结构域。

[0279] 野生型人4-1BBL氨基酸序列提供于图36A中。人4-1BBL的肿瘤坏死因子(TNF)同源性结构域(THD)包含图36A中描绘的氨基酸序列的氨基酸81-254、氨基酸80-254或氨基酸80-246。因此,人4-1BBL的THD的野生型氨基酸序列可为例如如下SEQ ID NO:213-215中的一者:

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVS
L TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0280] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ G
RLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TP
EIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:213)。

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAG
VSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGS
[0281] GS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:214)。

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAG
VSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGS
[0282] GS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPA (SEQ ID NO:215)。

[0283] 野生型4-1BBL结合4-1BB(CD137)。4-1BB的氨基酸序列提供于图37中。相较于野生型4-1BBL与4-1BB的结合,本公开的变体4-1BBL多肽以降低的亲合力结合4-1BB。

[0284] 变体4-1BBL多肽包括具有与相应野生型4-1BBL多肽具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的那些,并且包括相对于相应野生型4-1BBL多肽,相差1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸或超过15个氨基酸的变体4-1BBL多肽。在一些情况下,变体4-1BBL多肽在氨基酸序列方面与野生型4-1BBL多肽相差仅单一氨基酸。在一些情况下,变体4-1BBL多肽在氨基酸序列方面与野生型4-1BBL多肽相差至多2个氨基酸。在一些情况下,变体4-1BBL多肽在氨基酸序列方面与野生型4-1BBL多肽相差至多3个氨基酸。在一些情况下,变体4-1BBL多肽在氨基酸序列方面与野生型4-1BBL多肽相差至多4个氨基酸。在一些情况下,变体4-1BBL多肽在氨基酸序列方面与野生型4-1BBL多肽相差至多5个氨基酸。

[0285] 在一些情况下,相较于包含图36A中描绘的氨基酸序列的4-1BBL多肽对4-1BB的结合亲合力,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽展现对4-1BB的结合亲合力降低。举例来说,在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽以小于包含图36A中描绘的氨基酸序列的4-1BBL多肽对包含图37中描绘的氨基酸序列的4-1BB多肽的结合亲和力的结合亲合力结合4-1BB。举例来说,在一些情况下,相比于包含图36A中描绘的氨基酸序列的4-1BBL多肽对4-1BB(例如包含图37中描绘的氨基酸序列的4-1BB多肽)的结合亲合力,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽以小至少10%、小至少15%、小至少20%、小至少25%、小至少30%、小至少35%、小至少40%、小至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%或小超过95%的结合亲合力结合4-1BB。

[0286] 在一些情况下,相较于包含以SEQ ID NO:213描绘的氨基酸序列的4-1BBL多肽对4-1BB的结合亲合力,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽展现对4-1BB的结合亲合力降低。举例来说,在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽以小于包含以SEQ ID NO:213描绘的氨基酸序列的4-1BBL多肽对包含图37中描绘的氨基酸序列的4-1BB多肽的结合亲和力的结合亲合力结合4-1BB。举例来说,在一些情况下,相比于包含以SEQ ID NO:213描绘的氨基酸序列的4-1BBL多肽对4-1BB(例如包含图37中描绘的氨基酸序列的4-1BB多肽)的结合亲合力,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽以小至少10%、小至少15%、小至少20%、小至少25%、小至少30%、小至少35%、小至少40%、小至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%或小超过95%的结合亲合力结合4-1BB。

[0287] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽对4-1BB具有100nM至100 μ M的结合亲合力。作为另一实例,在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽对4-1BB(例如包含图37中描绘的氨基酸序列的4-1BB多肽)具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M的结合亲合力。

[0288] 在一些情况下,相较于包含野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽)的对照多聚多肽在相同哺乳动物宿主细胞中的产生,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽展现在哺乳动物宿主细胞中的产生增加。举例来说,在一些情况下,相比于在哺乳动物宿主细胞中产生的包含野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽)的对照多聚多肽的量,当在相同哺乳动物宿主细胞中表达时,存在于多聚多肽中的变体4-1BBL多肽以高25%至高约50%、高约50%至高约75%、高约75%至约2倍高、约2倍高至约5倍高、约5倍高至约10倍高、约10倍高至约20倍高、约20倍高至约30倍高、约30倍高至约40倍高、约40倍高至约50倍高、约50倍高至约75倍高、约75倍高至约100倍高、或超过100倍高的量产生。

[0289] 在一些情况下,存在于多聚多肽中的变体4-1BBL多肽在哺乳动物宿主细胞中以约50mg/L至约75mg/L、约75mg/L至约100mg/L、约100mg/L至约150mg/L、约150mg/L至约200mg/L、约200mg/L至约250mg/L、约250mg/L至约500mg/L、或超过500mg/L的量产生。在一些情况下,存在于多聚多肽中的变体4-1BBL多肽在哺乳动物宿主细胞中以约10mg/L至约15mg/L、约15mg/L至约20mg/L、约20mg/L至约25mg/L、约25mg/L至约30mg/L、约35mg/L至约40mg/L、约40mg/L至约45mg/L、或约45mg/L至约50mg/L的量产生。

[0290] 相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于多聚多肽中的变体4-1BBL多肽可具有单一氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有2个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有3个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有4个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有5个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有6个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),本公开的变体4-1BBL多肽具有7个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有8个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有9个氨基酸取代。在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有10个氨基酸取代。

[0291] 在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID

NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有11至50个氨基酸取代。举例来说,在一些情况下,相对于野生型4-1BBL多肽(例如包含图36A中描绘或如以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列的4-1BBL多肽),存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽具有11至15、15至20、20至25、25至30、30至35、35至40、40至45、或45至50个氨基酸取代。

[0292] 可包括在本公开的多聚多肽中的适合变体4-1BBL多肽包括上述那些。

[0293] 具有K127取代的4-1BBL

[0294] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu。

[0295] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K48处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在K48处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K48处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在K48处具有氨基酸取代。

[0296] K127+M91取代

[0297] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在M91处具有氨基酸取代,其中氨基酸91是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸91是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸11除甲硫氨酸以外,例如其中氨基酸11是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸11是Ala。

[0298] K127+F92取代

[0299] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描

绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在F92处具有氨基酸取代,其中氨基酸92是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸92是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸12除苯丙氨酸以外,例如其中氨基酸12是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸12是Ala。

[0300] K127+Q94取代

[0301] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在Q94处具有氨基酸取代,其中氨基酸94是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸94是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸14除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸14是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸14是Ala。

[0302] K127+L95取代

[0303] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在L95处具有氨基酸取代,其中氨基酸95是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸95是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸15除亮氨酸以外,例如其中氨基酸15是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;

并且氨基酸15是Ala。

[0304] K127+V96取代

[0305] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在V96处具有氨基酸取代,其中氨基酸96是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸96是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸16除缬氨酸以外,例如其中氨基酸16是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸16是Ala。

[0306] K127+Q98取代

[0307] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在Q98处具有氨基酸取代,其中氨基酸98是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸98是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸18除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸18是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸18是Ala。

[0308] K127+N99取代

[0309] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在N99处具有氨基酸取代,其中氨基酸99是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸99是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是

Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)氨基酸19除天冬酰胺以外，例如其中氨基酸19是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸47是Ala；并且氨基酸19是Ala。

[0310] K127+V100取代

[0311] 在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)在V100处具有氨基酸取代，其中氨基酸100是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸127是Ala；并且氨基酸100是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)氨基酸20除缬氨酸以外，例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸47是Ala；并且氨基酸20是Ala。

[0312] K127+L101取代

[0313] 在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)在L101处具有氨基酸取代，其中氨基酸101是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸127是Ala；并且氨基酸101是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)氨基酸21除亮氨酸以外，例如其中氨基酸21是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸47是Ala；并且氨基酸21是Ala。

[0314] K127+L102取代

[0315] 在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)在L102处具有氨基酸取代，其中氨基酸102是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸127是Ala；并且

氨基酸102是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸22除亮氨酸以外,例如其中氨基酸22是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸22是Ala。

[0316] K127+I103取代

[0317] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在I103处具有氨基酸取代,其中氨基酸103是Gly、Ala、Val、Leu、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸103是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸23除异亮氨酸以外,例如其中氨基酸23是Gly、Ala、Val、Leu、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸23是Ala。

[0318] K127+D104取代

[0319] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在D104处具有氨基酸取代,其中氨基酸104是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸104是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除了赖氨酸之外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸24除天冬氨酸以外,例如其中氨基酸24是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸24是Ala。

[0320] K127+G105取代

[0321] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是

Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)在G105处具有氨基酸取代，其中氨基酸105是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸127是Ala；并且氨基酸105是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)氨基酸25除甘氨酸以外，例如其中氨基酸25是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸47是Ala；并且氨基酸25是Ala。

[0322] K127+P106取代

[0323] 在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)在P106处具有氨基酸取代，其中氨基酸106是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸127是Ala；并且氨基酸106是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)氨基酸26除脯氨酸以外，例如其中氨基酸26是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸47是Ala；并且氨基酸26是Ala。

[0324] K127+L107取代

[0325] 在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)在L107处具有氨基酸取代，其中氨基酸107是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸127是Ala；并且氨基酸107是Ala。在一些情况下，存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中：i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸，例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu；以及ii)氨基酸27除亮氨酸以外，例如其中氨基酸27是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下，氨基酸47是Ala；并且氨基酸27是Ala。

[0326] K127+S108取代

[0327] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在S108处具有氨基酸取代,其中氨基酸108是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸108是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸28除丝氨酸以外,例如其中氨基酸28是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸28是Ala。

[0328] K127+W109取代

[0329] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在W109处具有氨基酸取代,其中氨基酸109是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸109是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸29除色氨酸以外,例如其中氨基酸29是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸29是Ala。

[0330] K127+Y110取代

[0331] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在Y110处具有氨基酸取代,其中氨基酸110是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸110是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸30除酪氨酸以外,例如其中氨基酸30是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、

Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸30是Ala。

[0332] K127+S111取代

[0333] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在S111处具有氨基酸取代,其中氨基酸111是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸111是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸31除丝氨酸以外,例如其中氨基酸31是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸31是Ala。

[0334] K127+D112取代

[0335] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在D112处具有氨基酸取代,其中氨基酸112是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸112是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除了赖氨酸之外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸32除天冬氨酸以外,例如其中氨基酸32是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸32是Ala。

[0336] K127+P113取代

[0337] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在P113处具有氨基酸取代,其中氨基酸113是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸113是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序

列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸33除脯氨酸以外,例如其中氨基酸33是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸33是Ala。

[0338] K127+G114取代

[0339] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在G114处具有氨基酸取代,其中氨基酸114是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸114是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸34除甘氨酸以外,例如其中氨基酸34是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸34是Ala。

[0340] K127+L115取代

[0341] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)在L115处具有氨基酸取代,其中氨基酸115是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸127是Ala;并且氨基酸115是Ala。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中:i)氨基酸47是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及ii)氨基酸35除亮氨酸以外,例如其中氨基酸35是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,氨基酸47是Ala;并且氨基酸35是Ala。

[0342] 具有Q227取代的4-1BBL

[0343] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36D中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸227(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸227是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与SEQ ID NO:213阐

述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸147除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸147是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0344] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q148处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在Q148处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q148处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在Q148处具有氨基酸取代。

[0345] 具有M91取代的4-1BBL

[0346] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36E中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸91(由“x”指示)是除甲硫氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸91是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸11除甲硫氨酸以外,例如其中氨基酸11是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0347] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在M12处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在M12处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在M12处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在M12处具有氨基酸取代。

[0348] 具有F92取代的4-1BBL

[0349] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36F中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸92(由“x”指示)是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸92是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸12除苯丙氨酸以外,例如其中氨基酸12是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0350] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一

性的氨基酸序列,在F13处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在F13处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在F13处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在F13处具有氨基酸取代。

[0351] 具有Q94取代的4-1BBL

[0352] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36G中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸94(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸94是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸14除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸14是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0353] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q15处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在Q15处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q15处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在Q15处具有氨基酸取代。

[0354] 具有L95取代的4-1BBL

[0355] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36H中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸95(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸95是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸15除亮氨酸以外,例如其中氨基酸15是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0356] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L16处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L16处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L16处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多

肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L16处具有氨基酸取代。

[0357] 具有V96取代的4-1BBL

[0358] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36I中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸96(由“x”指示)是除缬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸96是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸16除缬氨酸以外,例如其中氨基酸16是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0359] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V17处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在V17处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V17处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在V17处具有氨基酸取代。

[0360] 具有Q98取代的4-1BBL

[0361] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36J中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸98(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸98是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸18除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸18是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0362] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q19处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在Q19处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q19处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在Q19处具有氨基酸取代。

[0363] 具有N99取代的4-1BBL

[0364] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36K中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸99(由“x”指示)是除天冬酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸99是Gly、

Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸19除天冬酰胺以外,例如其中氨基酸19是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0365] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在N20处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在N20处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在N20处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在N20处具有氨基酸取代。

[0366] 具有V100取代的4-1BBL

[0367] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36L中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸100(由“x”指示)是除缬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸100是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸20除缬氨酸以外,例如其中氨基酸20是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0368] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V21处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在V21处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V21处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在V21处具有氨基酸取代。

[0369] 具有L101取代的4-1BBL

[0370] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36M中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸101(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸101是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸21除亮氨酸以外,例如其中氨基酸21是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0371] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L22处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L22处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L22处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L22处具有氨基酸取代。

[0372] 具有L102取代的4-1BBL

[0373] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36N中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸102(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸102是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸22除亮氨酸以外,例如其中氨基酸22是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0374] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L23处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L23处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L23处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L23处具有氨基酸取代。

[0375] 具有I103取代的4-1BBL

[0376] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36O中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸103(由“x”指示)是除异亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸103是Gly、Ala、Val、Leu、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸23除异亮氨酸以外,例如其中氨基酸23是Gly、Ala、Val、Leu、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0377] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在I24处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在I24处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的

氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在I24处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在I24处具有氨基酸取代。

[0378] 具有D104取代的4-1BBL

[0379] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36P中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸104(由“x”指示)是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸104是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸24除天冬氨酸以外,例如其中氨基酸24是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。

[0380] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D25处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在D25处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D25处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在D25处具有氨基酸取代。

[0381] 具有G105取代的4-1BBL

[0382] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36Q中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸105(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸105是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸25除甘氨酸以外,例如其中氨基酸25是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0383] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G26处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G26处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G26处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G26处具有氨基酸取代。

[0384] 具有P106取代的4-1BBL

[0385] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36R中描

绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸106(由“x”指示)是除脯氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸106是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸26除脯氨酸以外,例如其中氨基酸26是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0386] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P27处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在P27处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P27处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在P27处具有氨基酸取代。

[0387] 具有L107取代的4-1BBL

[0388] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36S中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸107(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸107是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸27除亮氨酸以外,例如其中氨基酸27是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0389] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L28处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L28处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L28处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L28处具有氨基酸取代。

[0390] 具有S108取代的4-1BBL

[0391] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36T中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸108(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸108是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序

列,其中氨基酸28除丝氨酸以外,例如其中氨基酸28是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0392] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S29处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在S29处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S29处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在S29处具有氨基酸取代。

[0393] 具有W109取代的4-1BBL

[0394] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36U中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸109(由“x”指示)是除色氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸109是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸29除色氨酸以外,例如其中氨基酸29是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0395] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在W30处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在W30处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在W30处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在W30处具有氨基酸取代。

[0396] 具有Y110取代的4-1BBL

[0397] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36V中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸110(由“x”指示)是除酪氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸110是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸30除酪氨酸以外,例如其中氨基酸30是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0398] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Y31处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的

变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在Y31处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Y31处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在Y31处具有氨基酸取代。

[0399] 具有S111取代的4-1BBL

[0400] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36W中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸111(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸111是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸31除丝氨酸以外,例如其中氨基酸31是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0401] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S32处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在S32处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S32处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在S32处具有氨基酸取代。

[0402] 具有D112取代的4-1BBL

[0403] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36X中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸112(由“x”指示)是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸112是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸32除天冬氨酸以外,例如其中氨基酸32是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。

[0404] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D33处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在D33处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D33处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在D33处具有氨基酸取代。

[0405] 具有P113取代的4-1BBL

[0406] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36Y中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸113(由“x”指示)是除脯氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸113是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸33除脯氨酸以外,例如其中氨基酸33是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0407] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P34处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在P34处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P34处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在P34处具有氨基酸取代。

[0408] 具有G114取代的4-1BBL

[0409] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36Z中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸114(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸114是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸34除甘氨酸以外,例如其中氨基酸34是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0410] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G35处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G35处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G35处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G35处具有氨基酸取代。

[0411] 具有L115取代的4-1BBL

[0412] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36AA中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸115(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸115是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一

些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸35除亮氨酸以外,例如其中氨基酸35是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0413] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L36处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L36处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L36处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L36处具有氨基酸取代。

[0414] 具有G117取代的4-1BBL

[0415] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36BB中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸117(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸117是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸37除甘氨酸以外,例如其中氨基酸37是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0416] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G38处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G38处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G38处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G38处具有氨基酸取代。

[0417] 具有V118取代的4-1BBL

[0418] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36CC中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸118(由“x”指示)是除缬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸118是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸38除缬氨酸以外,例如其中氨基酸38是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0419] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID

N0:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V39处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列,在V39处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V39处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列,在V39处具有氨基酸取代。

[0420] 具有S119取代的4-1BBL

[0421] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36DD中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸119(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸119是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸39除丝氨酸以外,例如其中氨基酸39是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0422] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S40处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列,在S40处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S40处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列,在S40处具有氨基酸取代。

[0423] 具有L120取代的4-1BBL

[0424] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36EE中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸120(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸120是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸40除亮氨酸以外,例如其中氨基酸40是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0425] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L41处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列,在L41处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序

列,在L41处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L41处具有氨基酸取代。

[0426] 具有T121取代的4-1BBL

[0427] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36FF中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸121(由“x”指示)是除苏氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸121是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸41除苏氨酸以外,例如其中氨基酸41是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0428] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T42处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在T42处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T42处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在T42处具有氨基酸取代。

[0429] 具有G122取代的4-1BBL

[0430] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36GG中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸122(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸122是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸42除甘氨酸以外,例如其中氨基酸42是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0431] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G43处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G43处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G43处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G43处具有氨基酸取代。

[0432] 具有G123取代的4-1BBL

[0433] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36HH中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基

酸序列,其中氨基酸123(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸123是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸43除甘氨酸以外,例如其中氨基酸43是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0434] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G44处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G44处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G44处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G44处具有氨基酸取代。

[0435] 具有L124取代的4-1BBL

[0436] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36II中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸124(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸124是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸44除亮氨酸以外,例如其中氨基酸44是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0437] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L45处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L45处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L45处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L45处具有氨基酸取代。

[0438] 具有S125取代的4-1BBL

[0439] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36JJ中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸125(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸125是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸45除丝氨酸以外,例如其中氨基酸45是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、

Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0440] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S46处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在S46处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S46处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在S46处具有氨基酸取代。

[0441] 具有Y126取代的4-1BBL

[0442] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36KK中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸126(由“x”指示)是除酪氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸126是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸46除酪氨酸以外,例如其中氨基酸46是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0443] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Y47处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在Y47处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Y47处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在Y47处具有氨基酸取代。

[0444] 具有E128取代的4-1BBL

[0445] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36LL中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸128(由“x”指示)是除谷氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸128是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸48除谷氨酸以外,例如其中氨基酸48是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。

[0446] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E49处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在E49处具有氨基酸取代。在一

些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E49处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在E49处具有氨基酸取代。

[0447] 具有D129取代的4-1BBL

[0448] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36MM中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸129(由“x”指示)是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸129是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸49除天冬氨酸以外,例如其中氨基酸49是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。

[0449] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D50处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在D50处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D50处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在D50处具有氨基酸取代。

[0450] 具有T130取代的4-1BBL

[0451] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36NN中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸130(由“x”指示)是除苏氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸130是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸50除苏氨酸以外,例如其中氨基酸50是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0452] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T51处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在T51处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T51处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在T51处具有氨基酸取代。

[0453] 具有K131取代的4-1BBL

[0454] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图3600中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸131(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸131是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸51除赖氨酸以外,例如其中氨基酸51是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu。

[0455] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K52处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在K52处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K52处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在K52处具有氨基酸取代。

[0456] 具有E132取代的4-1BBL

[0457] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36PP中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸132(由“x”指示)是除谷氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸132是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸52除谷氨酸以外,例如其中氨基酸52是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。

[0458] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E53处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在E53处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E53处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在E53处具有氨基酸取代。

[0459] 具有F144取代的4-1BBL

[0460] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36QQ中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸144(由“x”指示)是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸144是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐

述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸64除苯丙氨酸以外,例如其中氨基酸64是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0461] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在F65处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在F65处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在F65处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在F65处具有氨基酸取代。

[0462] 具有F145取代的4-1BBL

[0463] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36RR中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸145(由“x”指示)是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸145是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸65除苯丙氨酸以外,例如其中氨基酸65是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0464] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在F66处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在F66处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在F66处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在F66处具有氨基酸取代。

[0465] 具有Q146取代的4-1BBL

[0466] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36SS中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸146(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸146是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸66除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸66是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0467] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一

性的氨基酸序列,在Q67处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在Q67处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q67处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在Q67处具有氨基酸取代。

[0468] 具有L147取代的4-1BBL

[0469] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36TT中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸147(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸147是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸67除亮氨酸以外,例如其中氨基酸67是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0470] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L68处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L68处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L68处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L68处具有氨基酸取代。

[0471] 具有E148取代的4-1BBL

[0472] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36UU中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸148(由“x”指示)是除谷氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸148是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸68除谷氨酸以外,例如其中氨基酸68是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。

[0473] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E69处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在E69处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E69处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多

肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在E69处具有氨基酸取代。

[0474] 具有L149取代的4-1BBL

[0475] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36VV中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸149(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸149是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸69除亮氨酸以外,例如其中氨基酸69是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0476] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L70处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L70处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L70处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L70处具有氨基酸取代。

[0477] 具有R150取代的4-1BBL

[0478] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36WW中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸150(由“x”指示)是除精氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸150是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸70除精氨酸以外,例如其中氨基酸70是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。

[0479] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R71处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在R71处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R71处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在R71处具有氨基酸取代。

[0480] 具有R151取代的4-1BBL

[0481] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36XX中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸151(由“x”指示)是除精氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸151是Gly、

Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸71除精氨酸以外,例如其中氨基酸71是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。

[0482] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R72处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在R72处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R72处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在R72处具有氨基酸取代。

[0483] 具有V152取代的4-1BBL

[0484] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36YY中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸152(由“x”指示)是除缬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸152是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸72除缬氨酸以外,例如其中氨基酸72是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0485] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V73处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在V73处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V73处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在V73处具有氨基酸取代。

[0486] 具有V153取代的4-1BBL

[0487] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36ZZ中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸153(由“x”指示)是除缬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸153是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸73除缬氨酸以外,例如其中氨基酸73是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0488] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V74处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在V74处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V74处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在V74处具有氨基酸取代。

[0489] 具有G155取代的4-1BBL

[0490] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36AAA中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸155(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸155是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸75除甘氨酸以外,例如其中氨基酸75是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0491] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G76处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G76处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G76处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G76处具有氨基酸取代。

[0492] 具有E156取代的4-1BBL

[0493] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36BBB中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸156(由“x”指示)是除谷氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸156是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸76除谷氨酸以外,例如其中氨基酸76是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。

[0494] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E77处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在E77处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的

氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E77处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在E77处具有氨基酸取代。

[0495] 具有G157取代的4-1BBL

[0496] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36CCC中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸157(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸157是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸77除甘氨酸以外,例如其中氨基酸77是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0497] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G78处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G78处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G78处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G78处具有氨基酸取代。

[0498] 具有S158取代的4-1BBL

[0499] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36DDD中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸158(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸158是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸78除丝氨酸以外,例如其中氨基酸78是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0500] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S79处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在S79处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S79处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在S79处具有氨基酸取代。

[0501] 具有D184取代的4-1BBL

[0502] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36EEE中

描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸184(由“x”指示)是除天冬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸184是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸104除天冬氨酸以外,例如其中氨基酸104是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Glu。

[0503] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D105处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在D105处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在D105处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在D105处具有氨基酸取代。

[0504] 具有L185取代的4-1BBL

[0505] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36FFF中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸185(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸185是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸105除亮氨酸以外,例如其中氨基酸105是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0506] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L106处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L106处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L106处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L106处具有氨基酸取代。

[0507] 具有P186取代的4-1BBL

[0508] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36GGG中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸186(由“x”指示)是除脯氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸186是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基

酸序列,其中氨基酸106除脯氨酸以外,例如其中氨基酸106是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0509] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P107处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在P107处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P107处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在P107处具有氨基酸取代。

[0510] 具有P187取代的4-1BBL

[0511] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36HHH中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸187(由“x”指示)是除脯氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸187是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸107除脯氨酸以外,例如其中氨基酸107是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0512] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P108处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在P108处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在P108处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在P108处具有氨基酸取代。

[0513] 具有S189取代的4-1BBL

[0514] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36III中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸189(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸189是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸109除丝氨酸以外,例如其中氨基酸109是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0515] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S110处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的

变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在S110处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S110处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在S110处具有氨基酸取代。

[0516] 具有S190取代的4-1BBL

[0517] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36JJJ中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸190(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸190是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸110除丝氨酸以外,例如其中氨基酸110是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0518] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S111处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在S111处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S111处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在S111处具有氨基酸取代。

[0519] 具有E191取代的4-1BBL

[0520] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36KKK中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸191(由“x”指示)是除谷氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸191是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸111除谷氨酸以外,例如其中氨基酸111是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。

[0521] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E112处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在E112处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E112处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在E112处具有氨基酸取代。

[0522] 具有R193取代的4-1BBL

[0523] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36LLL中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸193(由“x”指示)是除精氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸193是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸113除精氨酸以外,例如其中氨基酸113是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。

[0524] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R114处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在R114处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R114处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在R114处具有氨基酸取代。

[0525] 具有N194取代的4-1BBL

[0526] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36MMM中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸194(由“x”指示)是除天冬酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸194是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸114除天冬酰胺以外,例如其中氨基酸114是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0527] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在N115处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在N115处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在N115处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在N115处具有氨基酸取代。

[0528] 具有S195取代的4-1BBL

[0529] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36NNN中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸195(由“x”指示)是除丝氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸195是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸115除丝氨酸以外,例如其中氨基酸115是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0530] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S116处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在S116处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在S116处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在S116处具有氨基酸取代。

[0531] 具有F197取代的4-1BBL

[0532] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36000中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸197(由“x”指示)是除苯丙氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸197是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸117除苯丙氨酸以外,例如其中氨基酸117是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0533] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在F118处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在F118处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在F118处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在F118处具有氨基酸取代。

[0534] 具有Q210取代的4-1BBL

[0535] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36PPP中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸210(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸210是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸130除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸130是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0536] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID

N0:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q131处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列,在Q131处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q131处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列,在Q131处具有氨基酸取代。

[0537] 具有R211取代的4-1BBL

[0538] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36QQQ中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸211(由“x”指示)是除精氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸211是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸131除精氨酸以外,例如其中氨基酸131是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。

[0539] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R132处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列,在R132处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R132处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列,在R132处具有氨基酸取代。

[0540] 具有L212取代的4-1BBL

[0541] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36RRR中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸212(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸212是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸132除亮氨酸以外,例如其中氨基酸132是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0542] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L133处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID N0:214阐述的氨基酸序列,在L133处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID N0:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序

列,在L133处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L133处具有氨基酸取代。

[0543] 具有G213取代的4-1BBL

[0544] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36SSS中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸213(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸213是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸133除甘氨酸以外,例如其中氨基酸133是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0545] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G134处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G134处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G134处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G134处具有氨基酸取代。

[0546] 具有V214取代的4-1BBL

[0547] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36TTT中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸214(由“x”指示)是除缬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸214是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸134除缬氨酸以外,例如其中氨基酸134是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0548] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V135处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在V135处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V135处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在V135处具有氨基酸取代。

[0549] 具有H215取代的4-1BBL

[0550] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36UUU中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨

氨基酸序列,其中氨基酸215(由“x”指示)是除组氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸215是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸135除组氨酸以外,例如其中氨基酸135是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。

[0551] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在H136处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在H136处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在H136处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在H136处具有氨基酸取代。

[0552] 具有L216取代的4-1BBL

[0553] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36VVV中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸216(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸216是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸136除亮氨酸以外,例如其中氨基酸136是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0554] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L137处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L137处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L137处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L137处具有氨基酸取代。

[0555] 具有H217取代的4-1BBL

[0556] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36WWW中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸217(由“x”指示)是除组氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸217是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸137除组氨酸以外,例如其中氨基酸137是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、

Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。

[0557] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在H138处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在H138处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在H138处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在H138处具有氨基酸取代。

[0558] 具有T218取代的4-1BBL

[0559] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36XXX中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸218(由“x”指示)是除苏氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸218是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸138除苏氨酸以外,例如其中氨基酸138是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0560] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T139处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在T139处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T139处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在T139处具有氨基酸取代。

[0561] 具有E219取代的4-1BBL

[0562] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36YYY中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸219(由“x”指示)是除谷氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸219是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸139除谷氨酸以外,例如其中氨基酸139是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His或Asp。

[0563] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E140处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在E140处具有氨基酸取代。在一

些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在E140处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在E140处具有氨基酸取代。

[0564] 具有R221取代的4-1BBL

[0565] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36ZZZ中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸221(由“x”指示)是除精氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸221是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸141除精氨酸以外,例如其中氨基酸141是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。

[0566] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R142处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在R142处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R142处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在R142处具有氨基酸取代。

[0567] 具有R223取代的4-1BBL

[0568] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36AAAA中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸223(由“x”指示)是除精氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸223是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸143除精氨酸以外,例如其中氨基酸143是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、His、Asp或Glu。

[0569] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R144处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在R144处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在R144处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在R144处具有氨基酸取代。

[0570] 具有H224取代的4-1BBL

[0571] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36BBBB中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸224(由“x”指示)是除组氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸224是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸144除组氨酸以外,例如其中氨基酸144是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、Asp或Glu。

[0572] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在H145处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在H145处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在H145处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在H145处具有氨基酸取代。

[0573] 具有W226取代的4-1BBL

[0574] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36CCCC中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸226(由“x”指示)是除色氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸226是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸146除色氨酸以外,例如其中氨基酸146是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0575] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在W147处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在W147处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在W147处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在W147处具有氨基酸取代。

[0576] 具有L228取代的4-1BBL

[0577] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36DDDD中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸228(由“x”指示)是除亮氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸228是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐

述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸148除亮氨酸以外,例如其中氨基酸148是Gly、Ala、Val、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0578] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L149处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在L149处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在L149处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在L149处具有氨基酸取代。

[0579] 具有T229取代的4-1BBL

[0580] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36EEEE中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸229(由“x”指示)是除苏氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸229是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸149除苏氨酸以外,例如其中氨基酸149是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0581] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T150处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在T150处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T150处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在T150处具有氨基酸取代。

[0582] 具有Q230取代的4-1BBL

[0583] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36FFFF中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸230(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸230是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸150除谷氨酰胺以外,例如其中氨基酸150是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0584] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一

性的氨基酸序列,在Q151处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在Q151处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q151处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在Q151处具有氨基酸取代。

[0585] 具有G231取代的4-1BBL

[0586] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36GGGG中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸231(由“x”指示)是除甘氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸231是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸151除甘氨酸以外,例如其中氨基酸151是Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0587] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G152处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在G152处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在G152处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在G152处具有氨基酸取代。

[0588] 具有T233取代的4-1BBL

[0589] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36HHHH中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸233(由“x”指示)是除苏氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸233是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸153除苏氨酸以外,例如其中氨基酸153是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0590] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T154处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在T154处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在T154处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多

肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在T154处具有氨基酸取代。

[0591] 具有V234取代的4-1BBL

[0592] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与图36IIII中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸234(由“x”指示)是除缬氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸234是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸154除缬氨酸以外,例如其中氨基酸154是Gly、Ala、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0593] 在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V155处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:214阐述的氨基酸序列,在V155处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含与以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在V155处具有氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的多聚多肽中的变体4-1BBL多肽包含以SEQ ID NO:215阐述的氨基酸序列,在V155处具有氨基酸取代。

[0594] 包含4-1BBL免疫调节性多肽的示例性多聚多肽

[0595] 以下描述适用于本公开的方法中的示例性多聚多肽。

[0596] K127

[0597] 在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii)β2M多肽;和iii)变体4-1BBL多肽,其包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;或本公开的变体4-1BBL多肽,其包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K47处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)I类MHC重链;和ii)Fc多肽。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii)β2M多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)变体4-1BBL多肽,其包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;或本公开的变体4-1BBL多肽,其包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K47处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;ii)I类MHC重链;和iii)Fc多肽。在一些情况下,本公开的多聚多肽

包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;ii) β 2M多肽;iii) 本公开的第一变体4-1BBL多肽;iv) 本公开的第二变体4-1BBL多肽;和v) 本公开的第三变体4-1BBL多肽;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) I类MHC重链;和ii) Fc多肽。在一些情况下,第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;例如第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K47处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 表位;和ii) β 2M多肽;以及b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i) 本公开的第一变体4-1BBL多肽;ii) 本公开的第二变体4-1BBL多肽;和iii) 本公开的第三变体4-1BBL多肽;iv) I类MHC重链;和v) Fc多肽。在一些情况下,第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;例如第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K47处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和M91取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和F92取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和Q94取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L95取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和V96取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和Q98取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和N99取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和V100取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L101取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L102取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和I103取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和D104取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,the变体4-1BBL多肽comprises a K127 substitution and a G105取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和P106取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L107取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和S108取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和W109取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和Y110取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和S111取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情

况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和D112取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和P113取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和G114取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L115取代(基于图36A中描绘的编号)。

[0598] 在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii) β 2M多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)本公开的第一变体4-1BBL多肽;ii)接头;iii)本公开的第二变体4-1BBL多肽;iv)接头;v)本公开的第三变体4-1BBL多肽;vi)I类MHC重链;和vii)Fc多肽。在一些情况下,第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与图36B中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸127(由“x”指示)是除赖氨酸以外的氨基酸,例如其中氨基酸127是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu;例如第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在K47处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸47是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Gln、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,接头包含(GSSSS)_n(SEQ ID NO:131)序列,其中n是1、2、3、4或5。在一些情况下,n是4。在一些情况下,n是5。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和M91取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和F92取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和Q94取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L95取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和V96取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和Q98取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和N99取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和V100取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L101取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L102取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和I103取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和D104取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和G105取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和P106取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L107取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和S108取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和W109取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和Y110取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和S111取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和D112取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和P113取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和G114取代(基于图36A中描绘的编号)。在一些情况下,变体4-1BBL多肽包含K127取代和L115取代(基于图36A中描绘的编号)。

[0599] Q227

[0600] 在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii) β 2M多肽;和iii)变体4-1BBL多肽,其包含与图36D中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸227(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸227是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;或本公开的变体4-1BBL多肽,其包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q147处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸147是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)I类MHC重链;和ii)Fc多肽。

在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii) β 2M多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)变体4-1BBL多肽,其包含与图36D中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸227(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸227是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;或本公开的变体4-1BBL多肽,其包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q147处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸147是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;ii)I类MHC重链;和iii)Fc多肽。

在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii) β 2M多肽;iii)本公开的第一变体4-1BBL多肽;iv)本公开的第二变体4-1BBL多肽;和v)本公开的第三变体4-1BBL多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)I类MHC重链;和ii)Fc多肽。

在一些情况下,第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与图36D中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸227(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸227是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;或第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q147处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸147是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii) β 2M多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)本公开的第一变体4-1BBL多肽;ii)本公开的第二变体4-1BBL多肽;和iii)本公开的第三变体4-1BBL多肽;iv)I类MHC重链;和v)Fc多肽。

在一些情况下,第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与图36D中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸227(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸227是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;或第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q147处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸147是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。

[0601] 在一些情况下,本公开的多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;和ii) β 2M多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)本公开的第一变体4-1BBL多肽;ii)接头;iii)本公开的第二变体4-1BBL多肽;iv)接头;v)本公开的第三变体4-1BBL多肽;vi)I类MHC重链;和vii)Fc多肽。在一些情况下,第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与图36D中描绘的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸227(由“x”指示)是除谷氨酰胺以外的氨基酸,例如其中氨基酸227是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu;或第一、第二和第三变体4-1BBL多肽各自包含与以SEQ ID NO:213阐述的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,在Q147处具有氨基酸取代,例如其中氨基酸147是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr、Cys、Met、Asn、Lys、Arg、His、Asp或Glu。在一些情况下,接头包含(GSSSS) n (SEQ ID NO:131)序列,其中 n 是1、2、3、4或5。在一些情况下,接头包含(GSSSS) n (SEQ ID NO:131)序列,其中 n 是4。在一些情况下,接头包含(GSSSS) n (SEQ ID NO:131)序列,其中 n 是5。在一些情况下,接头包含(GGGGS) n 序列,其中 n 是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些情况下,接头包含(GGGGS) n 序列,其中 n 是2。在一些情况下,接头包含(GGGGS) n 序列,其中 n 是3。在一些情况下,接头包含(GGGGS) n 序列,其中 n 是4。在一些情况下,接头包含(GGGGS) n 序列,其中 n 是5。

[0602] 多个免疫调节性结构域

[0603] 如上所指示,在一些情况下,多聚多肽包含两个或更多个免疫调节性多肽。在一些情况下,两个或更多个免疫调节性多肽中的至少一者是变体免疫调节性多肽。举例来说,在IL-2/synTac的情况下,在一些情况下,两个或更多个免疫调节性多肽中的至少一者是变体IL-2多肽。作为另一实例,在4-1BBL/synTac的情况下,在一些情况下,两个或更多个免疫调节性多肽中的至少一者是变体4-1BBL多肽。

[0604] 在一些情况下,多聚多肽包含两个或更多个拷贝的本公开的变体IL-2多肽。在一些情况下,两个或更多个变体IL-2多肽在多聚多肽的同一多肽链上。在一些情况下,两个或更多个变体IL-2多肽在多聚多肽的单独多肽链上。

[0605] 在一些情况下,多聚多肽包含第一免疫调节性多肽以及至少第二免疫调节性多肽,其中所述第一免疫调节性多肽是本公开的变体IL-2多肽,并且所述第二免疫调节性多肽不是IL-2多肽。举例来说,在一些情况下,第二免疫调节性多肽是肿瘤坏死因子(TNF)超家族的成员;例如FasL多肽、4-1BBL多肽、CD40多肽、OX40L多肽、CD30L多肽、CD70多肽等。在一些情况下,多聚多肽的第二免疫调节性多肽是T细胞共刺激性多肽,并且是免疫球蛋白(Ig)超家族的成员;例如CD7多肽、CD86多肽、ICAM多肽等。在一些情况下,第二免疫调节性多肽是4-1BBL、OX40L、ICOS-L、ICAM、PD-L1、CD86、FasL和PD-L2。本公开的多聚多肽的适合免疫调节性多肽包括例如CD7、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受体、3/TR6、ILT3、ILT4或HVEM。

[0606] 可包括在本公开的多聚多肽中的其他T细胞调节性结构域(MOD)包括天然存在的或合成人基因产物(蛋白质)、靶向人基因产物的亲和试剂(例如抗体、抗体片段、单链Fv、适体、纳米体),包括但不限于由经典和非经典(例如FGF2、IL1、S100A4)分泌机理而产生的所有分泌型蛋白质以及通过天然存在的遗传编码蛋白质区段或翻译后修饰(诸如GPI连接)来

锚定的所有细胞表面蛋白(单次或多次跨膜)的胞外域。包括靶向细胞表面聚糖或其他翻译后修饰(例如硫酸化)的任何天然存在的或合成亲和试剂(例如抗体、抗体片段、单链Fv、适体、纳米体、凝集素等)。实例包括但不限于TNF/TNFR家族的成员(0X40L、ICOSL、FASL、LTA、LTB TRAIL、CD153、TNFSF9、RANKL、TWEAK、TNFSF13、TNFSF13b、TNFSF14、TNFSF15、TNFSF18、CD40LG、CD70)或针对TNF/TNFR家族成员的亲和试剂;免疫球蛋白超家族的成员(VISTA、PD1、PD-L1、PD-L2、B71、B72、CTLA4、CD28、TIM3、CD4、CD8、CD19、T细胞受体链、ICOS、ICOS配体、HHLA2、嗜乳脂蛋白、BTLA、B7-H3、B7-H4、CD3、CD79a、CD79b、IgSF CAMS(包括CD2、CD58、CD48、CD150、CD229、CD244、ICAM-1)、白细胞免疫球蛋白样受体(LILR)、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR))、凝集素超家族成员、选择素、细胞因子/趋化因子和细胞因子/趋化因子受体、生长因子和生长因子受体、粘附分子(整合素、纤维连接蛋白、钙粘着蛋白)、或多跨整合膜蛋白的胞外域、或针对免疫球蛋白超家族和所列基因产物的亲和试剂。此外,包括这些基因产物的活性同源物/直系同源物,包括但不限于病毒序列(例如CMV、EBV)、细菌序列、真菌序列、真核病原体(例如裂体吸虫(Schistosoma)、疟原虫(Plasmodium)、巴贝虫(Babesia)、艾美虫(Eimeria)、泰来虫(Theileria)、弓形虫(Toxoplasma)、内阿米巴(Entamoeba)、利什曼原虫(Leishmania)和锥虫(Trypanosoma))和哺乳动物源性编码区。此外,MOD可包括靶向人基因产物的小分子药物。

[0607] 额外多肽

[0608] 除上述那些多肽之外,多聚多肽的多肽链也可包括一个或多个多肽。适合额外多肽包括表位标签和亲和结构域。一个或多个额外多肽可包括在多聚多肽的多肽链的N末端、多聚多肽的多肽链的C末端、或多聚多肽的多肽链的内部。

[0609] 表位标签

[0610] 适合表位标签包括但不限于血凝素(HA;例如YPYDVDPYA(SEQ ID NO:79));FLAG(例如DYKDDDDK(SEQ ID NO:80));c-myc(例如EQKLISEEDL;SEQ ID NO:81)等。

[0611] 亲和结构域

[0612] 亲和结构域包括可与适用于鉴定或纯化的结合配偶体例如像固定在固体载体上的结合配偶体相互作用的肽序列。当融合于所表达蛋白质时,编码多个连续单一氨基酸诸如组氨酸的DNA序列可用于通过与树脂柱诸如镍琼脂糖树脂柱的高亲和力结合来对重组蛋白进行进一步纯化。示例性亲和结构域包括His5(HHHHH)(SEQ ID NO:82)、HisX6(HHHHHH)(SEQ ID NO:83)、C-myc(EQKLISEEDL)(SEQ ID NO:81)、Flag(DYKDDDDK)(SEQ ID NO:80)、StrepTag(WSHPQFEK)(SEQ ID NO:84)、血凝素例如HA标签(YPYDVDPYA)(SEQ ID NO:79)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、硫氧还蛋白、纤维素结合结构域、RYIRS(SEQ ID NO:85)、Phe-His-His-Thr(SEQ ID NO:86)、几丁质(chitin)结合结构域、S肽、T7肽、SH2结构域、C末端RNA标签、WEAAAREACCRECCARA(SEQ ID NO:87)、金属结合结构域例如锌结合结构域或钙结合结构域诸如来自钙结合蛋白(例如钙调蛋白(calmodulin)、肌钙蛋白C(troponin C)、钙调神经磷酸酶B(calcineurin B)、肌球蛋白(myosin)轻链、恢复蛋白(recoverin)、S-调节蛋白(S-modulin)、视锥蛋白(visinin)、VILIP、神经钙蛋白(neurocalcin)、海马钙蛋白(hippocalcin)、频蛋白(frequenin)、钙牵蛋白(caltractin)、钙蛋白酶(calpain)大亚单位、S100蛋白、小白蛋白(parvalbumin)、钙结合蛋白D9K(calbindin D9K)、钙结合蛋白D28K和钙网膜蛋白(calretinin))的那些、内含肽(intein)、生物素、链霉亲和素、MyoD、Id、亮氨

酸拉链序列和麦芽糖结合蛋白。

[0613] IL-2/多聚多肽的实例

[0614] 以下是适用于本公开的治疗方法中的IL-2/synTac多聚多肽的非限制性实施方案。

[0615] 在一些情况下,IL-2/synTac多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii)包含图34A中描绘的氨基酸序列的 β 2-微球蛋白(β 2M)多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)本公开的变体IL-2多肽;ii)包含图34C中描绘的氨基酸序列的主要组织相容性复合物(MHC)重链多肽;和iii)包含一个或多个选自N297A、L234A、L235A、L234F、L235E和P331S的氨基酸取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,变体IL-2多肽包含H16A和F42A取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含N297A取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含L234A取代和L235A取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含L234F取代和L235E取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含L234F取代、L235E取代和P331S取代。在一些情况下,第二多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽。在一些情况下,第一多肽在表位与 β 2M多肽之间包含肽接头。在一些情况下,第二多肽在以下中的一者或多者之间包含肽接头:a)第一拷贝的变体IL-2多肽与第二拷贝的变体IL-2多肽;b)变体IL-2多肽与MHC重链多肽;和c)MHC重链多肽与IgG1 Fc多肽之间。在一些情况下,肽接头选自(GGGGS)₃(SEQ ID NO:207)、(GGGGS)₄(SEQ ID NO:208)和AAAGG(SEQ ID NO:73)。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33B中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33C中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33D中描绘的氨基酸序列。

[0616] 在一些情况下,多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)表位;ii)包含图34A中描绘的氨基酸序列的 β 2-微球蛋白多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)包含图34B中描绘的氨基酸序列的变体IL-2多肽;ii)包含图34C中描绘的氨基酸序列的主要组织相容性复合物(MHC)重链多肽;和iii)包含一个或多个选自N297A、L234A、L235A、L234F、L235E和P331S的氨基酸取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含N297A取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含L234A取代和L235A取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含L234F取代和L235E取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含L234F取代、L235E取代和P331S取代。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33B中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33C中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33D中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,第二多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽。在一些情况下,第一多肽在表位与 β 2M多肽之间包含肽接头。在一些情况下,第二多肽在以下中的一者或多者之间包含肽接头:a)第一拷贝的变体IL-2多肽与第二拷贝的变体IL-2多肽;b)变体IL-2多肽与MHC重链多肽;和c)MHC重链多肽与IgG1 Fc多肽之间。在一些情况下,肽接头选自(GGGGS)₃(SEQ ID NO:207)、(GGGGS)₄(SEQ ID NO:208)和AAAGG(SEQ ID NO:73)。

[0617] 在一些情况下,多聚多肽包含:a)第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)包含氨基酸序列YMLDLQPETT(SEQ ID NO:77)的表位;ii)包含图34A中描绘的氨基酸序列的 β 2-微球蛋白多肽;以及b)第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:i)包含图34B中描绘的氨基酸序列的变体IL-2多肽;ii)包含图34C中描绘的氨基酸序列的主要组织相容性复合物(MHC)重链多肽;和iii)包含图33A、图33B、图33C或图33D中描绘的氨基酸序列的IgG1 Fc多

肽。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33B中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33C中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1Fc多肽包含图33D中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,第二多肽包含两个拷贝的变体IL-2多肽。在一些情况下,第一多肽在表位与 β 2M多肽之间包含肽接头。在一些情况下,第二多肽在以下中的一者或多者之间包含肽接头:a) 第一拷贝的变体IL-2多肽与第二拷贝的变体IL-2多肽;b) 变体IL-2多肽与MHC重链多肽;和c) MHC重链多肽与IgG1 Fc多肽之间。在一些情况下,肽接头选自 (GGGGS)₃ (SEQ ID NO:207)、(GGGGS)₄ (SEQ ID NO:208) 和AAAGG (SEQ ID NO:73)。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33B中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33C中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,IgG1 Fc多肽包含图33D中描绘的氨基酸序列。

[0618] 在一些情况下,多聚多肽包含:a) 包含图31中描绘的氨基酸序列的第一多肽;和b) 包含图22中描绘的氨基酸序列的第二多肽。

[0619] 在一些情况下,多聚多肽包含:a) 包含图31中描绘的氨基酸序列的第一多肽;和b) 包含图25中描绘的氨基酸序列的第二多肽。

[0620] 在一些情况下,多聚多肽包含:a) 包含图31中描绘的氨基酸序列的第一多肽;和b) 包含图28中描绘的氨基酸序列的第二多肽。

[0621] 制剂、剂量和施用途径

[0622] 在进行本公开的治疗方法时,synTac可以包含药学上可接受的赋形剂的组合物形式配制,并且免疫检查点抑制剂可以包含药学上可接受的赋形剂的组合物形式配制。为简单起见,术语“活性剂”在以下用于指代synTac或免疫检查点抑制剂。一般来说,synTac和免疫检查点抑制剂存在于单独组合物中。

[0623] 组合物可包含药学上可接受的赋形剂,其中多种在本领域中是已知的,并且无需在本文中详细讨论。药学上可接受的赋形剂已充分描述于多种出版物中,包括例如“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”,第19版(1995)或最新版,Mack Publishing Co;A.Gennaro(2000)“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”,第20版,Lippincott,Williams,&Wilkins;Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(1999)H.C.Ansel等人编第7版,Lippincott,Williams,&Wilkins;以及Handbook of Pharmaceutical Excipients(2000)A.H.Kibbe等人编,第3版Amer.Pharmaceutical Assoc。

[0624] 药物组合物可包含synTac或免疫检查点抑制剂以及药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,药物组合物将适于向受试者施用,例如将是无菌的。举例来说,在一些情况下,药物组合物将适于向人受试者施用,例如其中组合物是无菌的,并且不含可检测热原和/或其他毒素。

[0625] 组合物可包含其他组分,诸如药品级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁等。组合物可含有如为接近生理条件所需的药学上可接受的辅助物质,诸如pH调整和缓冲剂、毒性调整剂等,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠、盐酸盐、硫酸盐、溶合剂(例如混合离子盐、水、有机物)、水合剂(例如水)等。

[0626] 举例来说,组合物可包括水溶液、粉末形式、颗粒剂、片剂、丸剂、栓剂、胶囊、混悬液、喷雾剂等。组合物可根据下述各种施用途径来配制。

[0627] 当活性剂(synTac或免疫检查点抑制剂)以可注射剂形式(例如以皮下、腹膜内、肌

肉内和/或静脉内方式)直接向组织中施用,制剂可被提供为即用型剂型或非水性形式(例如可复原储存稳定粉剂)或水性形式诸如由药学上可接受的载体和赋形剂组成的液体。也可提供制剂以便使得在施用之后,活性剂的血清半衰期增强。举例来说,蛋白质可以制备成胶体的脂质体制剂形式提供,或通过用于使血清半衰期延长的其他常规技术来提供。多种方法可用于制备脂质体,如例如Szoka等1980 Ann.Rev.Biophys.Bioeng.9:467,美国专利号4,235,871、4,501,728和4,837,028中所述。制剂也可以控制释放或缓慢释放形式提供。

[0628] 适于胃肠外施用的制剂的其他实例包括等张无菌注射溶液、抗氧化剂、制菌剂以及致使制剂与预定接受者的血液等张的溶质、混悬剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。举例来说,主题药物组合物可存在于容器例如无菌容器诸如注射器中。制剂可被呈现于单位剂量或多剂量密封容器诸如安瓿和小瓶中,并且可以冷冻干燥(冻干)状态储存,仅需要在使用之前立刻添加注射用无菌液体赋形剂例如水。即时注射溶液和混悬液可由无菌粉剂、颗粒剂和片剂制备。

[0629] 制剂中的活性剂(synTac或免疫检查点抑制剂)的浓度可广泛变化(例如以重量计,从小于约0.1%,通常处于或是至少约2%,至多达20%至50%或更多),并且将通常主要基于流体体积、粘度和基于患者的因素,根据所选特定施用模式和患者的需要来选择。

[0630] 本公开提供一种包含活性剂(synTac或免疫检查点抑制剂)的容器,例如包含含有活性剂的液体组合物的容器。容器可为例如注射器、安瓿等。在一些情况下,容器是无菌的。在一些情况下,容器与组合物两者均是无菌的。

[0631] 本公开提供包含活性剂(synTac或免疫检查点抑制剂)的组合物,包括药物组合物。组合物可包含:a)活性剂(synTac或免疫检查点抑制剂);和b)如上所述的赋形剂。在一些情况下,赋形剂是药学上可接受的赋形剂。

[0632] 包含核酸或重组表达载体的组合物

[0633] 在一些情况下,synTac以多聚多肽本身形式施用。在其他情况下,施用一种或多种包含编码synTac的核苷酸序列的核酸,而非以多聚多肽本身形式施用synTac。核酸可存在于药物组合物中。药物组合物可包含一种或多种包含一种或多种核酸的重组表达载体。广泛多种药学上可接受的赋形剂在本领域中是已知的,并且无需在本文中详细讨论。药学上可接受的赋形剂已充分描述于多种出版物中,包括例如A.Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy",第20版,Lippincott,Williams,&Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(1999)H.C.Ansel等人编第7版,Lippincott,Williams,&Wilkins;以及Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000)A.H.Kibbe等人编,第3版Amer.Pharmaceutical Assoc。

[0634] 药物制剂可以约0.001%至约90% (w/w) 的量包括本公开的核酸或重组表达载体。在描述制剂时,在以下,“核酸或重组表达载体”应被理解为包括包含编码synTac的核苷酸序列的核酸或重组表达载体。

[0635] 可使核酸或重组表达载体与其他化合物或化合物的混合物掺混,用其他化合物或化合物的混合物囊封,与其他化合物或化合物的混合物缀合或以其他方式与其他化合物或化合物的混合物缔合;所述化合物可包括例如脂质体或靶向受体的分子。核酸或重组表达载体可与一种或多种有助于摄取、分布和/或吸收的组分一起在制剂中组合。

[0636] 可将核酸或重组表达载体组合物配制成许多可能剂型中的任一者,所述剂型诸如但不限于片剂、胶囊、凝胶胶囊、液体糖浆、软质凝胶剂、栓剂和灌肠剂。也可将核酸或重组表达载体组合物配制成于水性、非水性或混合介质中的混悬液。水性混悬液可进一步含有使混悬液的粘度增加的物质,包括例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或右旋糖酐。混悬液也可含有稳定剂。

[0637] 包含核酸或重组表达载体的制剂可为脂质体制剂。如本文所用,术语“脂质体”意指由在一个或多个球形双层中排列的两亲性脂质组成的囊泡。脂质体是单层或多层囊泡,其具有由亲脂性物质形成的膜和含有待递送的组合物的水性内部。阳离子脂质体是可与带负电荷DNA分子相互作用以形成稳定复合物的带正电荷脂质体。pH敏感性或带负电荷的脂质体据信会圈闭DNA而非与它复合。阳离子脂质体与非阳离子脂质体两者均可用于递送主题核酸或重组表达载体。

[0638] 脂质体也包括“在空间上稳定的”脂质体,这是如本文所用的指代包含一种或多种专门化脂质的脂质体的术语,所述脂质在并入脂质体中时导致相对于缺乏所述专门化脂质的脂质体,循环寿命增强。在空间上稳定的脂质体的实例是其中脂质体的形成囊泡的脂质部分的一部分包含一种或多种糖脂或用一种或多种亲水性聚合物诸如聚乙二醇(PEG)部分加以衍生的那些脂质体。脂质体和它们的使用进一步描述于美国专利号6,287,860中,所述美国专利以引用的方式整体并入本文。

[0639] 本公开的制剂和组合物也可包括表面活性剂。表面活性剂在药物产品、制剂中以及在乳液中的使用在本领域中是熟知的。表面活性剂和它们的使用进一步描述于美国专利号6,287,860中。

[0640] 在一个实施方案中,包括各种渗透增强剂以实现对核酸的高效递送。除辅助非亲脂性药物跨越细胞膜进行扩散之外,渗透增强剂也使亲脂性药物的渗透性增强。渗透增强剂可被分类为属于五个宽泛种类中的一者:即表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合非表面活性剂。渗透增强剂和它们的使用进一步描述于美国专利号6,287,860中,所述美国专利以引用的方式整体并入本文。

[0641] 用于口服施用的组合物和制剂包括粉剂或颗粒剂、微粒、纳米颗粒、于水或非水性介质中的混悬液或水溶液、胶囊、凝胶胶囊、小袋剂、片剂或小片剂。增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或粘合剂可为合乎需要的。适合口服制剂包括其中主题反义核酸与一种或多种渗透增强剂表面活性剂和螯合剂联合施用的那些。适合表面活性剂包括但不限于脂肪酸和/或其酯或盐、胆汁酸和/或其盐。适合胆汁酸/盐和脂肪酸以及它们的使用进一步描述于美国专利号6,287,860中。也适合的是渗透增强剂的组合,例如脂肪酸/盐与胆汁酸/盐组合。一示例性适合组合是月桂酸的钠盐、癸酸和UDCA。其他渗透增强剂包括但不限于聚氧乙烯-9-月桂基醚和聚氧乙烯-20-鲸蜡基醚。适合渗透增强剂也包括丙二醇、二甲亚砜、三乙醇胺、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、2-吡咯烷酮及其衍生物、四氢呋喃甲醇和AZONE™。

[0642] 治疗方法

[0643] 本公开提供一种治疗方法,其包括施用synTac和免疫检查点抑制剂。在一些情况下,方法包括向有需要的个体施用:a)包含synTac的第一组合物;和b)包含免疫检查点抑制剂的第二组合物。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用:a)包含一种

或多种包含编码synTac的核苷酸序列的重组表达载体的第一组合物;和b) 包含免疫检查点抑制剂的第二组合物。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用:a) 包含一种或多种包含编码多聚多肽的核苷酸序列的mRNA分子的第一组合物;和b) 包含免疫检查点抑制剂的第二组合物。在一些情况下,免疫检查点抑制剂是对免疫检查点多肽具有特异性的抗体。

[0644] 因此,举例来说,本公开的治疗方法可包括共同施用synTac (例如如上所述的4-1BBL synTac、IL-2synTac等) 和对免疫检查点具有特异性的抗体。就“共同施用”来说,其意指向个体施用synTac (例如如上所述的4-1BBL synTac、IL-2synTac等) 与对免疫检查点具有特异性的抗体两者,但未必在相同时间,以实现是已施用synTac与免疫检查点抑制剂两者的结果的治疗作用。对synTac (例如4-1BBL synTac、IL-2synTac等) 和对免疫检查点具有特异性的抗体的施用可为大致上同时的,例如可在施用对免疫检查点具有特异性的抗体的约1分钟至约24小时内 (例如在约1分钟内,在约5分钟内,在约15分钟内,在约30分钟内,在约1小时内,在约4小时内,在约8小时内,在约12小时内,或在约24小时内) 向个体施用synTac (例如4-1BBL synTac、IL-2synTac等)。在一些情况下,向正经受用对免疫检查点具有特异性的抗体进行的治疗的个体施用synTac (例如4-1BBL synTac、IL-2synTac等)。对synTac (例如4-1BBL synTac、IL-2synTac等) 和对免疫检查点具有特异性的抗体的施用可在不同时间和/或在不同频率下发生。

[0645] 因此,举例来说,本公开的治疗方法可包括共同施用4-1BBL synTac和对免疫检查点具有特异性的抗体。就“共同施用”来说,其意指向个体施用4-1BBL synTac与对免疫检查点具有特异性的抗体两者,但未必在相同时间,以实现是已施用synTac与免疫检查点抑制剂两者的结果的治疗作用。对4-1BBL synTac和对免疫检查点具有特异性的抗体的施用可为大致上同时的,例如可在施用对免疫检查点具有特异性的抗体的约1分钟至约24小时内 (例如在约1分钟内,在约5分钟内,在约15分钟内,在约30分钟内,在约1小时内,在约4小时内,在约8小时内,在约12小时内,或在约24小时内) 向个体施用4-1BBL synTac。在一些情况下,向正经受用对免疫检查点具有特异性的抗体进行的治疗的个体施用4-1BBL synTac。对4-1BBL synTac和对免疫检查点具有特异性的抗体的施用可在不同时间和/或在不同频率下发生。

[0646] 作为另一实例,本公开的治疗方法可包括共同施用synTac (例如如上所述的IL-2synTac) 和对免疫检查点具有特异性的抗体。就“共同施用”来说,其意指向个体施用IL-2synTac与对免疫检查点具有特异性的抗体两者,但未必在相同时间,以实现是已施用synTac与免疫检查点抑制剂两者的结果的治疗作用。对IL-2synTac和对免疫检查点具有特异性的抗体的施用可为大致上同时的,例如可在施用对免疫检查点具有特异性的抗体的约1分钟至约24小时内 (例如在约1分钟内,在约5分钟内,在约15分钟内,在约30分钟内,在约1小时内,在约4小时内,在约8小时内,在约12小时内,或在约24小时内) 向个体施用IL-2synTac。在一些情况下,向正经受用对免疫检查点具有特异性的抗体进行的治疗的个体施用IL-2synTac。对IL-2synTac和对免疫检查点具有特异性的抗体的施用可在不同时间和/或在不同频率下发生。

[0647] 本公开提供一种治疗方法,其包括施用synTac和免疫检查点抑制剂。本公开的治疗方法可调节靶标T细胞的活性。在一些情况下,例如当靶标T细胞是CD8⁺T细胞时,多聚多

肽包含I类MHC多肽(例如 $\beta 2$ -微球蛋白和I类MHC重链)。在一些情况下,例如当靶标T细胞是 $CD4^+$ T细胞时,多聚多肽包含II类MHC多肽(例如II类MHC α 链;II类MHC β 链)。

[0648] 当多聚多肽包括是活化性多肽的免疫调节性多肽时,本公开的方法使表位特异性T细胞活化。在一些情况下,表位特异性T细胞是对存在于癌细胞上的表位具有特异性的T细胞,并且使所述表位特异性T细胞与多聚多肽接触会使所述T细胞对所述癌细胞的细胞毒性活性增加。在一些情况下,表位特异性T细胞是对存在于癌细胞上的表位具有特异性的T细胞,并且本公开的方法使所述表位特异性T细胞的数目增加。

[0649] 在一些情况下,表位特异性T细胞是对存在于受病毒感染细胞上的表位具有特异性的T细胞,并且本公开的方法使所述T细胞对所述受病毒感染细胞的细胞毒性活性增加。在一些情况下,表位特异性T细胞是对存在于受病毒感染细胞上的表位具有特异性的T细胞,并且本公开的方法使所述表位特异性T细胞的数目增加。

[0650] 当本公开的多聚多肽包括是抑制性多肽的免疫调节性多肽时,本公开的方法抑制表位特异性T细胞。在一些情况下,表位特异性T细胞是对存在于自身抗原中的表位具有特异性的自身反应性T细胞,并且本公开的方法使所述自身反应性T细胞的数目降低。

[0651] 在一些情况下,免疫调节性多肽是活化性多肽,并且多聚多肽使表位特异性T细胞活化。在一些情况下,表位是癌症相关表位,并且多聚多肽使对所述癌症相关表位具有特异性的T细胞的活性增加。

[0652] 在一些情况下,本公开的治疗方法治疗患有癌症的个体的所述癌症。因此,本公开提供一种治疗个体的癌症的方法,所述方法包括向所述个体施用:a)本公开的多聚多肽或一种或多种包含编码所述多聚多肽的核苷酸序列的核酸(例如表达载体;mRNA;等),其中所述多聚多肽包含是癌症表位的T细胞表位,并且其中所述多聚多肽包含刺激性免疫调节性多肽;和b)免疫检查点抑制剂。在一些情况下,多聚多肽和免疫检查点抑制剂的“有效量”是在以一次或多次剂量向有需要的个体施用时,使所述个体中的癌细胞的数目降低的量。举例来说,在一些情况下,多聚多肽和免疫检查点抑制剂的“有效量”是在以一次或多次剂量向有需要的个体施用时,相较于所述个体中在施用所述多聚多肽和所述免疫检查点抑制剂之前或在不存在用所述多聚多肽和所述免疫检查点抑制剂进行施用下的癌细胞的数目,使所述个体中的癌细胞的数目降低至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况下,多聚多肽和免疫检查点抑制剂的“有效量”是在以一次或多次剂量向有需要的个体施用时,使所述个体中的癌细胞的数目降低至不可检测水平的量。在一些情况下,多聚多肽和免疫检查点抑制剂的“有效量”是在以一次或多次剂量向有需要的个体施用时,使所述个体中的肿瘤质量降低的量。举例来说,在一些情况下,多聚多肽和免疫检查点抑制剂的“有效量”是在以一次或多次剂量向有需要的个体施用时,相较于所述个体中在施用所述多聚多肽和所述免疫检查点抑制剂之前或在不存在用所述多聚多肽和所述免疫检查点抑制剂进行施用下的肿瘤质量,使所述个体中的肿瘤质量降低至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况下,多聚多肽和免疫检查点抑制剂的“有效量”是在以一次或多次剂量向有需要的个体施用时,使所述个体的存活时间增加的量。举例来说,在一些情况下,多聚多肽和免疫检查点抑制剂的“有效量”是在以一次或多次剂量向有需要的个体施用时,相较于所述个体

的在不存在用所述多聚多肽和所述免疫检查点抑制剂进行施用下的预期存活时间,使所述个体的存活时间增加至少1个月、至少2个月、至少3个月、3个月至6个月、6个月至1年、1年至2年、2年至5年、5年至10年、或超过10年的量。

[0653] 在一些情况下,表位特异性T细胞是对存在于受病毒感染细胞上的表位具有特异性的T细胞,并且本公开的方法使所述T细胞对所述受病毒感染细胞的细胞毒性活性增加。在一些情况下,表位特异性T细胞是对存在于受病毒感染细胞上的表位具有特异性的T细胞,并且本公开的方法使所述表位特异性T细胞的数目增加。

[0654] 如上所指示,在一些情况下,在进行主题治疗方法时,多聚多肽以多肽本身形式向有需要的个体施用。在其他情况下,在进行主题治疗方法时,向有需要的个体施用一种或多种包含编码多聚多肽的核苷酸序列的核酸。因此,在其他情况下,向有需要的个体施用一种或多种编码synTac的核酸。

[0655] 剂量-synTac

[0656] synTac的适合剂量可由主治医师或其他有资格的医务人员基于各种临床因素来确定。如医学领域中所熟知,用于任一患者的剂量都取决于许多因素,包括患者的身材、体表面积、年龄、待施用的特定多肽或核酸、患者的性别、施用时间和途径、总体健康状况以及并行施用的其他药物。多聚多肽(synTac)可以在每剂1ng/kg体重与20mg/kg体重之间,例如在0.1mg/kg体重至10mg/kg体重之间,例如在0.5mg/kg体重至5mg/kg体重之间的量施用;然而,设想低于或高于这个示例性范围的剂量,尤其在考虑以上提及的因素的情况下。如果方案是连续输注,那么它也可在每分钟每千克体重1 μ g至10mg的范围内。多聚多肽可以约1mg/kg体重至50mg/kg体重,例如约1mg/kg体重至约5mg/kg体重、约5mg/kg体重至约10mg/kg体重、约10mg/kg体重至约15mg/kg体重、约15mg/kg体重至约20mg/kg体重、约20mg/kg体重至约25mg/kg体重、约25mg/kg体重至约30mg/kg体重、约30mg/kg体重至约35mg/kg体重、约35mg/kg体重至约40mg/kg体重、或约40mg/kg体重至约50mg/kg体重的量施用。

[0657] 在一些情况下,多聚多肽的适合剂量是每kg体重0.01 μ g至100g、每kg体重0.1 μ g至10g、每kg体重1 μ g至1g、每kg体重10 μ g至100mg、每kg体重100 μ g至10mg、或每kg体重100 μ g至1mg。本领域普通技术人员可易于基于所施用药剂在体液或组织中的测量滞留时间和浓度来估计给药重复频率。在成功治疗之后,可合乎需要的是使患者经受维持疗法以防止疾病状态的复发,其中多聚多肽以在每kg体重0.01 μ g至100g、每kg体重0.1 μ g至10g、每kg体重1 μ g至1g、每kg体重10 μ g至100mg、每kg体重100 μ g至10mg、或每kg体重100 μ g至1mg的范围内的维持剂量施用。

[0658] 技术人员将易于了解剂量水平可随特定多聚多肽、症状的严重性以及受试者对副作用的易感性而变化。给定化合物的优选剂量可易于由本领域技术人员通过多种手段来确定。

[0659] 在一些实施方案中,施用多次剂量的多聚多肽(或编码所述多聚多肽的核酸或重组表达载体)。多聚多肽的施用频率可视多种因素中的任一者而变化,例如症状的严重性等。举例来说,在一些实施方案中,每个月一次、每个月两次、每个月三次、每隔一周(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一天(qod)、每日(qd)、一天两次(qid)或一天三次(tid)施用多聚多肽。

[0660] 多聚多肽的施用持续时间,例如施用多聚多肽所历经的时期,可视多种因素中的

任一者而变化,例如患者响应等。举例来说,多聚多肽可历经在约一天至约一周、约两周至约四周、约一个月至约两个月、约两个月至约四个月、约四个月至约六个月、约六个月至约八个月、约八个月至约1年、约1年至约2年、或约2年至约4年的范围内或更久的时期施用。

[0661] synTac的适合剂量可由主治医师或其他有资格的医务人员基于各种临床因素来确定。如医学领域中所熟知,用于任一患者的剂量都取决于许多因素,包括患者的身材、体表面积、年龄、待施用的特定多肽或核酸、患者的性别、施用时间和途径、总体健康状况以及并行施用的其他药物。多聚多肽(synTac)可以在每剂1ng/kg体重与20mg/kg体重之间,例如在0.1mg/kg体重至10mg/kg体重之间,例如在0.5mg/kg体重至5mg/kg体重之间的量施用;然而,设想低于或高于这个示例性范围的剂量,尤其在考虑以上提及的因素的情况下。如果方案是连续输注,那么它也可在每分钟每千克体重1 μ g至10mg的范围内。多聚多肽可以约1mg/kg体重至50mg/kg体重,例如约1mg/kg体重至约5mg/kg体重、约5mg/kg体重至约10mg/kg体重、约10mg/kg体重至约15mg/kg体重、约15mg/kg体重至约20mg/kg体重、约20mg/kg体重至约25mg/kg体重、约25mg/kg体重至约30mg/kg体重、约30mg/kg体重至约35mg/kg体重、约35mg/kg体重至约40mg/kg体重、或约40mg/kg体重至约50mg/kg体重的量施用。

[0662] 在一些情况下,多聚多肽的适合剂量是每kg体重0.01 μ g至100g、每kg体重0.1 μ g至10g、每kg体重1 μ g至1g、每kg体重10 μ g至100mg、每kg体重100 μ g至10mg、或每kg体重100 μ g至1mg。本领域普通技术人员可易于基于所施用药剂在体液或组织中的测量滞留时间和浓度来估计给药重复频率。在成功治疗之后,可合乎需要的是使患者经受维持疗法以防止疾病状态的复发,其中多聚多肽以在每kg体重0.01 μ g至100g、每kg体重0.1 μ g至10g、每kg体重1 μ g至1g、每kg体重10 μ g至100mg、每kg体重100 μ g至10mg、或每kg体重100 μ g至1mg的范围内的维持剂量施用。

[0663] 技术人员将易于了解剂量水平可随特定多聚多肽、症状的严重性以及受试者对副作用的易感性而变化。给定化合物的优选剂量可易于由本领域技术人员通过多种手段来确定。

[0664] 在一些实施方案中,施用多次剂量的多聚多肽(或编码所述多聚多肽的核酸或重组表达载体)。多聚多肽的施用频率可视多种因素中的任一者而变化,例如症状的严重性等。举例来说,在一些实施方案中,每个月一次、每个月两次、每个月三次、每隔一周(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一天(qod)、每日(qd)、一天两次(qid)或一天三次(tid)施用多聚多肽。

[0665] 多聚多肽的施用持续时间,例如施用多聚多肽所历经的时期,可视多种因素中的任一者而变化,例如患者响应等。举例来说,多聚多肽可历经在约一天至约一周、约两周至约四周、约一个月至约两个月、约两个月至约四个月、约四个月至约六个月、约六个月至约八个月、约八个月至约1年、约1年至约2年、或约2年至约4年的范围内或更久的时期施用。

[0666] 剂量-免疫检查点抑制剂

[0667] 免疫检查点抑制剂的适合剂量可由主治医师或其他有资格的医务人员基于各种临床因素来确定。如医学领域中所熟知,用于任一患者的剂量都取决于许多因素,包括患者的身材、体表面积、年龄、待施用的特定多肽或核酸、患者的性别、施用时间和途径、总体健康状况以及并行施用的其他药物。免疫检查点抑制剂可以在每剂1ng/kg体重与20mg/kg体重之间,例如在0.1mg/kg体重至10mg/kg体重之间,例如在0.5mg/kg体重至5mg/kg体重之间

的量施用;然而,设想低于或高于这个示例性范围的剂量,尤其在考虑以上提及的因素的情况下。如果方案是连续输注,那么它也可在每分钟每千克体重 $1\mu\text{g}$ 至 10mg 的范围内。免疫检查点抑制剂可以约 $1\text{mg}/\text{kg}$ 体重至 $50\text{mg}/\text{kg}$ 体重,例如约 $1\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $5\text{mg}/\text{kg}$ 体重、约 $5\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $10\text{mg}/\text{kg}$ 体重、约 $10\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $15\text{mg}/\text{kg}$ 体重、约 $15\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $20\text{mg}/\text{kg}$ 体重、约 $20\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $25\text{mg}/\text{kg}$ 体重、约 $25\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $30\text{mg}/\text{kg}$ 体重、约 $30\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $35\text{mg}/\text{kg}$ 体重、约 $35\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $40\text{mg}/\text{kg}$ 体重、或约 $40\text{mg}/\text{kg}$ 体重至约 $50\text{mg}/\text{kg}$ 体重的量施用。

[0668] 在一些情况下,免疫检查点抑制剂的适合剂量是每 kg 体重 $0.01\mu\text{g}$ 至 100g 、每 kg 体重 $0.1\mu\text{g}$ 至 10g 、每 kg 体重 $1\mu\text{g}$ 至 1g 、每 kg 体重 $10\mu\text{g}$ 至 100mg 、每 kg 体重 $100\mu\text{g}$ 至 10mg 、或每 kg 体重 $100\mu\text{g}$ 至 1mg 。本领域普通技术人员可易于基于所施用药剂在体液或组织中的测量滞留时间和浓度来估计给药重复频率。在成功治疗之后,可合乎需要的是使患者经受维持疗法以防止疾病状态的复发,其中免疫检查点抑制剂以在每 kg 体重 $0.01\mu\text{g}$ 至 100g 、每 kg 体重 $0.1\mu\text{g}$ 至 10g 、每 kg 体重 $1\mu\text{g}$ 至 1g 、每 kg 体重 $10\mu\text{g}$ 至 100mg 、每 kg 体重 $100\mu\text{g}$ 至 10mg 、或每 kg 体重 $100\mu\text{g}$ 至 1mg 的范围内的维持剂量施用。

[0669] 技术人员将易于了解剂量水平可随特定免疫检查点抑制剂、症状的严重性以及受试者对副作用的易感性而变化。给定化合物的优选剂量可易于由本领域技术人员通过多种手段来确定。

[0670] 在一些实施方案中,施用多次剂量的免疫检查点抑制剂。免疫检查点抑制剂的施用频率可视多种因素中的任一者而变化,例如症状的严重性等。举例来说,在一些实施方案中,每个月一次、每个月两次、每个月三次、每隔一周(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一天(qod)、每日(qd)、一天两次(qid)或一天三次(tid)施用多聚多肽。

[0671] 免疫检查点抑制剂的施用持续时间,例如施用免疫检查点抑制剂所历经的时期,可视多种因素中的任一者而变化,例如患者响应等。举例来说,免疫检查点抑制剂可历经在约一天至约一周、约两周至约四周、约一个月至约两个月、约两个月至约四个月、约四个月至约六个月、约六个月至约八个月、约八个月至约1年、约1年至约2年、或约2年至约4年的范围内或更久的时期施用。

[0672] 以下是非限制性实例。

[0673] 帕博利珠单抗可以 $2\text{mg}/\text{kg}$ 的量每3周向有需要的个体施用。帕博利珠单抗可以 200mg 的量每3周向有需要的个体施用。在一些情况下,本公开的方法提供PD1抗体的需要被施用来实现临床益处的量降低。举例来说,在一些情况下,相较于在不存在用synTac进行治疗下帕博利珠单抗的需要被施用来实现临床益处的量,帕博利珠单抗的需要被施用来实现临床益处的量可降低10%至50%或超过50%。

[0674] 尼鲁单抗可以 $3\text{mg}/\text{kg}$ 的量每2周向有需要的个体施用。尼鲁单抗可以 240mg 的量每2周向有需要的个体施用。在一些情况下,本公开的方法提供PD1抗体的需要被施用来实现临床益处的量降低。举例来说,在一些情况下,相较于在不存在用synTac进行治疗下尼鲁单抗的需要被施用来实现临床益处的量,尼鲁单抗的需要被施用来实现临床益处的量可降低10%至50%或超过50%。

[0675] 阿特珠单抗可以 1200mg 的量每3周向有需要的个体施用。在一些情况下,本公开的

方法提供PD1抗体的需要被施用来实现临床益处的量降低。举例来说,在一些情况下,相较于在不存在用synTac进行治疗下阿特殊单抗的需要被施用来实现临床益处的量,阿特殊单抗的需要被施用来实现临床益处的量可降低10%至50%或超过50%。

[0676] 易普利单抗可以3mg/kg的量每3周向有需要的个体施用。易普利单抗可以10mg/kg的量每3周向有需要的个体施用。易普利单抗可以10mg/kg的量每12周向有需要的个体施用。在一些情况下,本公开的方法提供PD1抗体的需要被施用来实现临床益处的量降低。举例来说,在一些情况下,相较于在不存在用synTac进行治疗下易普利单抗的需要被施用来实现临床益处的量,易普利单抗的需要被施用来实现临床益处的量可降低10%至50%或超过50%。

[0677] 施用途径

[0678] 使用适于药物递送的任何可用方法和途径来向个体施用活性剂(多聚多肽;免疫检查点抑制剂),包括体内和离体方法以及全身性和局部化施用途径。在一些情况下,通过第一施用途径来施用synTac;并且通过不同于所述第一施用途径的第二施用途径来施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,通过相同施用途径来施用synTac和免疫检查点抑制剂。

[0679] 常规和药学上可接受的施用途径包括肿瘤内、肿瘤周围、肌肉内、气管内、颅内、皮下、真皮内、表面施加、静脉内、动脉内、经直肠、经鼻、口服以及其他经肠和胃肠外施用途径。如果需要,那么施用途径可视多聚多肽、免疫检查点抑制剂和/或所需作用而定加以组合或调整。

[0680] 在一些情况下,静脉内施用多聚多肽;并且静脉内施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,肌肉内施用多聚多肽;并且肌肉内施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,局部施用多聚多肽;并且局部施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,肿瘤内施用多聚多肽;并且肿瘤内施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,在肿瘤周围施用多聚多肽;并且在肿瘤周围施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,颅内施用多聚多肽;并且颅内施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,皮下施用多聚多肽;并且皮下施用免疫检查点抑制剂。

[0681] 在一些情况下,静脉内施用多聚多肽;并且在肿瘤周围施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,肌肉内施用多聚多肽;并且静脉内施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,全身性施用多聚多肽;并且局部施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,肿瘤内施用多聚多肽;并且静脉内施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,全身性施用多聚多肽;并且在肿瘤周围施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,静脉内施用多聚多肽,并且颅内施用免疫检查点抑制剂。在一些情况下,皮下施用多聚多肽;并且静脉内施用免疫检查点抑制剂。

[0682] 多聚多肽和免疫检查点抑制剂可使用适于递送常规药物的任何可用常规方法和途径来向宿主施用,包括全身性或局部化途径。一般来说,涵盖用于本公开的方法中的施用途径包括但未必限于经肠、胃肠外和吸入途径。

[0683] 除吸入施用以外的胃肠外施用途径包括但未必限于经表面、经皮、皮下、肌肉内、眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、肿瘤内、肿瘤周围和静脉内途径,即除通过消化道以外的任何施用途径。可进行胃肠外施用以实现活性剂(synTac或免疫检查点抑制剂)的全身性或局部递送。当需要全身性递送时,施用可涉及静脉内递送。

[0684] 适于治疗的受试者

[0685] 适于用本公开的方法治疗的受试者包括患有癌症的个体,包括已被诊断为患有癌

症的个体、已针对癌症加以治疗但未能对治疗起响应的个体、以及已针对癌症加以治疗并且初始对治疗起响应但随后变得为治疗所难治的个体。适于用本公开的方法治疗的受试者包括患有感染(例如病原体(诸如细菌、病毒、原虫等)感染)的个体,包括已被诊断为患有感染的个体以及已针对感染加以治疗但未能对治疗起响应的个体。适于用本公开的方法治疗的受试者包括患有细菌性感染的个体,包括已被诊断为患有细菌性感染的个体以及已针对细菌性感染加以治疗但未能对治疗起响应的个体。适于用本公开的方法治疗的受试者包括患有病毒性感染的个体,包括已被诊断为患有病毒性感染的个体以及已针对病毒性感染加以治疗但未能对治疗起响应的个体。适于用本公开的方法治疗的受试者包括患有自体免疫疾病的个体,包括已被诊断为患有自体免疫疾病的个体以及已针对自体免疫疾病加以治疗但未能对治疗起响应的个体。

[0686] 在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用免疫检查点抑制剂进行的治疗的个体施用synTac。在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用抗PD1抗体进行的治疗的个体施用synTac。举例来说,在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用帕博利珠单抗进行的治疗的个体施用synTac。作为另一实例,在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用尼鲁单抗进行的治疗的个体施用synTac。在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用抗PD-L1抗体进行的治疗的个体施用synTac。举例来说,在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用阿特珠单抗进行的治疗的个体施用synTac。在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用抗CTLA4抗体进行的治疗的个体施用synTac。举例来说,在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用易普利单抗进行的治疗的个体施用synTac。作为另一实例,在一些情况下,本公开的方法包括向正经受用曲美木单抗进行的治疗的个体施用synTac。

[0687] 在一些情况下,例如当表位是HPV表位时,适于用本公开的方法治疗的受试者是已被诊断为患有HPV相关癌症或可归因于HPV的癌症的个体。HPV相关癌症和可归因于HPV的癌症包括例如头颈部癌;子宫颈癌;和生殖肛门癌。

[0688] 连同免疫检查点抑制剂一起向个体选择性递送共刺激性多肽的方法

[0689] 因此,本公开提供一种连同共同施用检查点抑制剂一起,例如以使得对给定表位具有特异性的TCR被靶向的方式向所选T细胞或所选T细胞群体递送共刺激性多肽诸如IL-2、或天然存在的共刺激性多肽的亲合力降低变体诸如本文公开的IL-2变体,以便对患者提供选择性递送所述共刺激性多肽与所述检查点抑制剂两者的治疗作用的方法。本公开提供一种连同共同施用检查点抑制剂一起,选择性地向携带对存在于本公开的多聚多肽中的表位具有特异性的TCR的靶标T细胞递送共刺激性多肽诸如IL-2、或天然存在的共刺激性多肽的亲合力降低变体诸如本文公开的IL-2变体,以便对患者提供选择性递送所述共刺激性多肽与所述检查点抑制剂两者的治疗作用的方法。方法包括使T细胞群体与本公开的多聚多肽接触。T细胞群体可为包含:i) 靶标T细胞;和ii) 不对表位具有特异性的非靶标T细胞(例如对除表位特异性T细胞结合的表位以外的表位具有特异性的T细胞)的混合群体。表位特异性T细胞对存在于多聚多肽中的表位递呈肽具有特异性,并且结合由多聚多肽提供的肽HLA复合物或肽MHC复合物。使T细胞群体与多聚多肽接触会向对存在于多聚多肽中的表位具有特异性的T细胞选择性递送存在于多聚多肽中的共刺激性多肽(例如IL-2或IL-2的亲合力降低变体)。检查点抑制剂与多聚多肽共同施用(一起或在施用多聚多肽之前和/或之后的不同时间),以便对患者提供选择性递送共刺激性多肽与检查点抑制剂两者的治疗作

用。

[0690] 因此,本公开提供一种向患者向靶标T细胞选择性递送(i)如上所述的检查点抑制剂和(ii)共刺激性多肽诸如IL-2、或天然存在的共刺激性多肽的亲和力降低变体诸如本文公开的IL-2变体、或两者组合的方法,所述方法包括使混合T细胞群体与本公开的多聚多肽接触。混合T细胞群体包含靶标T细胞和非靶标T细胞。靶标T细胞对存在于多聚多肽内的表位具有特异性。使混合T细胞群体与本公开的多聚多肽接触会向靶标T细胞递送存在于多聚多肽内的共刺激性多肽。因此,与多聚多肽共同施用检查点抑制剂(一起或在施用多聚多肽之前和/或之后的不同时间)对患者提供选择性递送共刺激性多肽与检查点抑制剂两者的治疗作用。

[0691] 举例来说,使本公开的多聚多肽与包含:i)对存在于多聚多肽中的表位具有特异性的靶标T细胞;和ii)非靶标T细胞例如对不是存在于多聚多肽中的表位的第二表位具有特异性的T细胞的T细胞群体接触。接触群体会导致向靶标T细胞选择性递送存在于多聚多肽中的共刺激性多肽(例如天然存在的共刺激性多肽(例如天然存在的IL-2)或天然存在的共刺激性多肽的亲和力降低变体(例如本文公开的IL-2变体))。因此,例如小于50%、小于40%、小于30%、小于25%、小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于4%、3%、2%或1%的非靶标T细胞结合多聚多肽,因此,存在于多聚多肽中的共刺激性多肽(例如IL-2或IL-2变体)大致上不向非靶标T细胞递送。因此,与多聚多肽共同施用检查点抑制剂(一起或在施用多聚多肽之前和/或之后的不同时间)对患者提供选择性递送共刺激性多肽与检查点抑制剂两者的治疗作用。

[0692] 在一些情况下,T细胞群体在体外。在一些情况下,T细胞群体在体外,并且在体外培养的情形下引发靶标T细胞群体对本公开的多聚多肽的生物应答(例如T细胞活化和/或扩增和/或表型分化)。举例来说,混合T细胞群体可从个体获得,并且可使其与多聚多肽在体外接触。所述接触可包括使T细胞群体单次或多次暴露于确定剂量和/或暴露时程。在一些情况下,所述接触导致选择性结合/活化和/或扩增T细胞群体内的靶标T细胞,并且导致产生经活化和/或经扩增靶标T细胞的群体。作为一实例,混合T细胞群体可为外周血液单核细胞(PBMC)。举例来说,来自患者的PBMC可通过标准血液抽取和PBMC富集技术来获得,随后在标准淋巴细胞培养条件下暴露于0.1-1000nM的本公开的多聚多肽。在混合T细胞群体在确定剂量和时程下进行暴露之前、期间以及之后的时间点,靶标T细胞在体外培养物中的丰度可通过特定肽-MHC多聚体和/或表型标志物和/或功能活性(例如细胞因子ELISpot测定)来监测。在一些情况下,在体外实现抗原特异性细胞的最优丰度和/或表型后,向个体(从其获得混合T细胞群体的个体)施用经活化和/或经扩增靶标T细胞的群体的全部或一部分,所述个体已在施用靶标T细胞之前接受检查点抑制剂的施用和/或将在施用靶标T细胞之后接受检查点抑制剂的施用。

[0693] 在一些情况下,T细胞群体在体外。举例来说,混合T细胞群体从个体获得,并且使其与本公开的多聚多肽在体外接触。可包括在体外细胞培养的情形下使T细胞单次或多次暴露于确定剂量和/或暴露时程的所述接触可用于确定混合T细胞群体是否包括对由多聚多肽递呈的表位具有特异性的T细胞。对多聚多肽的表位具有特异性的T细胞的存在性可通过测定包含混合T细胞群体的样品来确定,所述T细胞群体包含不对表位具有特异性的T细胞(非靶标T细胞),并且可包含对表位具有特异性的T细胞(靶标T细胞)。已知测定可用于检

测靶标T细胞的活化和/或增殖,由此提供可确定特定多聚多肽(synTac)是否具有结合存在于个体中的T细胞的表位,以及因此确定所述多聚多肽是否具有作为治疗性组合物用于那个个体的潜在用途的离体测定。适于检测靶标T细胞的活化和/或增殖的已知测定包括例如流式细胞计量表征T细胞表型和/或抗原特异性和/或增殖。用以检测表位特异性T细胞的存在性的这种测定例如伴随诊断可进一步包括额外测定(例如效应物细胞因子ELISpot测定)和/或适当对照(例如抗原特异性和抗原非特异性多聚肽-HLA染色试剂)以确定多聚多肽是否选择性结合/活化和/或扩增靶标T细胞。因此,举例来说,本公开提供一种检测从个体获得的混合T细胞群体中结合目标表位的靶标T细胞的存在性的方法,所述方法包括:a)在体外使所述混合T细胞群体与本公开的多聚多肽接触,其中所述多聚多肽包含所述目标表位;以及b)检测T细胞应答于所述接触的活化和/或增殖,其中T细胞得以活化和/或增殖指示存在所述靶标T细胞。或者和/或此外,如果使用多聚多肽获得所需T细胞群体的活化和/或扩增(增殖),那么可向个体(其已在施用T细胞之前接受检查点抑制剂的施用和/或将在施用T细胞之后接受检查点抑制剂的施用)返回施用包含经活化/经扩增T细胞的T细胞群体的全部或部分作为疗法。

[0694] 在一些情况下,T细胞群体在体内在个体中。在所述情况下,本公开的用于向表位特异性T细胞选择性递送共刺激性多肽(例如IL-2或亲和力降低IL-2)的方法包括向个体施用多聚多肽。

[0695] 向其选择性递送共刺激性多肽(例如IL-2或亲和力降低IL-2)的表位特异性T细胞在本文中也称为“靶标T细胞”。在一些情况下,靶标T细胞是调控性T细胞(Treg)。在一些情况下,Treg抑制或遏制自体反应性T细胞的活性。

[0696] 在一些情况下,靶标T细胞是细胞毒性T细胞。举例来说,靶标T细胞可为对癌症表位(例如由癌细胞递呈的表位)具有特异性的细胞毒性T细胞。

[0697] 本公开的非限制性方面的实例

[0698] 上述本发明主题的包括各个实施方案的各个方面可在单独或与一个或多个其他方面或实施方案组合的情况下是有益的。在不限制先前描述下,以下提供本公开的指定为方面1-122、方面A-Z、方面AA-ZZ和方面AAA-BBB的某些非限制性方面。如将为本领域技术人员在阅读本公开后显而易见,各个别编号的方面可与任何之前或之后个别编号的方面一起使用或组合。这意图为各个方面的所有所述组合提供支持,并且不限于以下明确提供的方面的组合:

[0699] 方面1.一种包含与以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的变体IL-2多肽,其中相对于以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列,所述变体IL-2多肽具有一个或多个氨基酸取代,并且其中相较于以SEQ ID NO:1阐述的IL-2氨基酸序列对包含具有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列的 α 、 β 和 γ 多肽的IL-2受体(IL2R)的结合亲和力,所述变体IL-2多肽展现对所述IL2R的结合亲和力降低。

[0700] 方面2.如方面1所述的变体IL2多肽,其中所述变体包含对E15、H16、D20、F42、Y45和Q126中的一者或多者的取代。

[0701] 方面3.如方面1或方面2所述的变体IL2多肽,其中变体免疫调节性多肽展现的对所述IL2R的结合亲和力是由以SEQ ID NO:1阐述的所述IL2氨基酸序列展现的对所述IL2R的所述结合亲和力的小于10%至小于50%。

[0702] 方面4.如方面1-3中的任一者所述的变体IL2多肽,其中所述变体包含F42被Ala、Gly、Val、Ile或Leu取代。

[0703] 方面5.如方面1-3中的任一者所述的变体IL2多肽,其中所述变体包含对F42和D20的取代。

[0704] 方面6.如方面1-3中的任一者所述的变体IL2多肽,其中所述变体包含对F42和H16的取代。

[0705] 方面7.如方面1-3中的任一者所述的变体IL2多肽,其中所述变体包含对F42、D20和Y45的取代;或其中所述变体包含对F42、H16和Q126的取代。

[0706] 方面8.一种多聚多肽,其包含:

[0707] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

[0708] i) 表位;

[0709] ii) 第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;以及

[0710] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

[0711] i) 第二MHC多肽;和

[0712] ii) 任选地,免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig骨架,

[0713] 其中所述多聚多肽包含一个或多个免疫调节性结构域,其中所述一个或多个免疫调节性结构域:

[0714] A) 在所述第一多肽的C末端;

[0715] B) 在所述第二多肽的N末端;

[0716] C) 在所述第二多肽的C末端;或

[0717] D) 在所述第一多肽的C末端以及在所述第二多肽的N末端,

[0718] 其中所述一个或多个免疫调节性结构域中的至少一者是方面1-7中的任一者的变体IL2多肽,并且

[0719] 其中相较于包含以SEQ ID NO:1阐述的所述IL2氨基酸序列的对照多聚多肽对包含具有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列的 α 、 β 和 γ 多肽的IL-2受体(IL2R)多肽的结合亲和力,所述多聚多肽展现对所述IL2R的结合亲和力降低。

[0720] 方面9.如方面8所述的多聚多肽,其中:

[0721] a) 所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:

[0722] i) 所述表位;

[0723] ii) 所述第一MHC多肽;和

[0724] iii) 所述变体IL2多肽;并且

[0725] b) 所述第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:

[0726] i) 所述第二MHC多肽;和

[0727] ii) 所述Ig Fc多肽。

[0728] 方面10.如方面8所述的多聚多肽,其中:

[0729] a) 所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:

[0730] i) 所述表位;和

[0731] ii) 所述第一MHC多肽;并且

[0732] b) 所述第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:

- [0733] i) 所述变体IL2多肽;
- [0734] ii) 所述第二MHC多肽;和
- [0735] iii) 所述Ig Fc多肽。
- [0736] 方面11. 如方面8所述的多聚多肽, 其中:
- [0737] a) 所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0738] i) 所述表位;和
- [0739] ii) 所述第一MHC多肽;并且
- [0740] b) 所述第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0741] i) 所述第二MHC多肽;和
- [0742] ii) 所述变体IL2多肽。
- [0743] 方面12. 如方面8所述的多聚多肽, 其中:
- [0744] a) 所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0745] i) 所述表位;和
- [0746] ii) 所述第一MHC多肽;并且
- [0747] b) 第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0748] i) 所述变体IL2多肽;和
- [0749] ii) 所述第二MHC多肽。
- [0750] 方面13. 如方面8所述的多聚多肽, 其中:
- [0751] a) 所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0752] i) 所述表位;
- [0753] ii) 所述第一MHC多肽;和
- [0754] iii) 所述变体IL2多肽;并且
- [0755] b) 所述第二多肽包含所述第二MHC多肽。
- [0756] 方面14. 如方面8所述的多聚多肽, 其中所述非Ig骨架是XTEN多肽、转铁蛋白多肽、弹性蛋白样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。
- [0757] 方面15. 如方面8-14中的任一者所述的多聚多肽, 其中所述第一MHC多肽是 β 2-微球蛋白多肽;并且其中所述第二MHC多肽是I类MHC重链多肽。
- [0758] 方面16. 如方面15所述的多聚多肽, 其中所述 β 2-微球蛋白多肽包含与图6中阐述的氨基酸序列中的一者具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。
- [0759] 方面17. 如方面15所述的多聚多肽, 其中所述I类MHC重链多肽是HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。
- [0760] 方面18. 如方面15所述的多聚多肽, 其中所述I类MHC重链多肽包含与图5A-图5C中的一者中阐述的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。
- [0761] 方面19. 如方面8-14中的任一者所述的多聚多肽, 其中所述第一MHC多肽是II类MHC α 链多肽;并且其中所述第二MHC多肽是II类MHC β 链多肽。
- [0762] 方面20. 如方面8-19中的任一者所述的多聚多肽, 其中所述表位是T细胞表位。
- [0763] 方面21. 如方面8-13和15-20中的任一者所述的多聚多肽, 其中多聚多肽包含Fc多肽, 并且其中所述Ig Fc多肽是IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。

[0764] 方面22.如方面21所述的多聚多肽,其中所述Ig Fc多肽包含与图4A-图4C中描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0765] 方面23.如方面8-22中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第一多肽和所述第二多肽以非共价方式缔合。

[0766] 方面24.如方面8-22中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第一多肽和所述第二多肽彼此共价连接。

[0767] 方面25.如方面24所述的多聚多肽,其中共价连接通过二硫键来达成。

[0768] 方面26.如方面25所述的多聚多肽,其中所述第一MHC多肽或所述表位与所述第一MHC多肽之间的接头包含氨基酸取代以提供第一Cys残基,并且所述第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,并且其中所述二硫键在所述第一Cys残基与所述第二Cys残基之间。

[0769] 方面27.如方面8-26中的任一者所述的多聚多肽,其包含插入在所述表位与所述第一MHC多肽之间的接头。

[0770] 方面28.如方面8-26中的任一者所述的多聚多肽,其包含插入在所述MHC多肽与所述免疫调节性多肽之间的接头。

[0771] 方面29.如方面8-28中的任一者所述的多聚多肽,其包含2个变体IL2多肽。

[0772] 方面30.如方面8-28中的任一者所述的多聚多肽,其包含3个变体IL2多肽。

[0773] 方面31.如方面29或方面30所述的多聚多肽,其中所述2个或3个变体IL2多肽是串联的,并且其中所述多聚多肽在所述变体IL2多肽之间包含接头。

[0774] 方面32.如方面8-28中的任一者所述的多聚多肽,其中所述变体IL2包含对E15、H16、D20、F42、Y45和Q126中的一者或多者的取代。

[0775] 方面33.如方面8-28中的任一者所述的多聚多肽,其中所述变体IL2包含F42被Ala、Gly、Val、Ile或Leu取代。

[0776] 方面34.如方面33所述的多聚多肽,其中所述变体IL2包含对F42和D20的取代。

[0777] 方面35.如方面33所述的多聚多肽,其中所述变体IL2包含对F42和H16的取代。

[0778] 方面36.如方面33所述的多聚多肽,其中所述变体IL2包含对F42、D20和Y45的取代;或其中所述变体IL-2包含对F42、H16和Q126的取代。

[0779] 方面37.一种包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸,

[0780] i) 其中所述重组多肽按从N末端至C末端顺序包含:

[0781] a) 表位;

[0782] b) 第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;

[0783] c) 免疫调节性多肽;

[0784] d) 可蛋白水解裂解接头或核糖体跳跃信号;

[0785] e) 第二MHC多肽;和

[0786] f) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽;

[0787] 其中所述免疫调节性多肽是方面1-7中的任一者的变体免疫调节性多肽;或

[0788] ii) 其中所述重组多肽按从N末端至C末端顺序包含:

[0789] a) 表位;

[0790] b) 第一MHC多肽;

- [0791] c) 可蛋白水解裂解接头或核糖体跳跃信号;
- [0792] d) 免疫调节性多肽
- [0793] e) 第二MHC多肽;和
- [0794] f) Ig Fc多肽,
- [0795] 其中所述免疫调节性多肽是方面1-7中的任一者的变体免疫调节性多肽。
- [0796] 方面38. 如方面37所述的核酸, 其中所述第一MHC多肽是 β 2-微球蛋白多肽; 并且其中所述第二MHC多肽是I类MHC重链多肽。
- [0797] 方面39. 如方面38所述的核酸, 其中所述 β 2-微球蛋白多肽包含与图6中阐述的氨基酸序列中的一者具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。
- [0798] 方面40. 如方面38所述的核酸, 其中所述I类MHC重链多肽是HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。
- [0799] 方面41. 如方面40所述的核酸, 其中所述I类MHC重链多肽包含与图5A-图5C中的任一者中阐述的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。
- [0800] 方面42. 如方面37所述的核酸, 其中所述第一MHC多肽是II类MHC α 链多肽; 并且其中所述第二MHC多肽是II类MHC β 链多肽。
- [0801] 方面43. 如方面37-43中的任一者所述的核酸, 其中所述表位是T细胞表位。
- [0802] 方面44. 如方面37-43中的任一者所述的核酸, 其中所述Ig Fc多肽是IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。
- [0803] 方面45. 如方面44所述的核酸, 其中所述Ig Fc多肽包含与图4A-图4C中描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。
- [0804] 方面46. 如方面37-45中的任一者所述的核酸, 其中所述变体IL2免疫调节性多肽包含对E15、H16、D20、F42、Y45和Q126中的一者或多者的取代。
- [0805] 方面47. 如方面37-46中的任一者所述的核酸, 其中所述多聚多肽包含选自CD7、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受体、3/TR6、ILT3、ILT4和HVEM的第二免疫调节性多肽。
- [0806] 方面48. 如方面37-47中的任一者所述的核酸, 其中所述可蛋白水解裂解接头或核糖体跳跃信号包含选自以下的氨基酸序列:
- [0807] a) LEVLFQGP (SEQ ID NO:88);
- [0808] b) ENLYTQS (SEQ ID NO:90);
- [0809] c) 弗林蛋白酶(furin)裂解位点;
- [0810] d) LVPR (SEQ ID NO:89);
- [0811] e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:91);
- [0812] f) GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:92);
- [0813] g) GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:93); 和
- [0814] h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:94)。
- [0815] 方面49. 如方面31所述的核酸, 其中所述重组多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0816] a) 第一前导肽;
- [0817] b) 所述表位;
- [0818] c) 所述第一MHC多肽;

- [0819] d) 所述免疫调节性多肽;
- [0820] e) 所述可蛋白水解裂解接头或核糖体跳跃信号;
- [0821] f) 第二前导肽;
- [0822] g) 所述第二MHC多肽;和
- [0823] h) 所述免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。
- [0824] 方面50. 如方面49所述的核酸, 其中所述第一前导肽和所述第二前导肽是 β 2-M前导肽。
- [0825] 方面51. 如方面37-50中的任一者所述的核酸, 其中所述核苷酸序列可操作地连接于转录控制元件。
- [0826] 方面52. 如方面51所述的核酸, 其中所述转录控制元件是在真核细胞中具有功能性的启动子。
- [0827] 方面53. 如方面37-52中的任一者所述的核酸, 其中所述第一MHC多肽或所述表位与所述第一MHC多肽之间的接头包含氨基酸取代以提供第一Cys残基, 并且所述第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基, 并且其中所述第一Cys残基和所述第二Cys残基提供在所述第一MHC多肽与所述第二MHC多肽之间的二硫键。
- [0828] 方面54. 一种重组表达载体, 其包含如方面37-52中的任一者所述的核酸。
- [0829] 方面55. 如方面54所述的重组表达载体, 其中所述载体是病毒载体或非病毒载体。
- [0830] 方面56. 一种宿主细胞, 其用如方面48-55所述的重组表达载体加以遗传修饰。
- [0831] 方面57. 如方面56所述的宿主细胞, 其中所述宿主细胞在体外。
- [0832] 方面58. 如方面57所述的宿主细胞, 其中所述宿主细胞被遗传修饰以使所述细胞不产生内源性MHC β 2-微球蛋白多肽。
- [0833] 方面59. 一种组合物, 其包含:
- [0834] a) 包含编码第一多肽的核苷酸序列的第一核酸, 所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0835] i) 表位;
- [0836] ii) 第一MHC多肽;和
- [0837] iii) 免疫调节性结构域,
- [0838] 其中所述免疫调节性结构域是方面1-7中的任一者的变体IL2多肽;以及
- [0839] b) 包含编码第二多肽的核苷酸序列的第一核酸, 所述第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0840] i) 第二MHC多肽;和
- [0841] ii) Ig Fc多肽。
- [0842] 方面60. 一种组合物, 其包含:
- [0843] a) 包含编码第一多肽的核苷酸序列的第一核酸, 所述第一多肽按从N末端至C末端顺序包含:
- [0844] i) 表位;和
- [0845] ii) 第一MHC多肽;以及
- [0846] b) 包含编码第二多肽的核苷酸序列的第一核酸, 所述第二多肽按从N末端至C末端顺序包含:

- [0847] i) 免疫调节性结构域,其中所述免疫调节性结构域是方面1-7中的任一者的变体IL2多肽;
- [0848] ii) 第二MHC多肽;和
- [0849] iii) Ig Fc多肽。
- [0850] 方面61.如方面59或方面60所述的组合物,其中所述第一核酸和/或所述第二核酸存在于重组表达载体中。
- [0851] 方面62.一种宿主细胞,其用如方面59-61中的任一者所述的组合物加以遗传修饰。
- [0852] 方面63.一种产生如方面8-36中的任一者所述的多聚多肽的方法,所述方法包括:
- [0853] a) 在体外在培养基中在各种条件下培养如方面56-58和62中的任一者所述的宿主细胞以使所述宿主细胞合成所述多聚多肽;以及
- [0854] b) 从所述宿主细胞和/或从所述培养基分离所述多聚多肽。
- [0855] 方面64.如方面63所述的方法,其中所述第二多肽包含亲和标签,并且其中所述分离包括使由所述细胞产生的所述多聚多肽与所述亲和标签的结合配偶体接触,其中所述结合配偶体是固定的,由此固定所述多聚多肽。
- [0856] 方面65.如方面64所述的方法,其包括洗脱经固定多聚多肽。
- [0857] 方面66.一种选择性活化表位特异性T细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与如方面8-36中的任一者所述的多聚多肽接触,其中所述接触选择性活化所述表位特异性T细胞。
- [0858] 方面67.如方面66所述的方法,其中所述接触在体外。
- [0859] 方面68.如方面66所述的方法,其中所述接触在体内。
- [0860] 方面69.如方面66所述的方法,其中所述表位是癌症相关表位,并且其中所述施用选择性增加对所述癌症相关表位具有特异性的T细胞的活性。
- [0861] 方面70.一种治疗个体的癌症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的:
- [0862] a) 如方面8-36中的任一者所述的多聚多肽;或
- [0863] b) 一种或多种包含编码如方面8-36中的任一者所述的多聚多肽的核苷酸序列的重组表达载体;或
- [0864] c) 一种或多种包含编码如方面8-36中的任一者所述的多聚多肽的核苷酸序列的mRNA,
- [0865] 其中所述表位是癌症相关表位,并且其中所述施用有效选择性活化个体中的癌症表位特异性T细胞。
- [0866] 方面71.如方面70所述的方法,其中所述施用是皮下施用。
- [0867] 方面72.如方面70所述的方法,其中所述施用是静脉内施用。
- [0868] 方面73.如方面70所述的方法,其中所述施用是肿瘤周围施用。
- [0869] 方面74.如方面70所述的方法,其中所述施用是全身性施用。
- [0870] 方面75.如方面70所述的方法,其中所述施用在治疗部位的远端。
- [0871] 方面76.如方面70所述的方法,其中所述施用是局部施用。
- [0872] 方面77.如方面70所述的方法,其中所述施用在治疗部位处或附近。
- [0873] 方面78.一种组合物,其包含:

- [0874] a) 如方面8-36中的任一者所述的多聚多肽;和
- [0875] b) 药学上可接受的赋形剂。
- [0876] 方面79.一种组合物,其包含:
- [0877] a) 如方面37-53中的任一者所述的核酸或如方面54或55所述的重组表达载体;和
- [0878] b) 药学上可接受的赋形剂。
- [0879] 方面80.一种多聚多肽,其包含:
- [0880] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0881] i) 表位;
- [0882] ii) 包含图34A中描绘的氨基酸序列的 β 2-微球蛋白 (β 2M) 多肽;以及
- [0883] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0884] i) 如方面1-7中的任一者所述的变体IL-2多肽;
- [0885] ii) 包含图34C中描绘的氨基酸序列的主要组织相容性复合物 (MHC) 重链多肽;和
- [0886] iii) 包含一个或多个选自N297A、L234A、L235A、L234F、L235E和P331S (基于图33A中描绘的氨基酸编号,分别是N77A、L14A、L15A、L14F、L15E和P111S) 的氨基酸取代的IgG1 Fc多肽。
- [0887] 方面81.如方面80所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含N297A取代 (基于图33A中描绘的氨基酸编号,是N77A)。
- [0888] 方面82.如方面80所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含L234A取代和L235A取代 (基于图33A中描绘的氨基酸编号,是L14A和L15A)。
- [0889] 方面83.如方面80所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含L234F取代和L235E取代 (基于图33A中描绘的氨基酸编号,是L14F和L15E)。
- [0890] 方面84.如方面80所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含L234F取代、L235E取代和P331S (基于图33A中描绘的氨基酸编号,是L14F、L15E和P111S取代)。
- [0891] 方面85.如方面80-84中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第二多肽包含两个拷贝的所述变体IL-2多肽。
- [0892] 方面86.如方面80-85中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第一多肽在所述表位与所述 β 2M多肽之间包含肽接头。
- [0893] 方面87.如方面80-86中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第二多肽在以下中的一者或多者之间包含肽接头:
- [0894] a) 第一拷贝的所述变体IL-2多肽与第二拷贝的所述变体IL-2多肽;
- [0895] b) 所述变体IL-2多肽与所述MHC重链多肽;和
- [0896] c) 所述MHC重链多肽与所述IgG1 Fc多肽之间。
- [0897] 方面88.如方面86或方面87所述的多聚多肽,其中所述肽接头选自 (GGGGS)₃、(GGGGS)₄和AAAGG。
- [0898] 方面89.一种多聚多肽,其包含:
- [0899] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0900] i) 表位;
- [0901] ii) 包含图34A中描绘的氨基酸序列的 β 2-微球蛋白多肽;以及
- [0902] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

- [0903] i) 包含图34B中描绘的氨基酸序列的变体IL-2多肽;
- [0904] ii) 包含图34C中描绘的氨基酸序列的主要组织相容性复合物(MHC)重链多肽;和
- [0905] iii) 包含一个或多个选自N297A、L234A、L235A、L234F、L235E和P331S(基于图33A中描绘的氨基酸编号,分别是N77A、L14A、L15A、L14F、L15E和P111S)的氨基酸取代的IgG1 Fc多肽。
- [0906] 方面90.如方面89所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含N297A取代(基于图33A中描绘的氨基酸编号,是N77A)。
- [0907] 方面91.如方面89所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含L234A取代和L235A取代(基于图33A中描绘的氨基酸编号,是L14A和L15A)。
- [0908] 方面92.如方面89所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含L234F取代和L235E取代(基于图33A中描绘的氨基酸编号,是L14F和L15E)。
- [0909] 方面93.如方面89所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含L234F取代、L235E取代和P331S取代(基于图33A中描绘的氨基酸编号,是L14F、L15E和P111S)。
- [0910] 方面94.如方面89-93中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第二多肽包含两个拷贝的所述变体IL-2多肽。
- [0911] 方面95.如方面89-94中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第一多肽在所述表位与所述 β 2M多肽之间包含肽接头。
- [0912] 方面96.如方面89-95中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第二多肽在以下中的一者或多者之间包含肽接头:
- [0913] a) 第一拷贝的所述变体IL-2多肽与第二拷贝的所述变体IL-2多肽;
- [0914] b) 所述变体IL-2多肽与所述MHC重链多肽;和
- [0915] c) 所述MHC重链多肽与所述IgG1 Fc多肽之间。
- [0916] 方面97.如方面95或方面96所述的多聚多肽,其中所述肽接头选自(GGGGS)₃、(GGGGS)₄和AAAGG。
- [0917] 方面98.一种多聚多肽,其包含:
- [0918] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0919] i) 包含氨基酸序列YMLDLQPETT(SEQ ID NO:77)的表位;
- [0920] ii) 包含图34A中描绘的氨基酸序列的 β 2-微球蛋白多肽;以及
- [0921] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0922] i) 包含图34B中描绘的氨基酸序列的变体IL-2多肽;
- [0923] ii) 包含图34C中描绘的氨基酸序列的主要组织相容性复合物(MHC)重链多肽;和
- [0924] iii) 包含图33A、图33B、图33C或图33D中描绘的氨基酸序列的IgG1 Fc多肽。
- [0925] 方面99.如方面98所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含图33B中描绘的氨基酸序列。
- [0926] 方面100.如方面98所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含图33C中描绘的氨基酸序列。
- [0927] 方面101.如方面98所述的多聚多肽,其中所述IgG1 Fc多肽包含图33D中描绘的氨基酸序列。
- [0928] 方面102.如方面98-101中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第二多肽包含两个

拷贝的所述变体IL-2多肽。

[0929] 方面103.如方面98-102中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第一多肽在所述表位与所述 β 2M多肽之间包含肽接头。

[0930] 方面104.如方面98-103中的任一者所述的多聚多肽,其中所述第二多肽在以下中的一者或多者之间包含肽接头:

[0931] a) 第一拷贝的所述变体IL-2多肽与第二拷贝的所述变体IL-2多肽;

[0932] b) 所述变体IL-2多肽与所述MHC重链多肽;和

[0933] c) 所述MHC重链多肽与所述IgG1 Fc多肽之间。

[0934] 方面105.如方面103或方面104所述的多聚多肽,其中所述肽接头选自 (GGGGS)₃、(GGGGS)₄和AAAGG。

[0935] 方面106.一种多聚多肽,其包含:

[0936] a) 包含图31中描绘的氨基酸序列的第一多肽;

[0937] b) 包含图22中描绘的氨基酸序列的第二多肽。

[0938] 方面107.一种多聚多肽,其包含:

[0939] a) 包含图31中描绘的氨基酸序列的第一多肽;

[0940] b) 包含图25中描绘的氨基酸序列的第二多肽。

[0941] 方面108.一种多聚多肽,其包含:

[0942] a) 包含图31中描绘的氨基酸序列的第一多肽;

[0943] b) 包含图28中描绘的氨基酸序列的第二多肽。

[0944] 方面109.一种药物组合物,其包含:

[0945] a) 根据方面80-108中的任一者的多聚多肽;和

[0946] b) 药学上可接受的赋形剂。

[0947] 方面110.一种或多种核酸,其包含编码根据方面80-108中的任一者所述的多聚多肽的所述第一多肽和/或所述第二多肽的核苷酸序列。

[0948] 方面111.如方面110所述的一种或多种核酸,其中所述一种或多种核酸存在于重组表达载体中。

[0949] 方面112.一种选择性活化表位特异性T细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与如方面80-108中的任一者所述的多聚多肽接触,其中所述接触选择性活化所述表位特异性T细胞。

[0950] 方面113.如方面112所述的方法,其中所述接触在体外。

[0951] 方面114.如方面112所述的方法,其中所述接触在体内。

[0952] 方面115.一种方法,其包括向个体施用有效量的:

[0953] a) 如方面80-108中的任一者所述的多聚多肽;或

[0954] b) 一种或多种包含编码如方面80-108中的任一者所述的多聚多肽的核苷酸序列的重组表达载体;或

[0955] c) 一种或多种包含编码如方面80-108中的任一者所述的多聚多肽的核苷酸序列的mRNA,其中所述施用在所述个体中诱导对表位的T细胞应答。

[0956] 方面116.如方面115所述的方法,其中所述施用是皮下施用。

[0957] 方面117.如方面115所述的方法,其中所述施用是静脉内施用。

- [0958] 方面118.如方面115所述的方法,其中所述施用是全身性施用。
- [0959] 方面119.如方面115所述的方法,其中所述施用是肌肉内施用。
- [0960] 方面120.如方面115所述的方法,其中所述施用在治疗部位的远端。
- [0961] 方面121.如方面115所述的方法,其中所述施用是局部施用。
- [0962] 方面122.如方面115所述的方法,其中所述施用在治疗部位处或附近。
- [0963] 方面A.一种调节有需要的个体的免疫应答的方法,所述方法包括向所述个体施用多聚多肽和免疫检查点抑制剂,
- [0964] 其中所述多聚多肽包含:
- [0965] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0966] i) 表位;
- [0967] ii) 第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;以及
- [0968] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0969] i) 第二MHC多肽;和
- [0970] ii) 任选地,免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig骨架,
- [0971] 其中所述多聚多肽包含一个或多个免疫调节性多肽,其中所述一个或多个免疫调节性多肽:
- [0972] A) 在所述第一多肽的C末端;
- [0973] B) 在所述第二多肽的N末端;
- [0974] C) 在所述第二多肽的C末端;或
- [0975] D) 在所述第一多肽的C末端以及在所述第二多肽的N末端;并且
- [0976] 其中所述施用调节所述个体中的所述免疫应答。
- [0977] 方面B.一种治疗方法,其包括向个体施用多聚多肽和免疫检查点抑制剂,
- [0978] 其中所述多聚多肽包含:
- [0979] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0980] i) 表位;
- [0981] ii) 第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;以及
- [0982] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0983] i) 第二MHC多肽;和
- [0984] ii) 任选地,免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig骨架,
- [0985] 其中所述多聚多肽包含一个或多个免疫调节性多肽,其中所述一个或多个免疫调节性多肽:
- [0986] A) 在所述第一多肽的C末端;
- [0987] B) 在所述第二多肽的N末端;
- [0988] C) 在所述第二多肽的C末端;或
- [0989] D) 在所述第一多肽的C末端以及在所述第二多肽的N末端;并且
- [0990] 其中所述施用治疗所述个体。
- [0991] 方面C.一种治疗个体的癌症的方法,所述方法包括向所述个体施用多聚多肽和免疫检查点抑制剂,
- [0992] 其中所述多聚多肽包含:

- [0993] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0994] i) 表位;
- [0995] ii) 第一主要组织相容性复合物 (MHC) 多肽;以及
- [0996] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [0997] i) 第二MHC多肽;和
- [0998] ii) 任选地,免疫球蛋白 (Ig)Fc多肽或非Ig骨架,
- [0999] 其中所述多聚多肽包含一个或多个免疫调节性多肽,其中所述一个或多个免疫调节性多肽:
- [1000] A) 在所述第一多肽的C末端;
- [1001] B) 在所述第二多肽的N末端;
- [1002] C) 在所述第二多肽的C末端;或
- [1003] D) 在所述第一多肽的C末端以及在所述第二多肽的N末端;并且
- [1004] 其中所述施用治疗所述个体的所述癌症。
- [1005] 方面D.一种治疗方法,其包括向个体施用多聚多肽,其中所述个体正经受用免疫检查点抑制剂进行的治疗,
- [1006] 其中所述多聚多肽包含:
- [1007] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1008] i) 表位;
- [1009] ii) 第一主要组织相容性复合物 (MHC) 多肽;以及
- [1010] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1011] i) 第二MHC多肽;和
- [1012] ii) 任选地,免疫球蛋白 (Ig)Fc多肽或非Ig骨架,
- [1013] 其中所述多聚多肽包含一个或多个免疫调节性多肽,其中所述一个或多个免疫调节性多肽:
- [1014] A) 在所述第一多肽的C末端;
- [1015] B) 在所述第二多肽的N末端;
- [1016] C) 在所述第二多肽的C末端;或
- [1017] D) 在所述第一多肽的C末端以及在所述第二多肽的N末端;并且
- [1018] 其中所述施用治疗所述个体。
- [1019] 方面E.如方面A-D中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含:
- [1020] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1021] i) 表位;
- [1022] ii) 第一MHC多肽;和
- [1023] iii) 免疫调节性结构域;以及
- [1024] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1025] i) 第二MHC多肽;和
- [1026] ii) Ig Fc多肽。
- [1027] 方面F.如方面A-D中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含:
- [1028] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:

- [1029] i) 表位;和
- [1030] ii) 第一MHC多肽;以及
- [1031] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1032] i) 免疫调节性结构域;
- [1033] iii) 第二MHC多肽;和
- [1034] ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。
- [1035] 方面G.如方面A-D中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含:
- [1036] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1037] i) 表位;和
- [1038] ii) 第一MHC多肽;以及
- [1039] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1040] i) 第二MHC多肽;和
- [1041] ii) Ig Fc多肽;和
- [1042] iii) 免疫调节性结构域。
- [1043] 方面H.如方面A-D中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含:
- [1044] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1045] i) 表位;和
- [1046] ii) 第一MHC多肽;以及
- [1047] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1048] i) 第二MHC多肽;和
- [1049] ii) 免疫调节性结构域。
- [1050] 方面I.如方面A-D中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含:
- [1051] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1052] i) 表位;和
- [1053] ii) 第一MHC多肽;以及
- [1054] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1055] i) 免疫调节性结构域;和
- [1056] ii) 第二MHC多肽。
- [1057] 方面J.如方面A-D中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含:
- [1058] a) 第一多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1059] i) 表位;
- [1060] ii) 第一MHC多肽;和
- [1061] iii) 免疫调节性结构域;以及
- [1062] b) 第二多肽,其按从N末端至C末端顺序包含:
- [1063] i) 第二MHC多肽。
- [1064] 方面K.如方面A-D中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述非Ig骨架是XTEN多肽、转铁蛋白多肽、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。
- [1065] 方面L.如方面A-K中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述第一MHC多肽是 β 2-微球蛋白多肽;并且其中所述第二MHC多肽是I类MHC重链多肽。

[1066] 方面M.如方面L所述的方法,其中所述多聚多肽的所述 β 2-微球蛋白多肽包含与图6中阐述的氨基酸序列中的一者具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[1067] 方面N.如方面L所述的方法,其中所述多聚多肽的所述I类MHC重链多肽是HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。

[1068] 方面O.如方面11所述的方法,其中所述I类MHC重链多肽包含与图5A-图5C中的一者中阐述的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[1069] 方面P.如方面A-K中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述第一MHC多肽是II类MHC α 链多肽;并且其中所述第二MHC多肽是II类MHC β 链多肽。

[1070] 方面Q.如方面A-P中的任一者所述的方法,其中所述表位是T细胞表位。

[1071] 方面R.如方面A-J中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含Fc多肽,并且其中所述Ig Fc多肽是IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。

[1072] 方面S.如方面R所述的方法,其中所述Ig Fc多肽包含与图4A-图4C中描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[1073] 方面T.如方面A-S中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述第一多肽和所述第二多肽以非共价方式缔合。

[1074] 方面U.如方面A-S中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述第一多肽和所述第二多肽共价连接。

[1075] 方面V.如方面U所述的方法,其中共价连接通过二硫键来达成。

[1076] 方面W.如方面V所述的方法,其中所述多聚多肽的所述第一MHC多肽或所述表位与所述第一MHC多肽之间的接头包含氨基酸取代以提供第一Cys残基,并且所述多聚多肽的所述第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,并且其中所述二硫键在所述第一Cys残基与所述第二Cys残基之间。

[1077] 方面X.如方面A-K中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽在所述表位与所述第一MHC多肽之间,在所述免疫调节性多肽与所述MHC多肽之间,或在所述MHC多肽与所述Ig Fc之间包含接头。

[1078] 方面Y.如方面A-K中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述免疫调节性多肽选自4-1BBL多肽、B7-1多肽;B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。

[1079] 方面Z.如方面A-Y中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含2个或更多个免疫调节性多肽。

[1080] 方面AA.如方面Z所述的方法,其中所述2个或更多个免疫调节性多肽是串联的。

[1081] 方面BB.如方面A-Z和AA中的任一者所述的方法,其中所述免疫调节性多肽选自4-1BBL多肽、CD80多肽、CD86多肽、IL-2多肽、B7-1多肽;B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。

[1082] 方面CC.如方面A-Z和AA-BB中的任一者所述的方法,其中所述免疫调节性多肽是相对于所述免疫调节性多肽的天然存在的形式,具有一个或多个氨基酸取代的变体免疫调节性多肽,并且其中所述变体免疫调节性多肽展现对所述免疫调节性多肽的所述天然存在的形式结合的共调节性多肽的结合亲和力降低。

[1083] 方面DD.如方面A-Z和AA-BB中的任一者所述的方法,其中所述免疫调节性多肽是包含与以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的变体IL-2多肽,其中相对于以SEQ ID NO:1阐述的氨基酸序列,所述变体IL-2多肽具有一个或多个氨基酸取代,并且其中相较于以SEQ ID NO:1阐述的IL-2氨基酸序列对包含具有图3A-图3C中描绘的氨基酸序列的 α 、 β 和 γ 多肽的IL-2受体(IL2R)的结合亲和力,所述变体IL-2多肽展现对所述IL2R的结合亲和力降低。

[1084] 方面EE.如方面DD所述的方法,其中所述变体IL-2多肽包含对E15、H16、D20、F42、Y45和Q126中的一者或多者的取代。

[1085] 方面FF.如方面EE所述的方法,其中所述变体IL-2多肽包含:

[1086] a) 对F42和D20的取代;

[1087] b) 对F42和H16的取代;

[1088] c) 对F42、D20和Y45的取代;或

[1089] d) 对F42、H16和Q126的取代。

[1090] 方面GG.如方面A-Z和AA-FF中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽包含含有一个或多个选自N297A、L234A、L235A、L234F、L235E和P331S的氨基酸取代的Ig Fc多肽。

[1091] 方面HH.如方面GG所述的方法,其中所述Ig Fc多肽包含:

[1092] a) N297A取代;

[1093] b) L234A取代和L235A取代;

[1094] c) L234F取代和L235E取代;或

[1095] d) L234F取代、L235E取代和P331S取代。

[1096] 方面II.如方面A-Z和AA-HH中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述表位包含氨基酸序列YMLDLQPETT(SEQ ID NO:77)。

[1097] 方面JJ.如方面A-Z和AA-HH中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述 β 2-微球蛋白多肽包含图34A中描绘的氨基酸序列。

[1098] 方面KK.如方面A-Z和AA-JJ中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽的所述主要组织相容性复合物(MHC)重链多肽包含图34C中描绘的氨基酸序列。

[1099] 方面LL.如方面A-Z和AA-KK中的任一者所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是对免疫检查点具有特异性的抗体。

[1100] 方面MM.如方面LL所述的方法,其中所述抗体是单克隆抗体。

[1101] 方面NN.如方面KK或方面LL所述的方法,其中所述抗体包含至少一个人源化轻链和/或重链框架区。

[1102] 方面OO.如方面LL所述的方法,其中所述抗体包含Fc多肽,并且其中所述Ig Fc多肽是IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。

[1103] 方面PP.如方面LL所述的方法,其中所述抗体是Fv片段、纳米体或Fab片段。

[1104] 方面QQ.如方面LL-PP中的任一者所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是对选自以下的免疫检查点具有特异性的抗体:CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精氨酸酶、CD137(也称为4-1BB)、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1和PD-L2。

[1105] 方面RR.如方面LL-PP中的任一者所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是对

PD1具有特异性的抗体。

[1106] 方面SS.如方面RR所述的方法,其中所述抗体是帕博利珠单抗、尼鲁单抗、匹迪珠单抗或BMS-39886。

[1107] 方面TT.如方面LL-PP中的任一者所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是对PD-L1具有特异性的抗体。

[1108] 方面UU.如方面TT所述的方法,其中所述抗体是度伐鲁单抗、阿特殊单抗、KN035或阿维鲁单抗。

[1109] 方面VV.如方面LL-PP中的任一者所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是对CTLA4具有特异性的抗体。

[1110] 方面WW.如方面VV所述的方法,其中所述抗体是易普利单抗或曲美木单抗。

[1111] 方面XX.如方面A-Z和AA-WW中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽和所述免疫检查点抑制剂通过相同施用途径来施用。

[1112] 方面YY.如方面A-Z和AA-WW中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽和所述免疫检查点抑制剂通过不同施用途径来施用。

[1113] 方面ZZ.如方面A-Z和AA-YY中的任一者所述的方法,其中所述多聚多肽通过选自皮下、静脉内、肿瘤周围和肌肉内的施用途径来施用。

[1114] 方面AAA.如方面A-Z和AA-YY中的任一者所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂通过选自皮下、静脉内、肿瘤周围和肌肉内的施用途径来施用。

[1115] 方面BBB.如方面A-Z、AA-ZZ和AAA中的任一者所述的方法,其中所述个体是人。

[1116] 实施例

[1117] 提出以下实施例以便向本领域普通技术人员提供对如何进行和使用本发明的完整公开和描述,并且不意图限制本发明者视为他们的发明的发明的范围,它们也不意图表示以下实验是进行的所有或仅有实验。已努力确保关于所用数值(例如数量、温度等)的准确性,但应考虑一些实验误差和偏差。除非另外指示,否则份是重量份,分子量是重量平均分子量,温度以摄氏度计,并且压力处于或接近大气压。可使用标准缩写,例如bp,碱基对;kb,千碱基;pL,皮升;s或sec,秒;min,分钟;h或hr,小时;aa,氨基酸;kb,千碱基;bp,碱基对;nt,核苷酸;千道尔顿,kDa;i.m.,肌肉内;i.p.,腹膜内;s.c.,皮下;等。

[1118] 实施例1:IL-2/synTac的产生

[1119] 分析通过经短暂转染哺乳动物细胞来对IL-2/synTac的产生。如图7A中所示,在对细胞进行短暂转染之后6-7天,两种不同IL-2/synTac的产生水平(以mg/L培养基计)大于90mg/L。

[1120] 纯化由哺乳动物细胞产生的IL-2/synTac,并且使其经受还原性和非还原性聚丙烯酰胺凝胶电泳。结果描绘于图7B中。大小以kDa给出。

[1121] 产生IL-2/synTac,其中IL-2多肽在“轻链”(即包含I类MHC轻链;例如 β 2M的多肽)中或在“重链”(即包含I类MHC重链的多肽)中。分析IL-2/synTac的表达水平和稳定性。

[1122] 在哺乳动物细胞中产生synTac。如图8A中所示,在重链上包含IL-2的IL-2/synTac在相比于在轻链上包含IL-2的IL-2/synTac的水平高约25倍的水平下产生。

[1123] 使由哺乳动物细胞产生的IL-2/synTac经受还原性和非还原性聚丙烯酰胺凝胶电泳;并且将凝胶用考马斯蓝(Coomassie blue)染色。如图8B中所示,相比于在轻链上包含

IL-2的IL-2/synTac,在重链上包含IL-2的IL-2/synTac更稳定。大小以kDa给出。

[1124] 评估包含变体IL-2的IL-2/synTac的表达水平。图9描绘IL-2/syn-Tac的表达水平,其中IL-2是野生型(wt),或包含F42A、D20K、Q126A、E15A、Y45A和H16A的各种组合。将表达水平表示为相对于具有野生型IL-2的synTac的表达水平的变化百分比。

[1125] 评价IL-2/synTac中的IL-2拷贝数对表达水平的影响。IL-2/synTac在synTac中包含一个拷贝(1X)、两个拷贝(2X)或三个拷贝(3X)。在哺乳动物细胞中产生各种IL-2/synTac,并且测定表达水平。数据描绘于图10中。具有一个或两个拷贝的IL-2的IL-2/synTac展现类似表达水平,而具有三个拷贝的IL-2的IL-2/synTac展现较低表达水平。将表达水平表示为相对于具有单个拷贝的IL-2的IL-2/synTac的表达水平的倍数变化。

[1126] 实施例2: IL-2/synTac的体外活性

[1127] 为实现通过T细胞受体进行靶向的最大特异性,共刺激性多肽对它的配体的亲和力和力应低于MHC对TCR的亲和力。肽/MHC对TCR的亲和力可为约10 μ M。

[1128] 产生IL-2/synTac,其包含两个拷贝的包含F42A和H16A取代的变体IL-2。对抗原特异性CD8⁺T细胞和非特异性CD8⁺T细胞测试由IL-2/synTac诱导的共刺激性信号传导。使抗原特异性CD8⁺T细胞和非特异性CD8⁺T细胞与各种浓度的IL-2/synTac接触。

[1129] 如图11中所示,相比于在非特异性CD8⁺T细胞中,IL-2/synTac在低得多的浓度下在抗原特异性CD8⁺T细胞中诱导共刺激性信号传导。

[1130] 测试IL-2/synTac结合的选择性。从LCMV或OT1小鼠的脾分离CD8⁺T细胞。使CD8⁺T细胞与在各种浓度下的IL-2/synTac一起孵育,并且使其结合20分钟。IL-2/synTac包含IgG2a Fc。IL-2/synTac与CD8⁺T细胞的结合使用藻红素(PE)标记的抗IgG2a抗体来检测。PE荧光使用流式细胞术来检测以测定结合于IL-2/synTac的细胞的百分比。

[1131] 如图12中所示,IL-2/synTac以抗原特异性方式结合至LCMV CD8⁺T细胞,但不展现与OT1 CD8⁺T细胞的显著结合。因此,IL-2/synTac选择性结合至对存在于IL-2/synTac中的表位具有特异性的CD8⁺T细胞。

[1132] 确定IL-2/synTac是否选择性活化靶T细胞。从LCMV或OT1小鼠的脾分离CD8⁺T细胞。所用IL-2/synTac包括F42A单一氨基酸取代、或F42A和H16A取代。用IL-2/synTac在各种浓度下刺激CD8⁺T细胞20分钟。接着将细胞用经PE标记的抗磷酸STAT5抗体染色。PE荧光使用流式细胞术来检测以测定磷酸STAT5阳性细胞的百分比,其中磷酸STAT5是活化标志物。

[1133] 如图13中所示,相比于在非特异性(BL6)CD8⁺T细胞中,IL-2/synTac在低得多的浓度下在抗原特异性(LCMV)CD8⁺T细胞中诱导CD8⁺刺激(如由磷酸STAT5阳性细胞%所指示)。

[1134] 分析各种IL-2/synTac的特异性活性。在各种浓度下测试包含单个拷贝的IL-2、两个拷贝的IL-2、或三个拷贝的IL-2的IL-2/synTac对CD8⁺抗原特异性(LCMV)或非特异性(BL6)细胞的刺激,其中所述IL-2包含F42A、D20K、Q126A、E15A、H16A和Y45A取代的各种组合。测定磷酸信号转导子和转录活化子5(pSTAT5)阳性百分比。数据描绘于图14A-图14F中。

[1135] 实施例3: IL-2/synTac的体内活性

[1136] 测试IL-2/synTac的体内活性。在施用磷酸盐缓冲盐水(PBS)、重组IL-2(rIL-2)或本公开的IL-2/synTac之后,测试抗原特异性CD8⁺T细胞中的体内倍数变化。数据显示于图15左侧图版中。数据指示相比于rIL-2,IL-2/synTac强效10倍。

[1137] 测试IL-2/synTac的体内特异性。评估在施用PBS、rIL-2或IL-2/synTac之后的抗

原特异性和非抗原特异性应答。将数据表示为在施用PBS、rIL-2或IL-2/synTac之后,抗原特异性淋巴结细胞或抗原非特异性淋巴结细胞的百分比。如图15右侧图版中所描绘,IL-2/synTac诱导抗原特异性应答(表示为羧基荧光素丁二酰亚胺酯(CFSE)的最大稀释%,这是一种T细胞增殖指数)。相比之下,由rIL-2诱导的应答不是抗原特异性的。

[1138] 进行剂量响应测定。在4mg/kg、8mg/kg和16mg/kg的浓度下在腹膜内施用IL-2/synTac (F42A、H16A)。结果显示于图16A中。如图16A中所示,在4mg/kg或8mg/kg下施用的IL-2/synTac给出类似结果;在16mg/kg下施用的IL-2/synTac诱导最强效免疫刺激性活性。

[1139] 测试IL-2/synTac的施用途径的影响。在4mg/kg下皮下(SubQ)或腹膜内(IP)施用IL-2/synTac (F42A、H16A)。如图16B中所示,相比于IP施用,皮下施用产生更强效免疫刺激性活性。

[1140] 测定IL-2拷贝数对功效的影响。将包含单个拷贝的IL-2 (F42A、H16A)或两个拷贝的IL-2 (F42A、H16A)的IL-2/synTac注射至具有携带HPV E7表位的肿瘤的小鼠中。包括在IL-2/synTac中的表位是HPV E7表位。如图17A和图17B中所示,包含两个拷贝的IL-2 (F42A、H16A)的IL-2/synTac在使肿瘤尺寸降低方面比包含仅单个拷贝的IL-2 (F42A、H16A)的IL-2/synTac更有效。

[1141] 实施例4: IL-2/synTac的PK/PD和稳定性研究

[1142] 进行对IL-2/synTac的药物动力学(PK)分析。在10mg/kg下IP施用IL-2/synTac (F42A、D20K、H16A)。在施用后各种时间点,获得血清样品,并且测量血清样品中的IL-2/synTac水平。如图18中所示,IL-2/synTac的血清半衰期是约4小时。

[1143] 将IL-2/synTac在10mg/kg下IP注射至C57BL/6小鼠中,并且在注射之后两小时收集血清。IL-2/synTac包括His₆标签。使100ng输入蛋白质或40μl血清等效物经受十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),并且用抗(His)₆抗体或抗β-2M抗体探测。图19中描绘的结果显示IL-2/synTac在体内持续至少2小时保持稳定和完整。

[1144] 使IL-2/synTac在4℃或37℃下保持5天。通过尺寸排阻色谱法来分析0.5mg各样品(在10mg/ml下)。如图20中所示,IL-2/synTac在4℃或37℃下持续至少5天是稳定的和完整的。

[1145] 实施例5: IL-2/synTac和抗PD1抗体对肿瘤体积的影响

[1146] 如图35中所示,向具有肿瘤的小鼠施用IL-2/synTac和抗PD1抗体使肿瘤体积降低。

[1147] 实施例6: 具有变体4-1BBL的synTac多肽的产生和表征

[1148] 合成和表征synTac多肽。针对卵白蛋白(OVA)特异性T细胞来测试以下synTac多肽的活性:

[1149] 1) Syn83/51。Syn83/51的轻链包含:a)OVA T细胞表位;b)野生型4-1BBL多肽的氨基酸50-254;和c)β2M;并且Syn83/51的重链包含:a)MHC重链;和b)Ig Fc。

[1150] 2) Syn239/345。Syn239/345的轻链包含:a)OVA T细胞表位;b)野生型4-1BBL的氨基酸80-254的三聚体;和c)β2M;并且Syn239/345的重链包含:a)MHC重链;和b)IgG2a Fc。

[1151] 3) Syn341/348。Syn341/348的轻链包含:a)OVA T细胞表位;b)野生型4-1BBL的三聚体;和c)β2M;并且Syn239/345的重链包含:a)MHC重链;和b)IgG2a Fc。在Syn341/348中,4-1BBL三聚体的第一单元包含野生型4-1BBL的氨基酸50-254;4-1BBL三聚体的第二单元和

第三单元包含野生型4-1BBL的氨基酸80至254。

[1152] 4) Syn341/349。Syn341/349的轻链包含:OVA T细胞表位;b) 4-1BBL的氨基酸80-254的三聚体,在所述三聚体的各单元中包含K127A取代,在所述三聚体的第一单元与第二单元之间以及在第二单元与第三单元之间用接头GlySerSerSerSer;和c) β 2M;并且Syn239/345的重链包含:a) MHC重链;和b) IgG2a Fc。

[1153] 在体外使所得synTac异二聚体与卵白蛋白特异性T细胞一起在0、1、3、17、10.01、31.65和100nM synTac的浓度下培养3天或5天。对照包括:a) 单独培养基;b) 佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙酸酯(PMA)和离子载体A23187;和c) 抗CD3抗体和抗CD28抗体。

[1154] 在3天之后以及在5天之后,测定培养基中的IFN- γ 、IL-2、IL-6、TNF、IL-10、IL-17A和IL-4的浓度。此外,测定OVA特异性T细胞的活力以及OVA特异性T细胞的增殖。

[1155] 数据描绘于图38-图46中。

[1156] 如图38至图46中所示,Syn 341/349诱导IL-2(一种细胞配合细胞因子)的产生;诱导细胞毒性细胞因子TNF α 和IFN- γ 的产生;并且也诱导表位特异性T细胞的增殖以及使活力增强。

[1157] 实施例7:在CHO细胞中产生synTac

[1158] 在CHO细胞中短暂表达包含野生型(wt)4-1BBL或包含如图47中阐述的具有氨基酸取代的4-1BBL的SynTac。测定产生的synTac的量。产生的量提供于图47中。

[1159] 实施例8:4-1BBL synTac的体内作用

[1160] 在5mg/kg下通过腹膜内(IP)注射来向携带经侧腹移入HPV⁺TC-1肺癌的小鼠中施用本公开的包含人乳头状瘤病毒(HPV)E7抗原性肽和4-1BBL K127A变体的synTac(在图48中被称为“CUE:4-1BBL(K127A)”)。作为对照,向携带相同肿瘤的小鼠施用磷酸盐缓冲盐水(PBS)。如图48中所示,相较于用PBS治疗的小鼠,用CUE:4-1BBL(K127A)治疗的小鼠中的肿瘤体积得以降低。

[1161] 实施例9:共同施用4-1BBL synTac和免疫检查点抑制剂的体内作用

[1162] 如图49中所描绘,共同施用本公开的4-1BBL synTac和抗PD1抗体使小鼠肿瘤模型中的肿瘤体积降低,并且使为粒酶B⁺的肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)的百分比增加。

[1163] 尽管本发明已参照其特定实施方案加以描述,但本领域技术人员应了解可在不脱离本发明的真实精神和范围下进行各种变化,以及可用等效物进行替代。此外,可进行许多修改以使特定情况、材料、物质组合物、方法、一个或多个方法步骤与本发明的目标、精神和范围相适应。所有所述修改都意图在随附于此的权利要求的范围内。

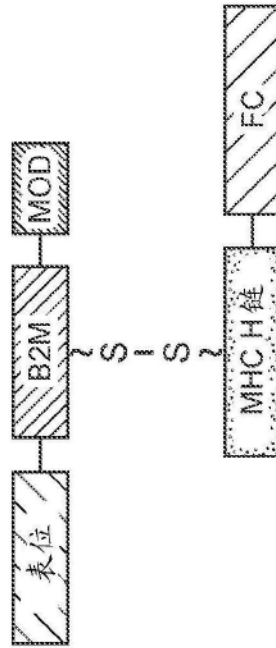


图1A

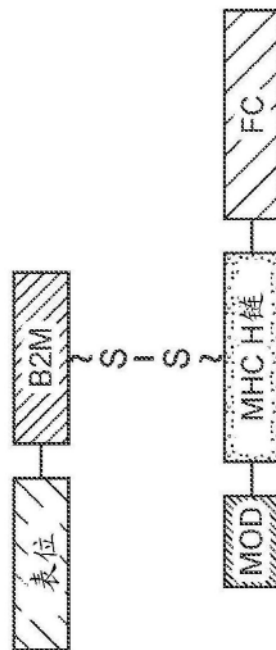


图1B

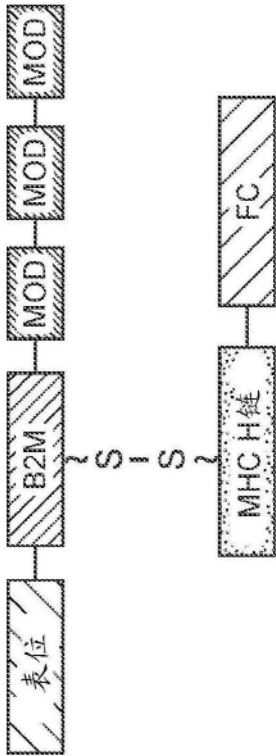


图1C

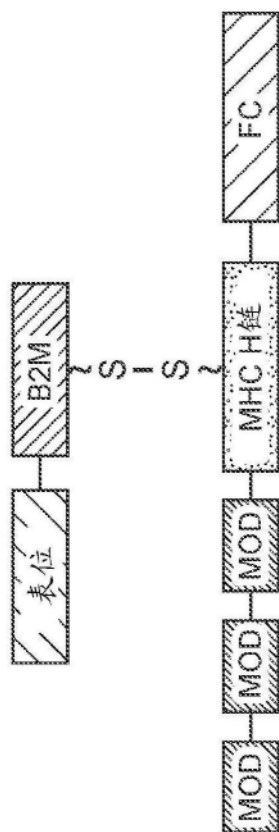


图1D

IL2-智人

APTSSSTKKT QLQLEEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1)

图2A

IL2 (F42X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:2)

图2B

IL2 (D20X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:3)

图2C

IL2 (E15X)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:4)

图2D

IL2 (H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:5)

图2E

IL2 (Y45X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:6)

图2F

IL2 (Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:7)

图2G

IL2 (F42X; H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:8)

图2H

IL2 (F42X; D20X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:9)

图2I

IL2 (F42X; D20X; E15X)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:10)

图2J

IL2 (F42X; D20X; H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:11)

图2K

IL2 (F42X; D20X; Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:12)

图2L

IL2 (F42X; D20X; Y45X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:13)

图2M

IL2 (F42X; D20X; Y45X; H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:14)

图2N

IL2 (F42X; D20X; Y45X; Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:15)

图20

IL2 (F42X; D20X; Y45X; H16X; Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:16)

图2P

IL2 – (F42X, H16X, Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:17)

图2Q

IL2R- α 链
智人

1 **MDSYLLMWGL LTFIMVPGCQ** AELCDDDPPE IPHATFKAMA YKEGTMNLCE CKRGFRRIKS
61 GSYMLCTGN SSHSSWDNQC OCTSSATRNT TKQVTPQPEE QKERKTTEMQ SPMQPVDAQS
121 LFGHCREPPP WENEATERIY HFVVGQMVYIY QCVQGYRALH RGPAESVCKM THGKTRWTQP
181 QLICTGEMET SQFPGEKPKQ ASPEGRPESE TSCLVTTTDF QIQTEMAATM ETSIFTTEYQ
241 VAVAGCVFLL ISVLLLSGLT WQRRQRKSRR TI (SEQ ID NO:18)

成熟 = 氨基酸 22-272

IL2R- β 链
智人

图3A

```

1  MAAPALSWRL  PLLILLPLA  TSWASAAVNG  TSQFTCFVNS  RANISCVWSQ  DGALQDTSCQ
61  VHAWPDRRW  NQCELLPVS  QASWACNLIL  GAPDSQKLT  VDIVTLRVLC  REGVRWRVMA
121 IQDFKPFENL  RIMAPISLQ  VHVETHRCNI  SWEISQASHY  FERHLEFEAR  TILSPGHTWEE
181 APLLTLKQKQ  EWICLETITP  DTQYEFQVRV  KPLQGEFTTW  SPWSQPLAFR  TKPAALGKDT
241 IPWLGHLLVG  LSGAFGFIL  VYLLINCRNT  GPWLKKVLKC  NTPDPSKFFS  QLSSEHGGDV
301 QKWLSSPFPS  SSFSPGGIAP  EISPLEVLER  DKVTQLLLQ  DKVPEPASLS  SNHSLTSCFT
361 NQGYFFFHLP  DALEIEACQV  YFTYDPYSEE  DPDEGVAGAP  TGSSPQPLQP  LSGEDDAYCT
421 FPSRDDLLLF  SPSLLGGPSP  PSTAPGGSGA  GEERMPPSLQ  ERVPRDWDPO  PLGPPTPGVP
481 DLVDFQPPPE  LVLREAGEEV  PDAGPREGVS  FPWSRPPGQG  EFRALNARLP  LNTDAYLSLQ
541 ELQGGQDPTHL  V (SEQ ID NO:19)

```

成熟 = 氨基酸 27-551

图3B

IL2R- γ 链
智人

1 MLKPSLPFTS LLFLQLPLIG VGLNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL SVSTLPLPEV
61 QCFVENVEYM NCTWNSSEP QPTNLTLYW YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE ITSGCQLQKK
121 EIHLYQTFVQ QLQDPREPRL QATQMLKLQN LVIPWAPENL TLHKLSESQ L ELNWNRRFLN
181 HCLEHIVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL PSVDGQKRYT FRVRSRFPRI CGSAQHWSEW
241 SHPIHWGSNT SKENPFLFAL EAVVISVGSM GLIISLLCVY FWLERTMPRI PTLKNLEDLV
301 TEYHGNFSAW SGVSKGLAES LQPDYSERLC LVSEIIPPKG ALGEGPGASP CNQHSPYWAP
361 PCYTLKPET (SEQ ID NO:20)

成熟=氨基酸 23-369

图3C

GenBank 3S7G_A
智人 **IgG1** Fc (SEQ ID NO: 21)
227 aa

```

1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevknwyvvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepqvyt lpsrdeltk nqsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqgg nvfscsvmhe alnhytqks lslspgk

```

GenBank AAN76044
智人 **IgG2** Fc (氨基酸 99-325) (SEQ ID NO: 22)
227 aa

```

1 stkgpsvfp1 apcsrstses taalgcclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktkverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vvdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfirv
181 vsvltvvhqd wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvytlp psreemtknq
241 vsltclvkf ypsdiavewe sngqpennyk ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmheal hnhytqksls lspgk

```

GenBank AAW65947
智人 **IgG3** Fc (氨基酸 19-246) (SEQ ID NO: 23)
238 aa

```

1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvdvshedp evkfnwyvdg vevhnaktkp reeqynstyr vsvltvlh qdwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qprepqvytl ppsrdeltkn qsltclvk gfypsdiavev
181 esngqpenny kttppvlds gsfflysklt vdksrwqgg nvfscsvmhe alnhytqksl
241 slspgk

```

图4A

GenBank AAA52770
 智人 **IgD** Fc (氨基酸 162-383) (SEQ ID NO: 24)
 222 aa

```

1  ptkapdvfpi isgcrhpkdn spvvlacilit gyhptsvtvt wymgtqsqpq rtfpeiqrdd
61  syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrw p espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkekekeeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgSDLkdah ltwevagkvp tggveeglle rhsgngsqsqh srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsqfsg
301 pnillmwled grevntsgfa parppqpqr ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvshed
361 srllnasrs levsyvtldhg pmk

```

GenBank 0308221A
 智人 **IgM** Fc (SEQ ID NO: 25)
 276 aa

```

1  vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrglftq qnassmcvdpd qdtairvfai ppsfasiflt
61  kstkltclvt dltybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzlnlnresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspqky vtsapmpcpq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynsvlmsd tagtcy

```

图4B

GenBank P01876
 智人 **IgA Fc** (氨基酸 120-353) (SEQ ID NO: 26)
 234 aa

```

1 asptspkvfp lslcstqpdg nvviacvlvqg ffpqeplsvt wsesggqvta rnfppsqdas
61 gdlyttssql tlpatqclag ksvtchvkhy tnpqgdvtp cpvpstpptp spstpptpsp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vqgppperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhgk tftctaaype sktpltatls ksgntfirpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlggsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgt fscmvgheal plaftqktid rlagkpthvn vsvmaevdg tcy

```

GenBank 1F6A B
 智人 **IgE Fc** (氨基酸 6-222) (SEQ ID NO: 27)
 212 aa

```

1 adpcdsnprg vsaylsrsp fdlfirkst itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnh
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsqpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl ignfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktksggffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqravsvnp gk

```

GenBank P01861
 智人 **IgG4 Fc** (氨基酸 100-327) (SEQ ID NO: 28)
 228 aa

```

1 astkgpsvfp lapcsrstse staaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlgss
61 glyslssvvt vpssslgtkt ytcnvdhkps ntktvdkrves kygpppcscp afe1lgpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkg1ps siektiskak gqprepqvvt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysr1 tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alnhhytqks lslslgk

```

图4C

智人

GenBank NP_001229687

HLA-A

氨基酸 25-365 (SEQ ID NO:29)

```

1  mavmaprtll lllsgalalt qtwagshsmr yfftsvrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61  dsdaasqkme prapwieqeg peywdqetrn mkahsqtdra nlgtlrgyyn qsedgshtiq
121 imygcdivgpd grflrgyrqd aydgkdyial nedlrswhaa dmaaqitkrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd glrrylengk etlqtrtdppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrddgedqtg dtelvetrpa gdtgfkwaav vvvpssgeqr ytchvqhegl pkpltlrwel
301 ssqptipivg iiaglvllga vitgavvaav mwrkssdrk ggsytqaass dsaggsdvs1
361 tackv

```

图5A

智人

GenBank NP_005505

HLA-B

氨基酸 25-362 (SEQ ID NO: 30)

```

1  mlvmaprtvl  lllsaalalt  etwagshsmr  yfytvsrpg  rgeprfivsg  yvddtqfvrf
61  dsdaaspree  prapwieqeg  peywdrintqi  ykaqaqtdre  slrnlrgyyn  qseagshtlq
121  smygcdvgpd  grllrghdqy  aydgkdyial  nedlrswtaa  dtaaqitqrk  weaareaeqr
181  raylegecve  wlrrylengk  dkleradppk  thvthpisd  heatlrcwal  gfypaeitlt
241  wqrddedqtq  dtelvetrpa  gdrtfqkwa  vvpsgeeqr  ytchvqhegl  pkpltlrwep
301  ssqstvpivg  ivaglavlav  vvigavvaav  mcrkssggk  ggsysqaacs  dsaqgsdvs1
361  ta

```

图5B

智人

GenBank NP_001229971

HLA-C

氨基酸 25-366 (SEQ ID NO: 31)

```

1  mrvmaprall  lllsgglalt  etwacshsmr  yfdtavsrpg  rgeprfisvg  yvddtqfvrf
61  dsdaasprge  prapwveqeg  peywdretqn  ykrqagadr  slnrlrgyyn  qsedgshtlq
121  rmygcdlgpd  grllrgydds  aydgkdyial  nedlrswwa  dtaaqitqrk  leaaraaeql
181  raylegtce  wlrryleng  etlqraepk  thvthnplsd  heatlrcwal  gfypaeitlt
241  wqrdgedtq  dtelvetrpa  gdgtfkwaa  vvpsgggeq  ytchmqhegl  qepltlswep
301  ssqptipmg  ivaglavlv  lavlgavvta  mmcrkssgg  kggscsqaac  snsaggsdes
361  litcka

```

图5C

NP_004039.1	MRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001009066.1	MRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001040602.1	MRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_776318.1	MAREVALVLLGLLSLGLDAIQRPKIQVYSRHPPEDGKPNVILNCYVVGHHFPQIEIDL 60
NP_033865.2	MARSVTLVFLVLVSLTGLYAIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVVGHHFPQIEIDL 60
	:
NP_004039.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEFYLLYYTEFTTEKDEYACRVNHHVTLSQPKIVKWRDM 119
NP_001009066.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEFYLLYYTEFTTEKDEYACRVNHHVTLSQPKIVKWRDM 119
NP_001040602.1	KNGEKMGKVEHSDLSFSKDWSEFYLLYYTEFTTEKDEYACRVNHHVTLSGPRTVWWRDM 119
NP_776318.1	KNGEKI-KSEQSDLSFSKDWSEFYLLSHAEFTFNSKDKQYSCRVKHHVTLEQPRIVKWRDL 118
NP_033865.2	KNGKKIPKVEHSDLSFSKDWSEFYLLAHTTEFTTETDTYACRVKHAEMAEPTVWWRDM 119
	***:::*

图6

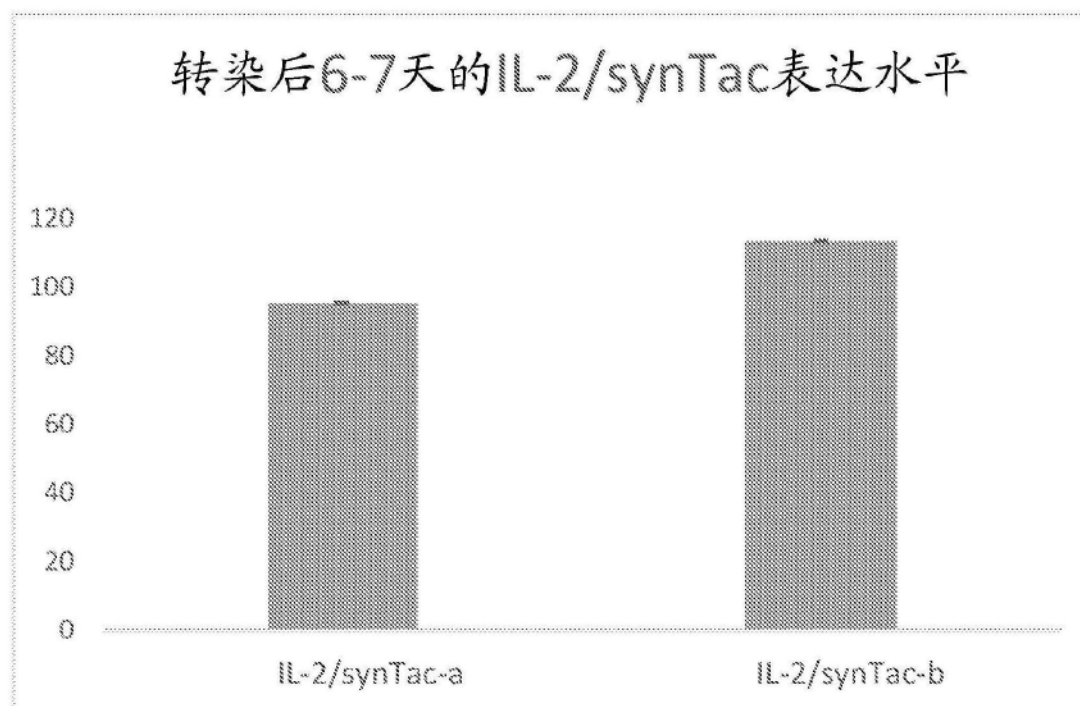


图7A

纯化产物

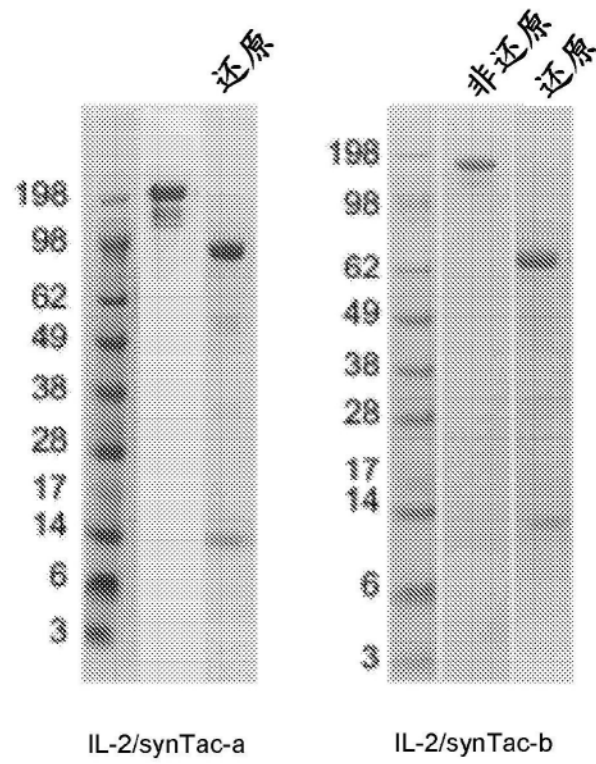


图7B

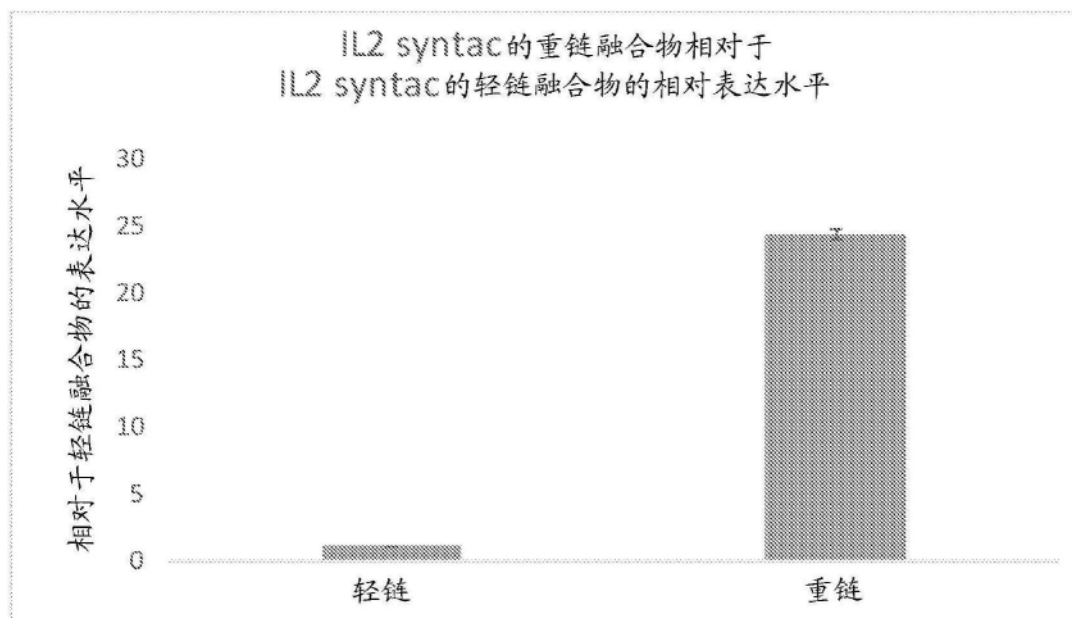
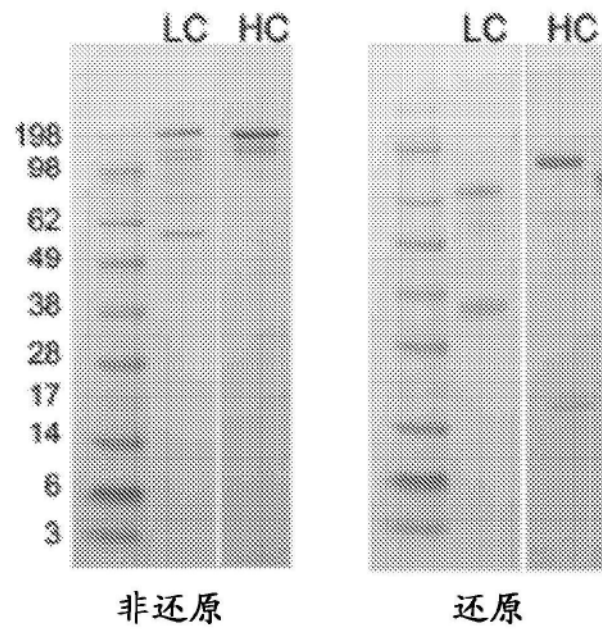


图8A

在重链融合物的情况下稳定性增加



考马斯染色分析凝胶

图8B

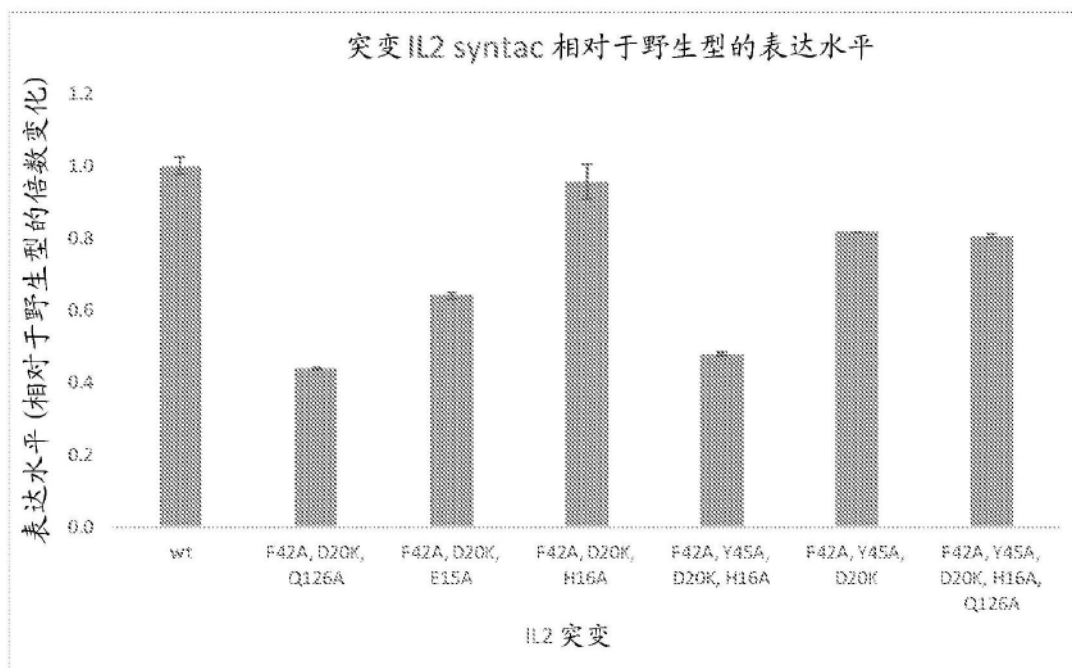


图9

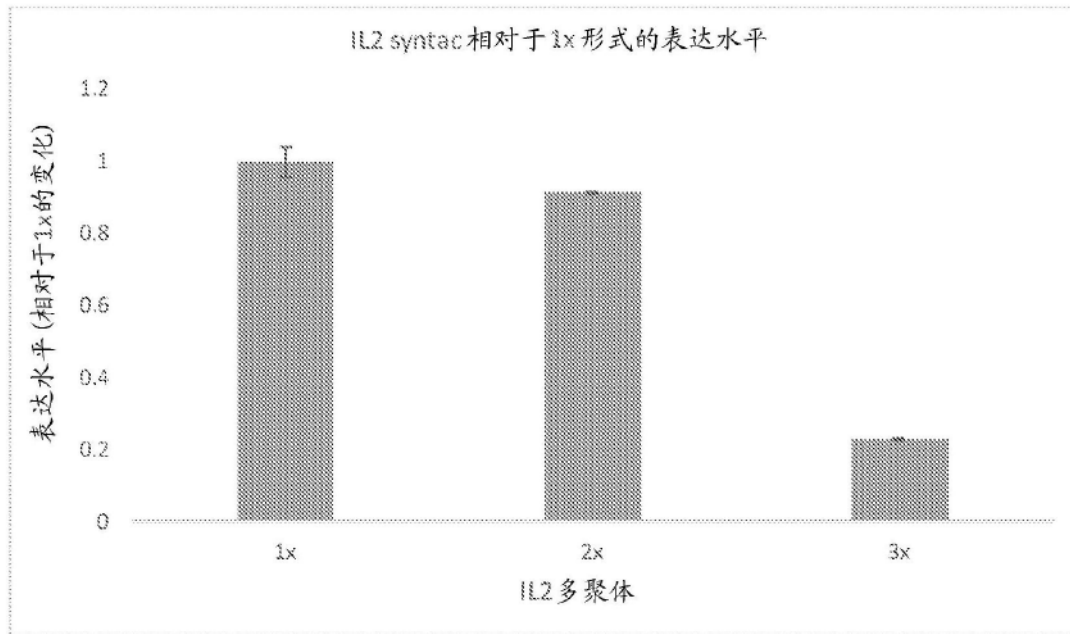


图10

肽-MHC: IL-2_n (F42A、H16A; n=2)

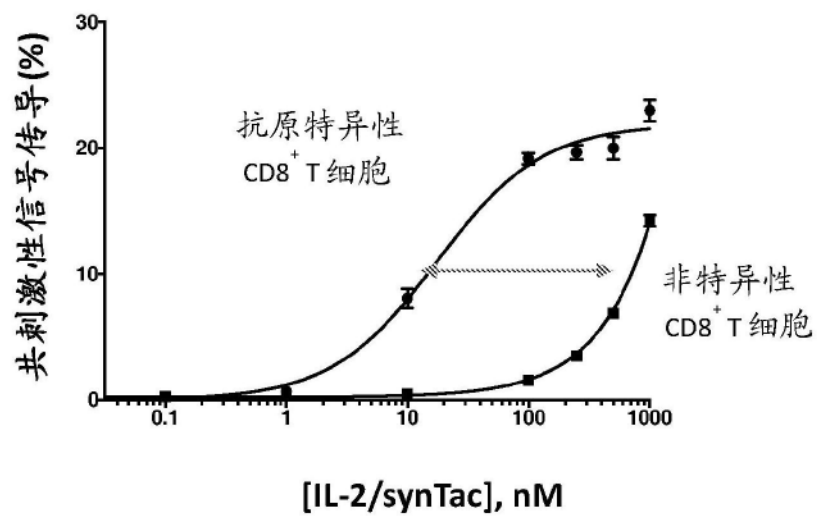


图11

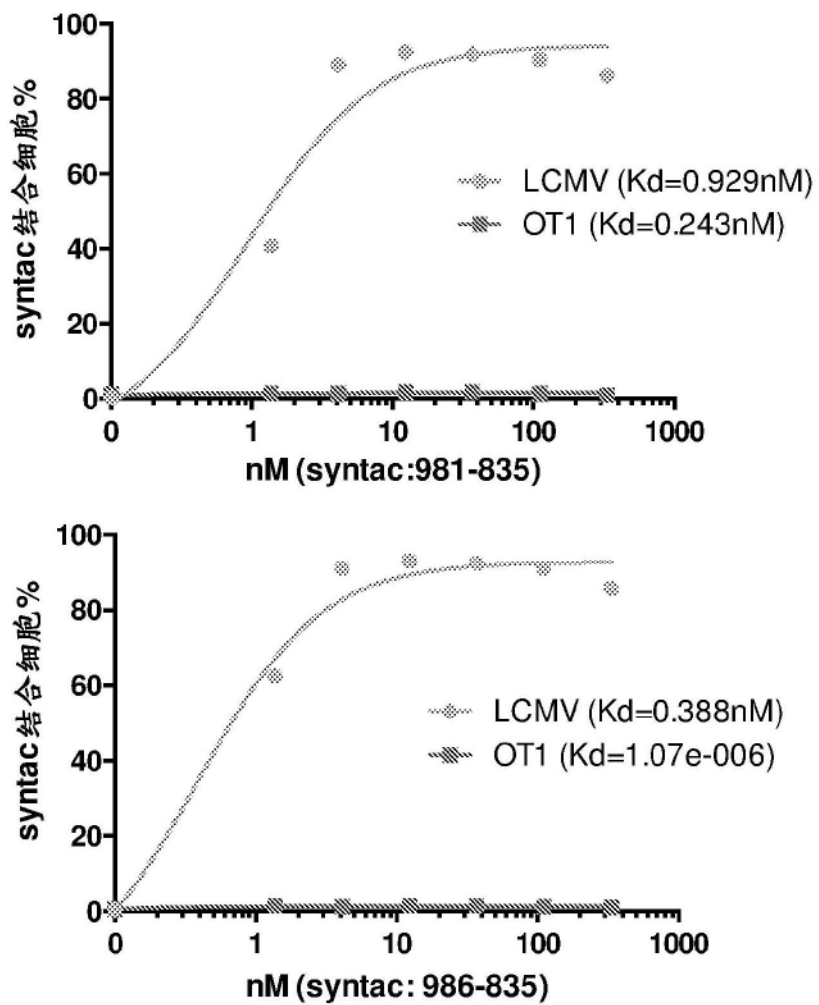


图12

IL-2重复数目相对于突变

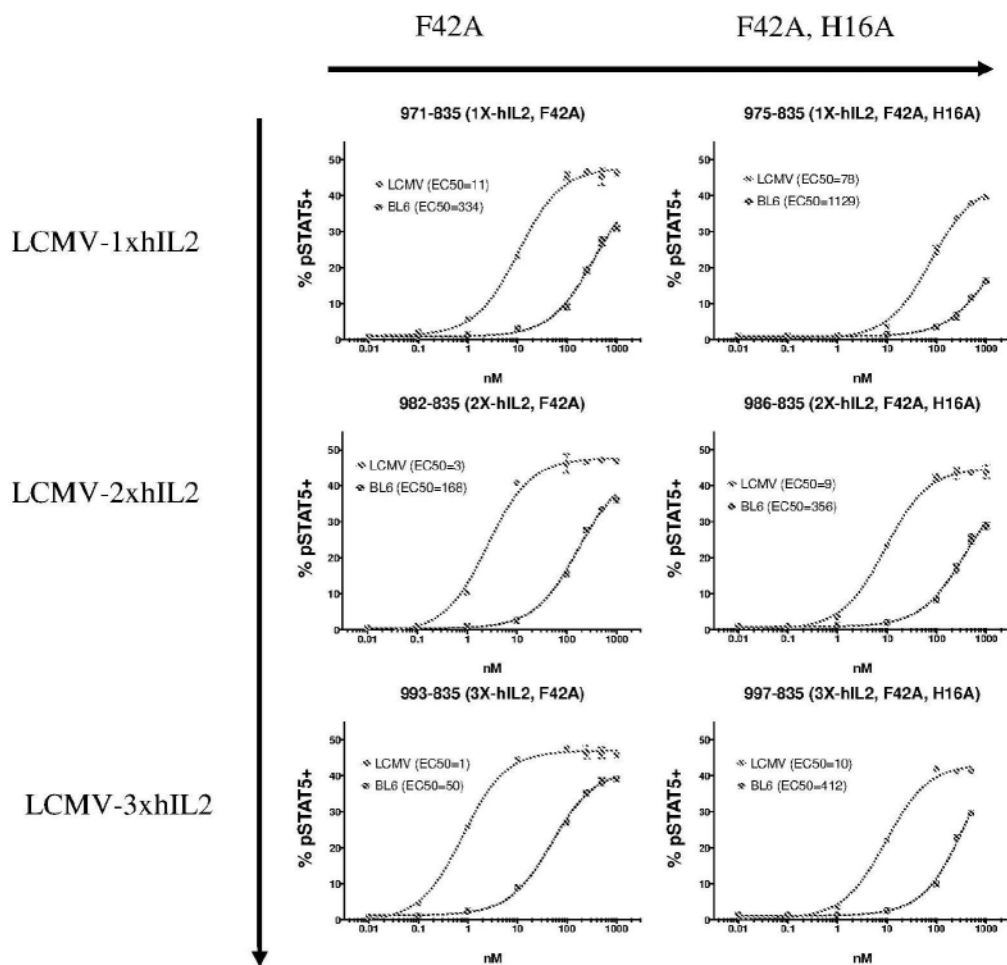
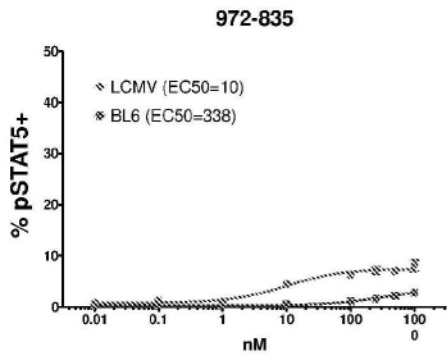


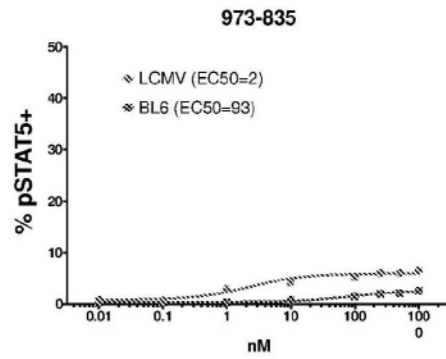
图13

一个拷贝的IL-2

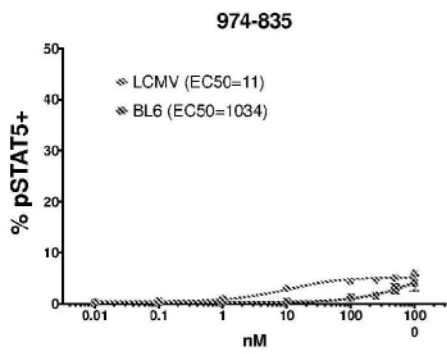
突变: F42A、D20K



突变: F42A、D20K、Q126A



突变: F42A、D20K、E15A



突变: F42A、D20K、H16A

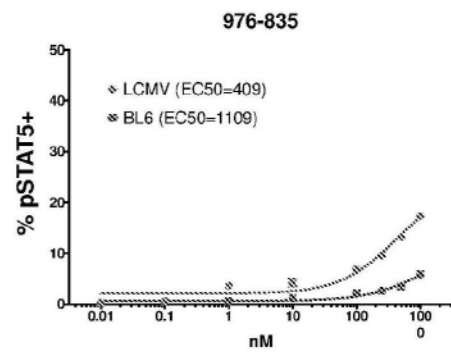
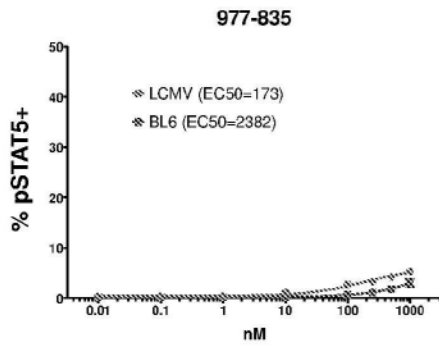


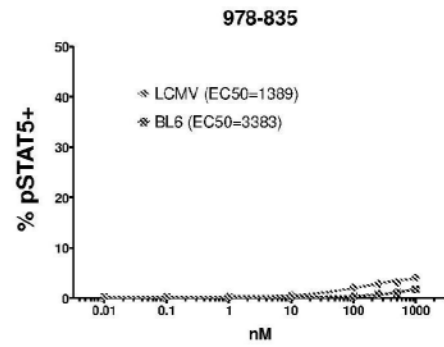
图14A

一个拷贝的IL-2

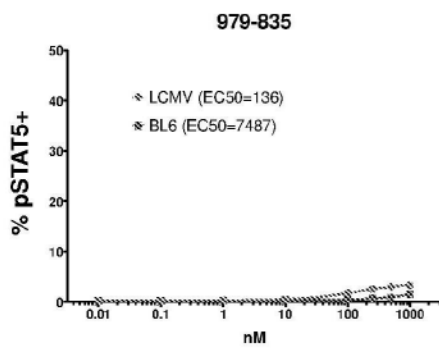
突变: F42A、Y45A、D20K、H16A



突变: F42A、Y45A、D20K



突变: F42A、Y45A、D20K、H16A、Q126A



突变: F42A、Y45A、D20K、Q126A

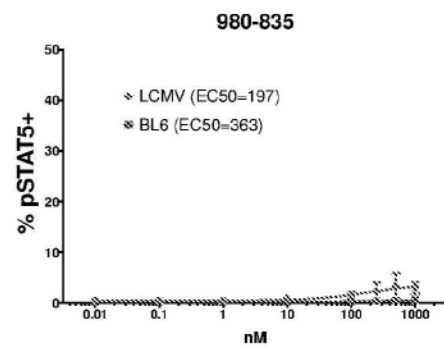
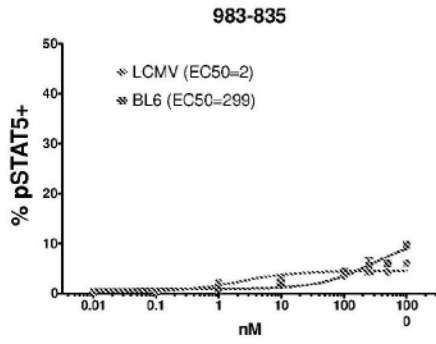


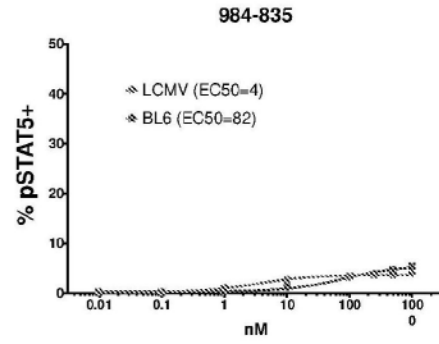
图14B

两个拷贝的IL-2

突变: F42A、D20K



突变: F42A、D20K、Q126A



突变: F42A、D20K、H16A

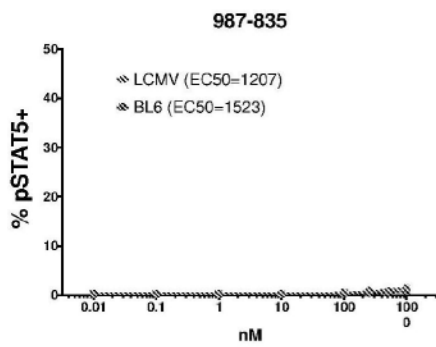
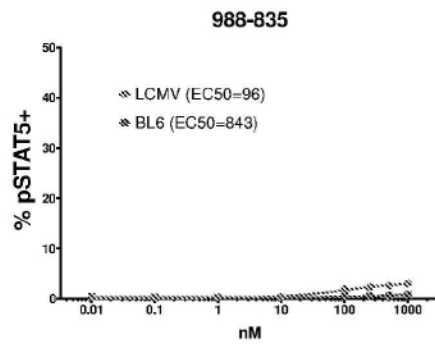


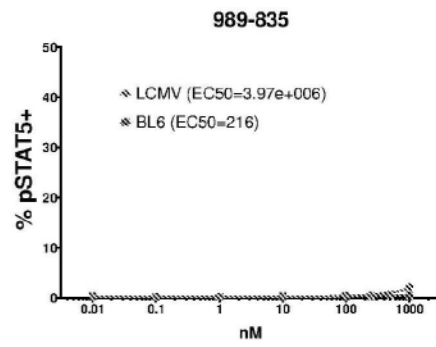
图14C

两个拷贝的 IL-2

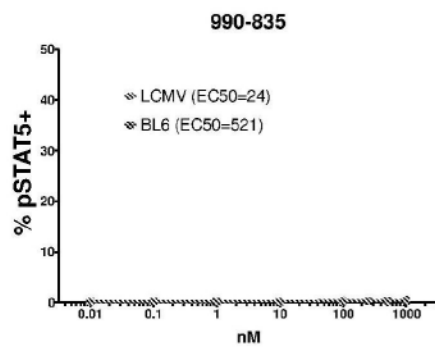
突变: F42A、Y45A、D20K、H16A



突变: F42A、Y45A、D20K



突变: F42A、Y45A、D20K、H16A、Q126A



突变: F42A、Y45A、D20K、Q126A

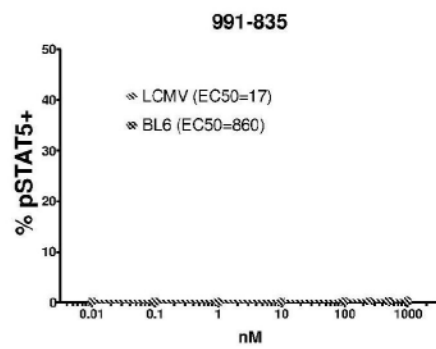
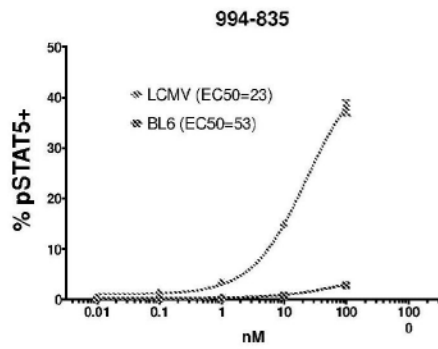


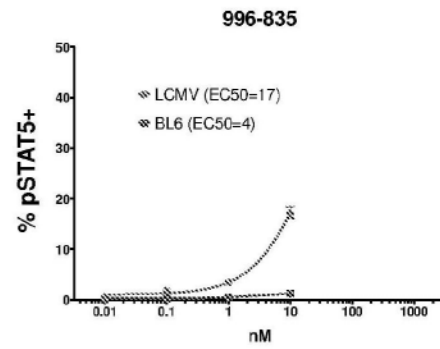
图14D

三个拷贝的IL-2

突变: F42A、D20K



突变: F42A、D20K、E15A



突变: F42A、D20K、H16A

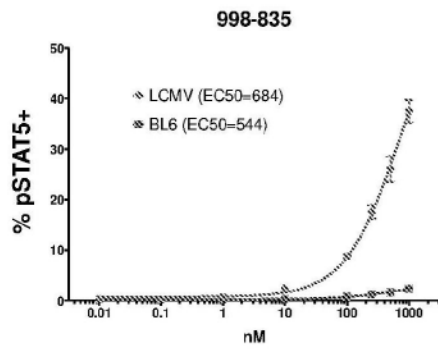
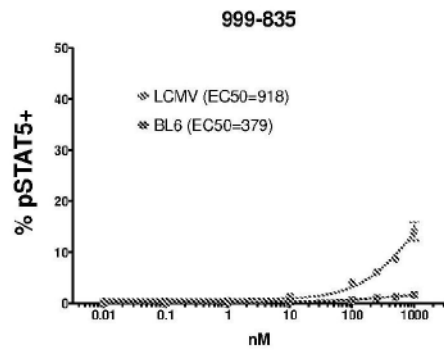


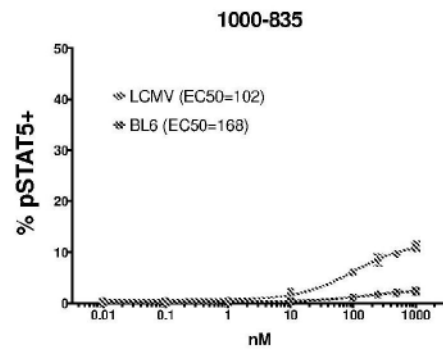
图14E

三个拷贝的IL-2

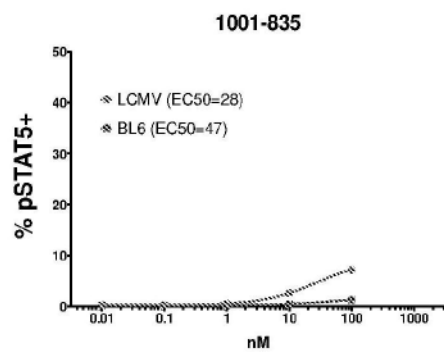
突变: F42A、Y45A、D20K、H16A



突变: F42A、Y45A、D20K



突变: F42A、Y45A、D20K、H16A、Q126A



突变: F42A、Y45A、D20K、Q126A

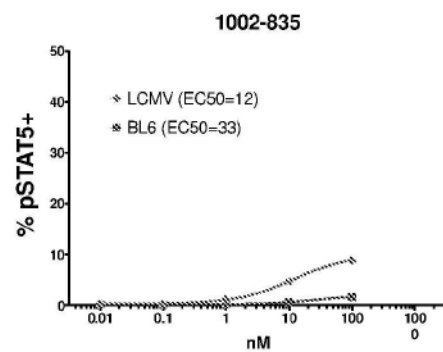


图14F

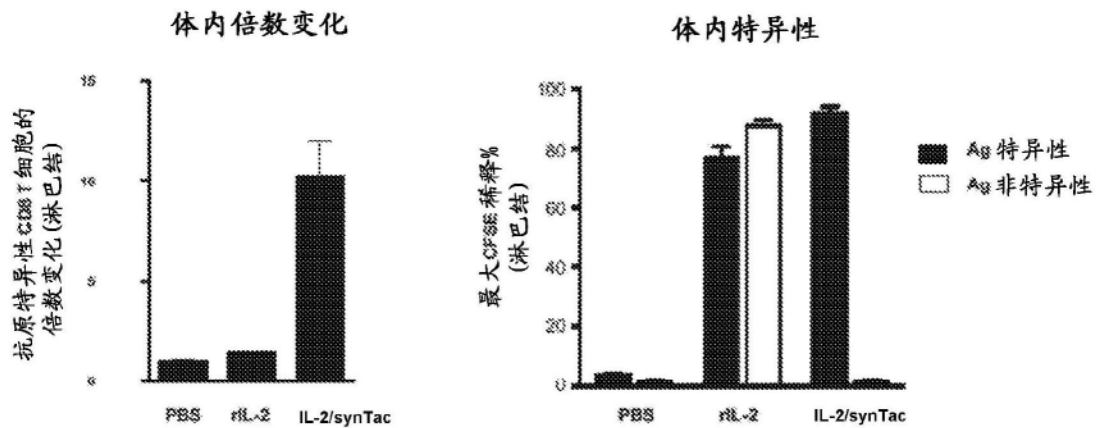


图15

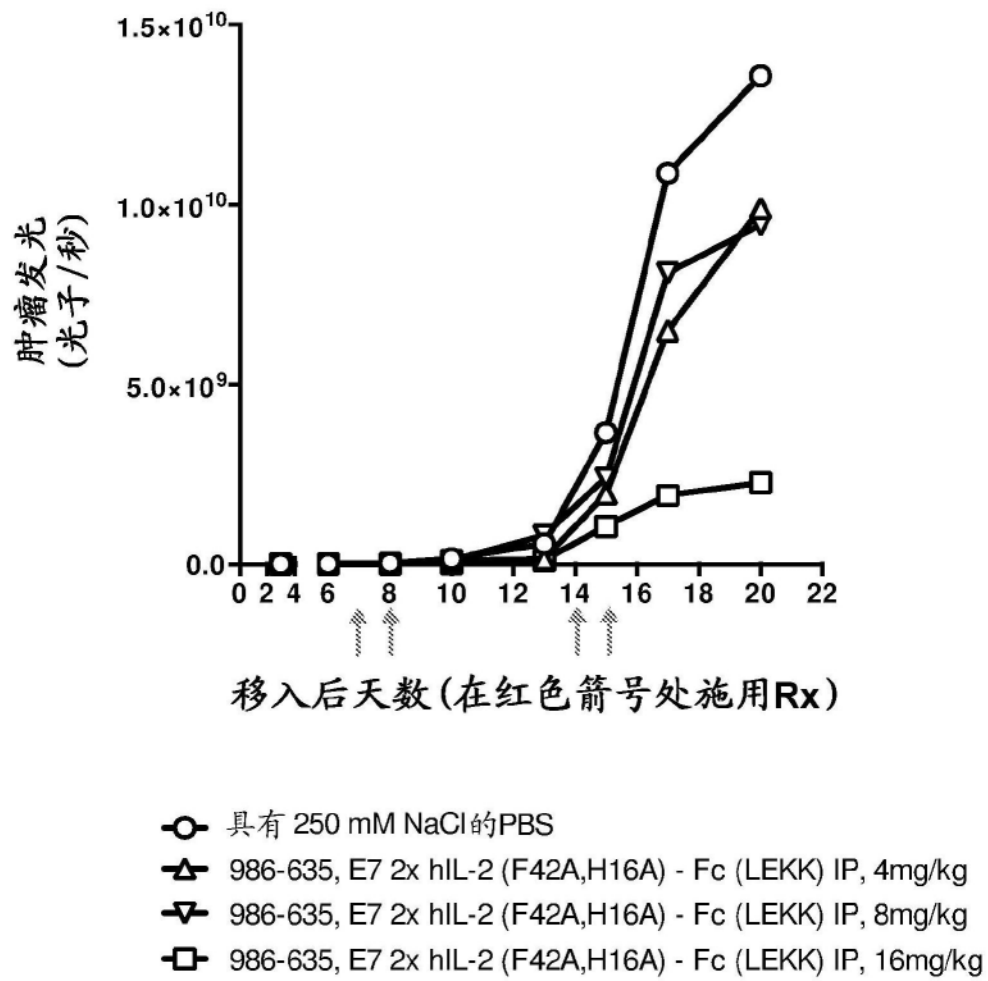


图16A

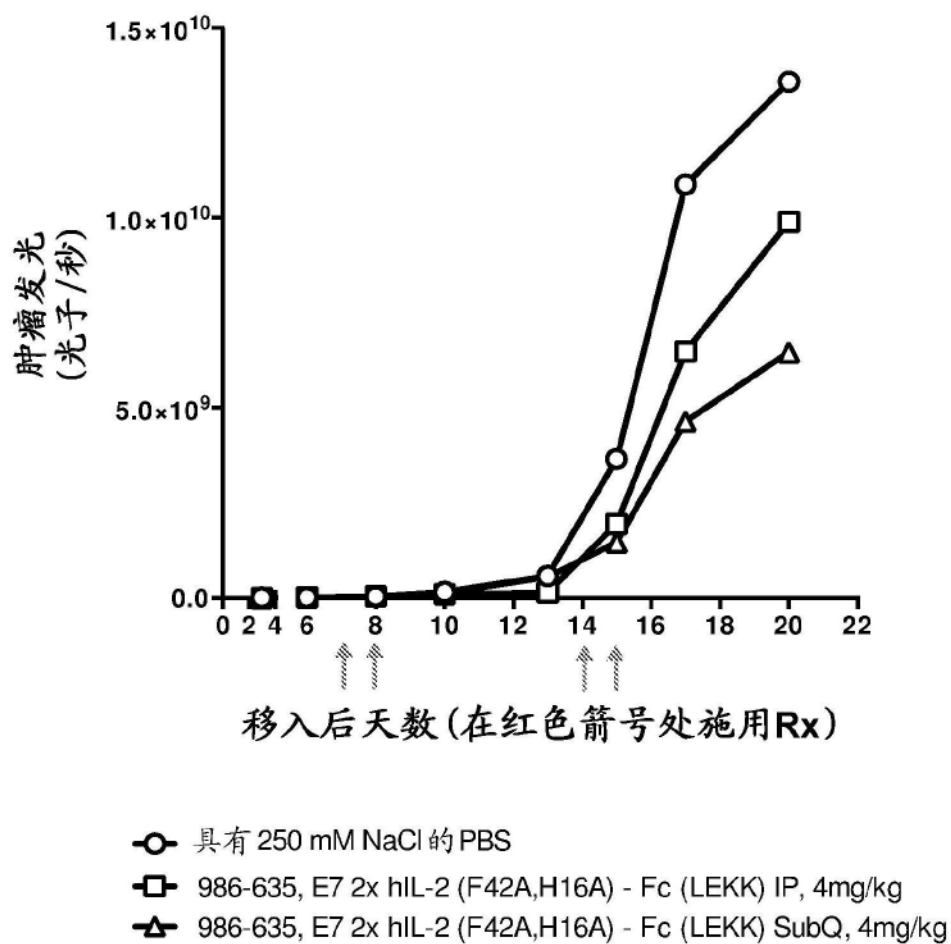


图16B

1X IL-2 (F42A, H16A)-Fc synTac

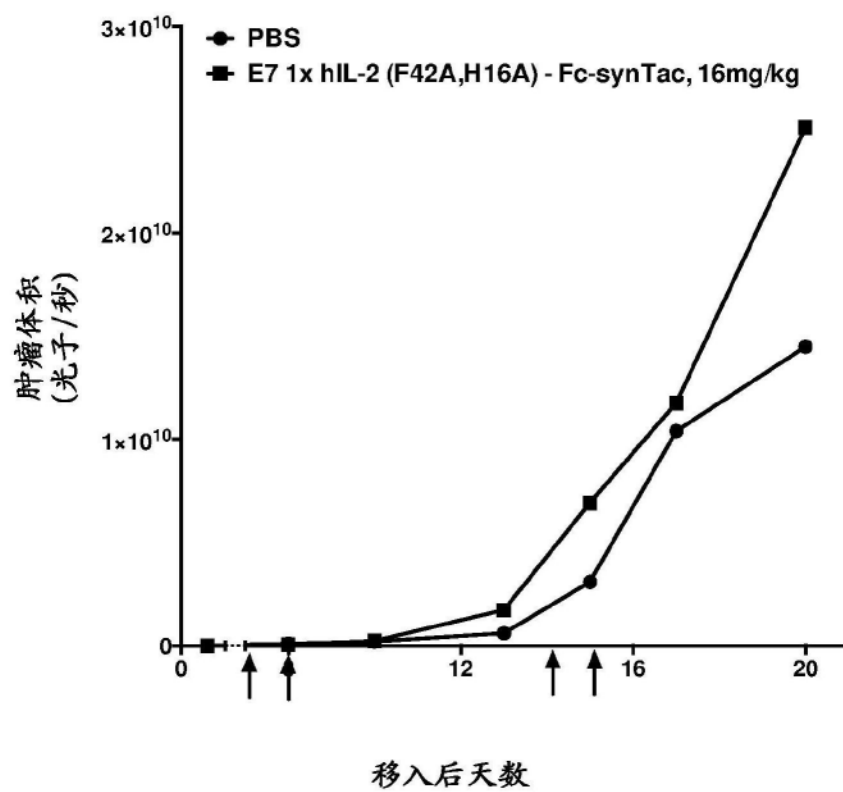


图17A

2X IL-2 (F42A, H16A)-Fc synTac

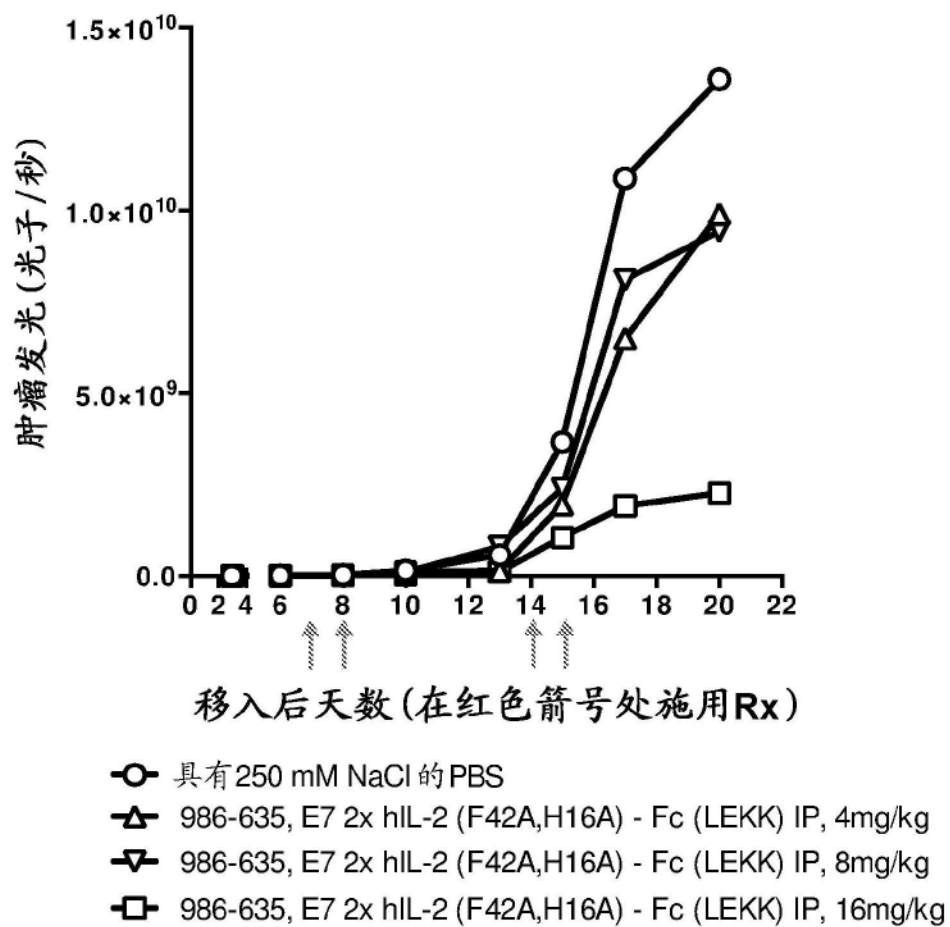


图17B

976-835 LCMV-hIL-2 (F42A, D20K;H16A) (10mg/kg, IP)

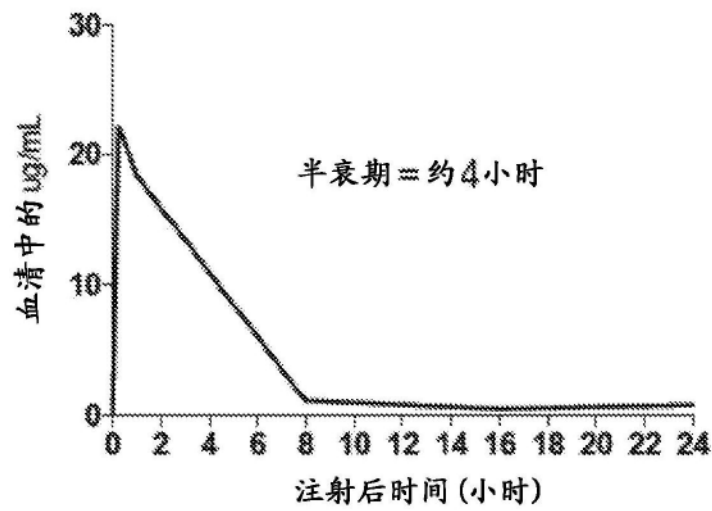
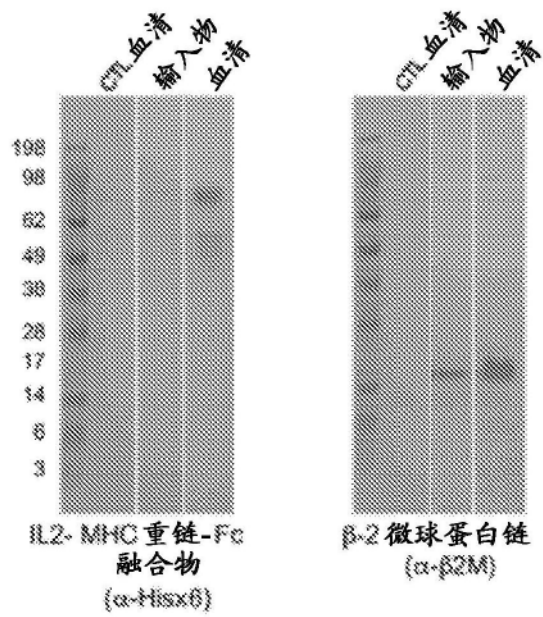


图18



印迹分析

图19

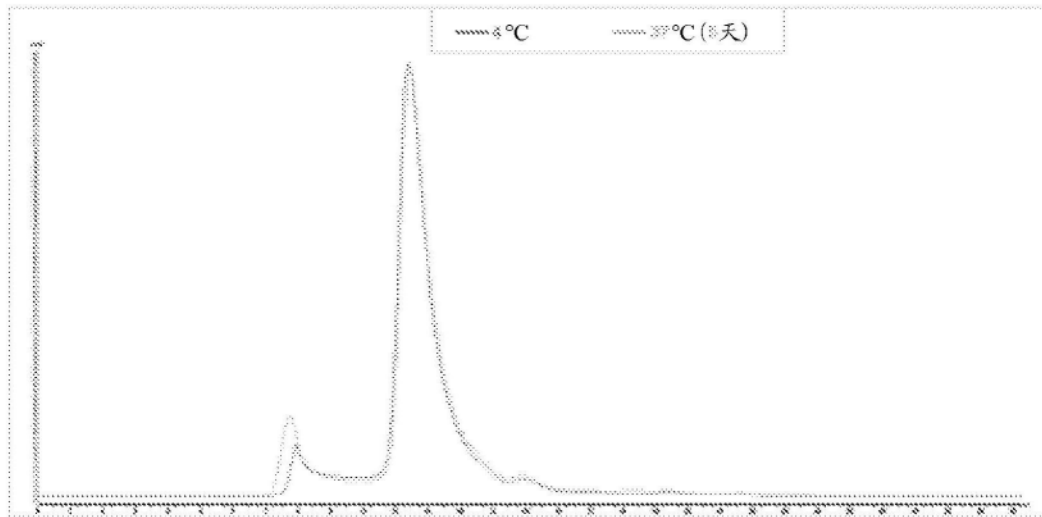


图20

(SEQ ID NO:32)

具有前导肽的CUE101-N297A

MYRMQLLSIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML
 TAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
 TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSSAPTSSST
 KKTQLQLEALLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLE
 EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
 IISTLTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSSVRPGRGEPFIAVGyvDDTQFV
 RFDSDAASORMEPAPWIEQEGPEYWDGETRKVKHSAQTHRVLDLGTLRGAYNQSEAGSHT
 VORMYGCDVGSDFRFLRGYHQAIDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
 QLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKETIQRDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
 LTWORDGEDOTODTELVETRPCGDGTFOKWAAVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
 EAAAGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTIVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

人IL2前导序列-斜体

IL-2 (H16A/F42A) - 粗体 (其中对H16和F42加下划线)

(G4S)4 接头-单下划线

MHC H链 Y84A; A236C-双下划线 (其中Y84A和A236C用粗体表示)

AAAGG 接头-单下划线

人IgG1 Fc; N297A - (粗体和加下划线, 其中N297A未用粗体表示)

图21

(SEQ ID NO:33)

不具有前导肽的CUE101-N297A

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI~~LN~~GINNYKNPKLTRML
 TAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSE
 TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
 KKTQLQLEALLLDLQMI~~LN~~GINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLE
 EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
 IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFT~~SVSRPGRGEPRFI~~AVGYVDDTQFV
 RFDSDAASORMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRV~~DLGTLRG~~AYNOSEAGSHT
 VORMYGCDVGS~~DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLR~~SWTAADMAAOTT~~KKHWEAAHVAE~~
 QLRAYLEGTCVEWLR~~RYLENGKETLORTDAPKTHMTHHAVSDHEAT~~LR~~WCWALS~~FYPAEIT
 LTWORDGEDQTDTEL~~VETRPCGDGTFQKWA~~AVVVP~~SGOEORYTCHVQ~~HEGLPKPLTLRW
 AAAAGG DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI~~SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK~~
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLH~~QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK~~
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV~~FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK~~

IL-2 (H16A/F42A) - 粗体 (其中对H16和F42加下划线)

(G4S)4 接头-单下划线

MHC H链 Y84A; A236C- 双下划线 (其中Y84A和A236C用粗体表示)

AAAGG 接头-单下划线

人 IgG1 Fc; N297A - (粗体和加下划线, 其中N297A未用粗体表示)

图22

(SEQ ID NO:34)

CUE101-N297A

1360:

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACAAACAGTGACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCAATTACTGCTGGATTACAGATGATTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACCTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACCTGGAGGCAATTACTGCTGGATTACAGATGATTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTACATCCGTGTCCCGCCCCGGCCGG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCTGTGCGTTTCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
ACCAGAGCGAGGCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCCGACTGGCGC
TTCTCCGCGGGTACCACAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCCTTGGCGGGATGGAACCTCCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAACCTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAGCAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCAAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATAGTGA

图23A

人 IL2 前导序列-斜体
 人 IL2; H16A=GCA; F42A=GCA-粗体(其中对 GCA 加下划线)
 (G4S)4 接头-单下划线
 人 A0201; Y84A=**GCC**; A236C=**TGC**
 AAAGG 接头-单下划线
 人 IgG1 Fc; N297A=GCA; AGG 变为 **AGA**(仍然是 R), 并且 AGC 变为 **TCC**
 (仍然是 S)-(粗体和加下划线, 其中 GCA 用斜体表示)
 终止密码子(TAGTGA)

图23B

(SEQ ID NO:35)
 具有前导肽的CUE101-LALA
 MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L
 T A K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E
 T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F C Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S A P T S S S T
 K K T Q L Q L E A L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T A K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E
 E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F C Q S
 I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S G S H S M R Y F F T S V S R P G R G E P R F I A V G Y V D D T Q F V
 R F D S D A A S Q R M E P R A P W I E Q E G P E Y W D G E T R K V K A H S Q T H R V D L G T L R G A Y N Q S E A G S H T
 V Q R M Y G C D V G S D W R F L R G Y H Q Y A Y D G K D Y I A L K E D L R S W T A A D M A A Q T T K H K W E A A H V A E
 Q L R A Y L E G T C V E W L R R Y L E N G K E T L O R T D A P K T H M T H H A V S D H E A T L R C W A L S F Y P A E I T
 L T W O R D G E D Q T Q D T E L V E T R P C G D G T F Q K W A A V V V P S G Q E Q R Y T C H V O H E G L P K P L T L R W
 E A A A G G D K T H T C P P C P A P E A A G 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 D V S H E D P E V K
 F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K
 T I S K A 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 L 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 V 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 K

前导肽-斜体
 IL-2 (H16A/F42A)-粗体(其中对 H16 和 F42 加下划线)
 (G4S)4 接头-单下划线
 MHC H 链 Y84A; A236C-双下划线(其中 Y84A 和 A236C 用粗体表示)
 AAAGG 接头-单下划线
 人 IgG1 Fc; L234A; L235A-(粗体和加下划线, 其中 L234A 和 L235A 未用粗体表示)

图24

(SEQ ID NO:36)

不具有前导肽的CUE101-LALA

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI¹LN²GIN³NY⁴KN⁵PK⁶L⁷TR⁸M⁹L¹⁰
 TAKFYMPKKATELKH¹¹LQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN¹²VIVLELKGSE
 TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSSAPTSSST
 KKTQLQLEALLLDLQMI¹³LN¹⁴GIN¹⁵NY¹⁶KN¹⁷PK¹⁸L¹⁹TR²⁰M²¹L²²TAKFYMPKKATELKH²³LQCLEEELKPLE
 EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN²⁴VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSE
 IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG²⁵YVDDTQFV
 RFDSDAASQRM²⁶EPAPWIEQEGPEYWDGETRKVK²⁷KAHSQTHRV²⁸DLGTLRGAYNQSEAGSHT
 VORMYGC²⁹DVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
 OLRAYLEGT³⁰CV³¹EWLRRYLENGKETLORTDAPKTHMTHHAVSDHEATLR³²CWALSFYPAEIT
 LTWORDGEDQTQDTEL³³VETRPCGDGT³⁴FQKWA³⁵AVVVP³⁶SGQEQR³⁷YTCHVQHEGLPKPLTLRW
 EAAAGGDK³⁸THTCPPCPAPEAAGG³⁹PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV⁴⁰VVDVSHEDFEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSFFFLYSLKLTVDKSRWQQGNV⁴¹VFSCSV⁴²MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IL-2 (H16A/F42A) - 粗体 (其中对 H16 和 F42 加下划线)

(G4S)4 接头-单下划线

MHC H 链 Y84A; A236C-双下划线 (其中Y84A和A236C用粗体表示)

AAAGG 接头-单下划线

人 IgG1 Fc; L234A; L235A -(粗体和加下划线, 其中L234A和L235A未用粗体表示)

图25

(SEQ ID NO:37)

CUE101-LALA: 编码具有前导肽的CUE101-LALA的核苷酸序列

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCAATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCAATTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACCTGGAGGCAATTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
ACCAGAGCGAGGCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCCGACTGGCGC
TTCTCCGCGGGTACCACAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACACGCTGTCTGTACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAAAGGGGGGACCGTCACTCTCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAACAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCAAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATAGTGA

图26A

人 IL2 前导序列-斜体

人 IL2; H16A=GCA; F42A=GCA - 粗体 (其中对 GCA 加下划线)

(G4S)4 接头-单下划线

人 A0201; Y84A=**GCC**; A236C=**TGC** - 双下划线 (其中GCC和TGC用粗体表示)

AAAGG 接头-单下划线

人 IgG1 Fc; L234A、L235A = GCCGCC

N297= AAC; AGG 变为 **AGA** (仍然是R), 并且AGC变为 **TCC**

(仍然是S)-(粗体和加下划线, 其中GCCGCC用斜体表示)

终止密码子 (TAGTGA)

图26B

(SEQ ID NO:38)

具有前导肽的 CUE101-TM

MYRMQLLSCTALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI L NGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMI L NGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEP RFIAGVYDDTQFV
RFDSDAASORMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKYKAHSQTHRVDLGT LRGAYNQSEAGSHT
VORMYGC DVGS DWRFELRGYHOYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCAWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTDTELIVETRPCGDGTFOKWAAVVVP SGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

前导肽 - 斜体

IL-2 (H16A/F42A) - 粗体 (其中对 H16 和 F42 加下划线)

(G4S)4 接头-单下划线

MHC H 链 Y84A; A236C- 双下划线 (其中Y84A和A236C用粗体表示)

AAAGG 接头-单下划线

人 IgG1 Fc; L234F; L235E; P331S - (粗体和加下划线, 其中L234F、L235E和
P331S未用粗体表示)

图27

(SEQ ID NO:40)

CUE101-TM: 编码具有前导序列的CUE101-TM的核苷酸序列

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCAATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTACAAACAGTGCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCAATTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCAAACTCACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACCTGGAGGCAATTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACCTCACCAGGATGCTCACAAGCAAGTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAAGTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTACATCCGTGTCCCGCCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCTGTGCGGTTGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
ACCAGAGCGAGGCGCGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCTGGACTGGCGC
TTCTCCGCGGGTACCACAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTGTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCCTTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAATTCGAGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAAGCAGC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCAAACAAAGCCCTCCAGCCAGATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATAGTGA

图29A

(SEQ ID NO:43)

编码具有前导肽的 1274 的 1274 核苷酸序列

ATGTCTCGCTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCC**TACATGCTCGA**
TTTGCAGCCCCGAAACGACGGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGAGGCGGTTGGGGCGGAGGTGGTAGTATC
 CAGCGTACTCCAAAGATTCAAGTTTACTCAT**TGCC**ATCCAGCAGAGAATGGAAAGTCAAATTTCTGAATT
 GCTATGTGTCTGGGTTTCATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTGAAGAATGGAGAGAGAATTGAAAA
 AGTGGAGCATTCACTTGTCTTTCAAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGTATTATACTGAATTCACCCC
 CACTGAAAAAGATGAGTATGCCTGCCGTGTGAACCACGTGACTTTGTCACAGCCCAAGATAGTTAAGTG
 GGATCGAGACATGTAGTGA

人β2M前导序列--斜体

E7(11-20)-粗体和加下划线

(G4S)3接头-单下划线

人β2M; R12C=~~GGC~~-双下划线 (TGC用粗体表示)

终止密码子TAGTGA

图32

(SEQ ID NO:44)

野生型人IgG1 Fc序列:

DKTHTCPPCPAPE**LL**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
 VHNAKTKPREEQY**Y**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP**PI**EKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
 LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图33A

(SEQ ID NO:45)

人IgG1 Fc突变体: L234F/L235E/P331S (三重突变体“TM”)

DKTHTCPPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
 VHNAKTKPREEQY**Y**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP**S**IEKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
 LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图33B

(SEQ ID NO:46)

人IgG1 Fc突变体:N297A

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQY~~ST~~STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图33C

(SEQ ID NO:47)

人IgG1 Fc突变体:L234A/L235A ("LALA")

DKTHTCPPCPAPE~~AA~~GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

残基根据EU索引 (Kabat编号) 加以编号

图33D

(SEQ ID NO:48)

B2M R12C

IQRTPKIQVYS~~CH~~HPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLL
YYTEFTPTEKDEYACRVNHVTL~~SQ~~PKIVKWDRDM

图34A

(SEQ ID NO:49)

IL-2 (H16A; F42A)

APTSSSTKKTQLQLE~~A~~ALLLDLQMI~~L~~NGINNYKNPKLTRMLT~~A~~KFYMPKKATELKHLQCLEEEELKP
LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS
TLT

图34B

(SEQ ID NO:50)

I 类 MHC-H 链 A0201 (Y84A; A236C)

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR
 KVKAHSQTHRVDLGLTLRGAYNQSEAGSHTVQRM YGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDL
 RSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGT CVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVS
 DHEATLRCWALSFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRP CGDGT FQKWA AVVVPSGQEQR YTCH
 VQHEGLPKPLTLRWE

图34C

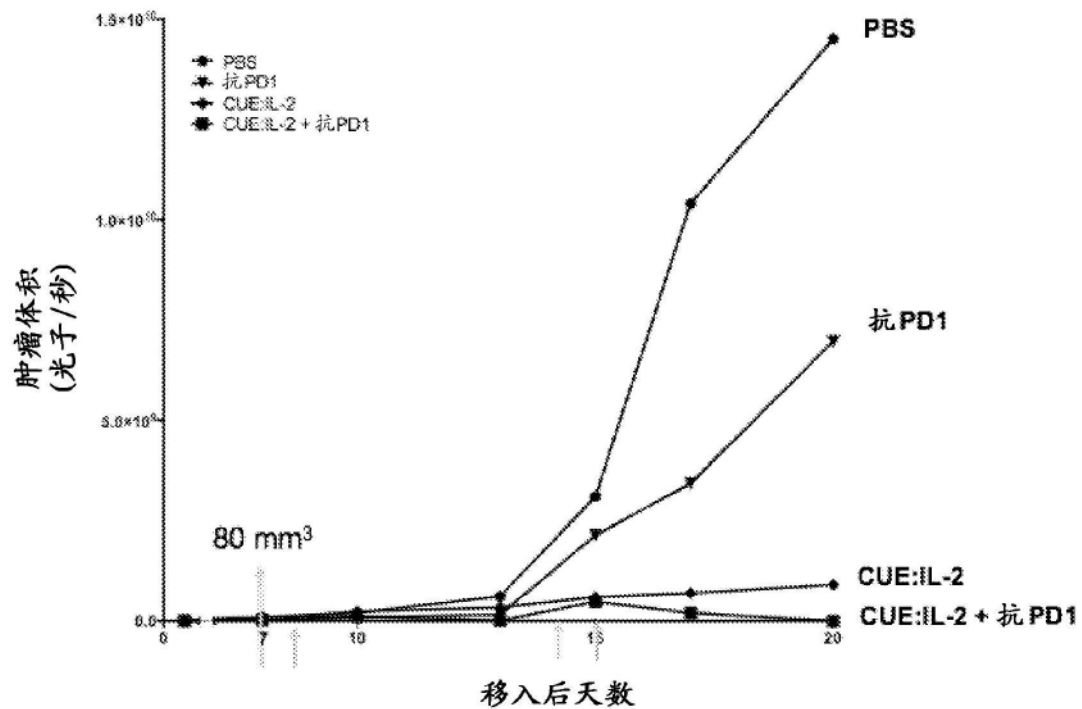


图35

4-1-BBL
智人
GenBank NP_003802
细胞质结构域 = 1-25
跨膜结构域 = 26-48
胞外域 = 49-254
TNF同源结构域 = 80-254、81-254 或 80-246

1 MEYASDASLD PEAPWPPAPR ARACRVLPWA LVAGLLLLLL LAAACAVFLA CPWAVSGARA
61 SPGSAAASERL REGPELSPDD PAGLLDLRQG MFAQLVQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:99)

图36A

K127

81
121 TGGLSYXEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLNTEA RARIHWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:100)

图36B

K127

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSY²AEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA FARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:101)

图36C

Q227

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
81
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQPL RSAAGAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAQO RLGVHLHTEA RARHAWXLQO GATVILGLRV
241 TPEIRAGLPS PRSE (SEQ ID NO:102)

图36D

M91

81 PAGLLDLRQG XFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSCS VSLALHLQPL RSAACAALA
181 EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:103)

图36E

F92

81 PAGLLDLRQG M~~X~~AQLV~~A~~QNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDI KELVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 104)

图36F

Q94

81 PAGLLDLROG MFAXLVQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
 121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLOPL RSAAGAAALA
 181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
 241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:105)

图36G

L95

81 PAGLLDLRQG MFAQXVAQNV LLIDGPISWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHIQPL ESAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHANQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:106)

图36H

V96

```

81      PAGLLDLRQG MFAQLXZQNV LLIIDGPILSWY SDPGLAGVSL
121    TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL ESAAGAAALA
181    LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241    TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:107)

```

图36I

Q98

81 81 PAGLLDLRQG MFAQLVAXNV LLIIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 121 TGGLSYKEDI KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:108)

图36J

N99

81
121
181
241

PAGLLDLRQG MFAQLVACQ^{XV} LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQPL RSAAGAAALA
TGGLSYKEDI EARNSAFCFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:109)

图36K

V100

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQN~~X~~ LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDI KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSPAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:110)

图36L

L101

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV XLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAQG RLGVHLHTEA PARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:111)

图36M

L102

81 PAGLLDLRQG MTAQLVAQNVLXIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ PLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLCGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:112)

图36N

1103

```

81      PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLXDGPLSWY SDPGLAGVSL
121    TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181    LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAQO RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241    TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:113)

```

图360

G105

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LLIID~~XX~~PLSWY SDPGLAGVSL
121 TCGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLAIHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAGQ RLGVNHLTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:115)

图36Q

P106

81
121
181
241

TGGLSYKEDI KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHIQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGEFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLCLERV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:116)

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGXL~~SWY~~ SDFGLAGVSL

图36R

L107

81
121
181
241

KEIVVAKAGV
TGGLSYKEDT
TPEIPAGLPS
EARNSAFGFQ
LTVDLPPASS
YYVFFQLELR
PAGLLDLRQG
MFAQLVAQNV
LLIDGP~~XS~~WY
VSLALHLQPL
RHHAWQLTQ
RVVAGEGSGS
RLGVHLHTEA
SDPGLAGVSL
RSAAGAAALA
GATVGLGLERV

(SEQ ID NO:117)

图36S

S108

81 PAGLIDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPI~~X~~WY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:118)

图36T

W109

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSXY SDFGLAGVSL
 121 TGGLSYKEDT KEIVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA PARHAWQLTQ GATVLGLFRV
 241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:119)

图36U

YII O

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQN~~V~~ LLIDGPLSW~~X~~ SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQFL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAQ~~Q~~ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:120)

图36V

SIII

81 PAGLIDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY ~~XD~~PGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:121)

图36W

D112

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SXPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA PARHAWQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:122)

图36X

P113

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGELSWY SDXGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
161 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:123)

图36Y

G114

81	PAGLLDLRQG MEAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPXL	LAGVSL
121	TGGLSYKEDT KELVVAKGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL	RSAGAAALA
161	LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ	GATVLGLFRV
201	TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:124)	

图36Z

L115

```

81      PAGLIDLRQG MEAQLVAQNV LLIIDGFLSNV SDPGXAGVSL
121    TGGLSYKEET KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLOPL RSAAGAAALA
181    LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241    TPEIFAGLPS PRSE (SEQ ID NO:125)

```

图36AA

G117

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQNVL LLDGPLSWY SDPGLAXVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQPL RSAAGAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAQO RLGVHLTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:126)

图36BB

V118

```

81      PAGLLDLRQG MEAQLVAQNV LLIDGPISWY SDPGLAGXSL
121    TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHIQPL RSAAGAAALA
181    LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241    TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:127)

```

图36CC

S119

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVXL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:128)

图36DD

L120

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSK
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 129)

图36EE

T121

81	PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPILSWY SDPGLAGVSL
121	XGGLSYKEDT KELVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLOPL RSAAGAAALA
181	LTVDLPEASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241	TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:130)

图36FF

G122

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 121 **TX**GLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQLPL RSAAGAALA
181 181 ITVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAQO RLGVHLTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 241 TTEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 131)

图36GG

GI23

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDFGLAGVSL
121 TG~~X~~LSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQEL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAGQ RLGVHLTEA RARHAWQLTIQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 132)

图36HH

L124
 81
 121 TGG~~2~~SYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
 241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:133)
 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL SDFGLAGVSL

图36II

S125

81	PAGLLDLRQG MFAQLVQNV LLIDGFLSWY SDFGLAGVSL
121	TGGLXYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181	LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241	TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:134)

图36JJ

Y126

81	PAGLLDLRQG MFRQLVAGNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121	TGGLSXXKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181	LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ PLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241	TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:135)

图36KK

E128

81
121 TGGLSYK~~K~~DT KEIVVAKAGV YYVFFQLELR PVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ ELGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:136)

图36LL

T130

81	PAGLLDLRQG	MEQLVAQNV	LLIDGPLSWY	SDPGLAGVSL
121	TGGLSYKEDX	KEIVVAKAGV	YVVFQLELR	RVVAGEGSGS
181	ITVDLPPASS	EARNSAFGFQ	GRLLHLSAGQ	RLGVHLHTEA
241	TPEIPAGLPS	PRSE (SEQ ID NO: 138)	RARHAWQLTQ	GATVIGLERV

图36NN

E132

81	PACILDLRCG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121	TGGLSYKEDT KX LVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181	ITVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241	TPEIFAGLPS PRSE (SEQ ID NO:140)

图36PP

F144

81 FAGLLDLRQG MFAQLVAQNVLIDGPLSNW SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAQO RLCVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVIGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 141)

图36QQ

F145

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPISWY SDPGLAGVSL
 121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVF~~XX~~QLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQPL RSAAGAAALA
 181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
 241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:142)

图36RR

Q146

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQNVL LLIIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVF~~FX~~LELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAQG RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:143)

图36SS

L147

81 PAGLIDLRQG MFAQLVAQNV LIIDGPLSWY SDPGLAGVSL
 121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQXELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSARGAAALA
 181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARNANQLTQ GATVLGLERV
 241 TPEIPAGLPS ERSE (SEQ ID NO:144)

图36TT

E148

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKGV YYVFFQLXLR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSARGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAQ RLGVHLHTEA RARHANQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:145)

图36UU

L149

81	PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL	LLIDGELSWY SDPGLAGVSL
121	TGGLSYKEDT KELVVAKAGV	YVVFQLEXR RVVAGEGSGS
181	LTVDLPPASS EARNSAFGFQ	GRLHLISAGQ RLGVHLHTEA
241	TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:146)	RARHAWQLTQ GATVLGLFRV

图36VV

R150

81	PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LIIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121	TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELX RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181	LTVDLPPASS EARNAPGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241	TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:147)

图36WW

R151
81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR **XVVAGEGSGS** VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHILTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:148)

图36XX

V152

81	PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LIIDGPIISWY SDPGLAGVSL
121	TCGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR R X VAGEGSGS VSI A HLQPL PSAGCAAALA
181	LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAQ RLG V HLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241	TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:149)

图36YY

V153

81 PAGLLDLRQG MFAQIVAQNV LLIDGPISWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVXAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 ITVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:150)

图36ZZ

G155

81
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAXEGSGS VSLALHLQPL RSPAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHANQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:151)

图36AAA

E156

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDEGLAGVSL
121 TGGISYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGXGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHANQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 152)

图36BBB

G157

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGE~~XX~~SGS VSLALHLOPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAGQ RLGVHLTEA RARHAWOLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:153)

图36CCC

S158

81 PAGLLDIRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVYAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEG**X**GGS VSLAHLOPL RSAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 154)

图36DDD

D184

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR FVVAGEGSGS VSLALHLOPL RSAAGAAALA
181 LTVXLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 155)

图36EEE

5817

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQNV LLLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDXPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAQO RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVGLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:156)

图36FFF

981d

81 PAGLLDLRQ MFAQLVAQNVL ILLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGRAALA
181 LTVDLXFPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHLTEA RARHAWQLTQ GATVGLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:157)

图36GGG

P187

81
121
181
241

TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR
LTVDLPTASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:158)

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY
VSLALHLQPL PSAAGAAALA
RARGHQLTQ GATVLGLFRV

图36HHH

S189

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQNVL LLDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDELPPAXS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLCVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TTEIFAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 159)

图36III

1613

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSNY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS XARNSAFGQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA PARHAWQLTQ GATVILGLFRV
241 TPEIPAGLPS ERSE (SEQ ID NO:161)

图 36KKK

R193

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGCSG VSLALHLQPL RSAAGAALA
181 LTVDELPASS EAXNSAFGQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA PARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:162)

图36LLL

N194

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LLDGFLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARXSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TTEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 163)

图36MM

S195

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVEFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARN~~XX~~AFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 164)

图36NNN

F197

81 FAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSA~~X~~GFQ GRLLHLSAGQ ELGVHLHTEA RARHANQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:165)

图36000

Q210

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LLDGELSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLEIR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHISAGX RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 166)

图36PPP

R211

```

81      PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121    TGGLSYKEDT KEIVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181    LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ XLGVHLHTEA RARHANQLTQ GATVIGLERY
241    TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:167)

```

图36QQQ

L212

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQN^V LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAQG PXGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVGLGLFRV
241 TREIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 168)

图36RRR

G213

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLEIR RVVAGEGSGS VSLAIHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLK²VHLHTEA RARHAWQLTQ GATVIGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:169)

图36SSS

V214

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLES PRSE (SEQ ID NO: 170)

图36TTT

H215

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPILSNY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KEIVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLAIHLQPL PSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGV²XLHTEA RARHANQLTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:171)

图36UUU

L216

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQNVL IIDGPLLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAQ RLGV~~X~~HTEA RARHAWQLTQ GATVGLGLFRV
241 TREIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:172)

图36VVV

H217

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KEIVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLXTEA PARHAWQLTQ GATVVLGLFRV
241 TPEIEAGLPS ERSE (SEQ ID NO:173)

图36WWW

T218

81 FAGLLDLRQG MFAQLVAQNIV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ PLGVHLHXEA RARHAWQLTQ GATVILGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 174)

图36XXX

E219

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LLDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAALAA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGTQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTXA PARHAWQLTQ GATVILGLRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:175)

图36YYY

R22I

81
121
181
241

TGGLSYKEDT
LTVDLPPASS
TPEIPAGLPS

KELVAKAGV
EARNSAFGFQ
PRSE (SEQ ID NO:176)

PAGLLDLRQG
YYVFFQLELR
GRLLHLSAGQ

MFAQLVAQNV
RVVAGEGSGS
RLGVHLNTEA

LLIDGPLSWY
VSLALHLQPL
XARHAWQLTQ

SDPGLAGVSL
RSAAGAAALA
GATVILGLFRV

图36ZZZ

R223

81 PAGLLDIRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RAX¹HAWQLITQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:177)

图36AAAA

H224

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNVL LIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDI KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARXAWQLTQ GATVILGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:178)

图36BBB

W226

81 PAGLLDLRQG MEAQLVAQNVLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGQ GRLLHLSAGQ RLGVHLTEA RARBA~~X~~QLTQ GATVILGLFRV
241 TREIPAGLFS PRSE (SEQ ID NO: 179)

图36CCC

L228

81 PAGLLDLRQG MFAQLVQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQXTQ GATVLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 180)

图36DDDD

6721

81 PAGLLDLRQ MEAQLVAQNVLIIIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLAHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLTEA RARHAWQLXQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLFS PRSE (SEQ ID NO: 181)

图36EEEE

Q230

81
 121
 181
 241

TGGLSYKEDT
 KELVAKAGV
 EARNSEGFQ
 TPEIPAGLPS

YYVFFQLELR
 RVVAGEGSGS
 GRLLHLSAQO
 PRSE (SEQ ID NO:182)

PAGLLDLRQ
 MFAQLVAQNV
 RLGVHLHTEA
 RARHAWQLTX

LLIDGPLSWY
 VSLALHIQPL
 RARHAWQLTX
 GATVGLGLFRV

SDFGLAGVSL
 RSEAGAAALA
 GATVGLGLFRV

图36FFFF

G231

81
121
181
241

KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ ~~KATV~~LGLEFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:183)

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDEGLAGVSL

图36GGGG

T233

81 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLAIHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GAXVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:184)

图36HHHH

V234

81 PAGLLDLRQG MFAQLVQNV LLIDGPISWY SDPGLAGVSL
121 TGCLSYKEDT KELVVAKAGV YVVFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHIQPL PSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RRGVHLETER RARHAWQLTQ GATXLGLERV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:185)

图36IIII

智人
4-1BB

```

1  mgnscynlva  tlllvlnfer  trslqdpesn  cpagtfcdnn  rnqlspcpdp  nsfssaggqr
61  tcdicrqckg  vfrtrkecss  tsnaecdctp  gfhlqgagcs  mcegdckggg  eltkkgckdc
121  cfgtfndqkr  glcrpwtncs  ldgksvlvng  tkerdvvcgp  spadispgas  svtpapapare
181  pghspqilisf  flaltstall  flifflltlrf  svvkryrkk1  lyifkqpfmr  pvqttgeedg
241  cscrifpeeee  ggcel  (SEQ ID NO:186)

```

图37

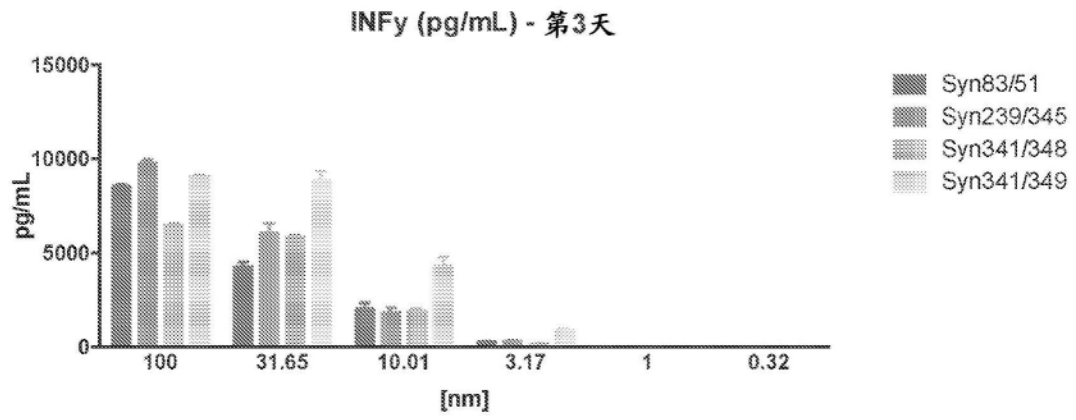


图38A

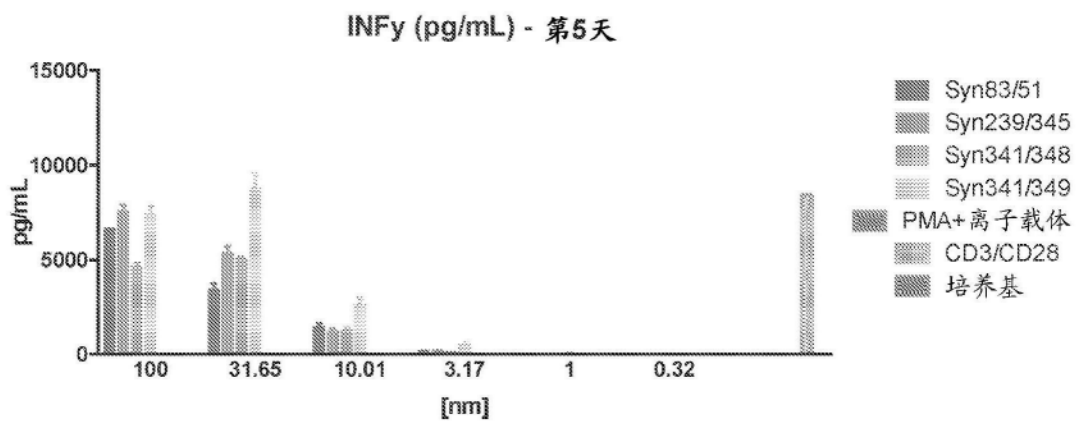


图38B

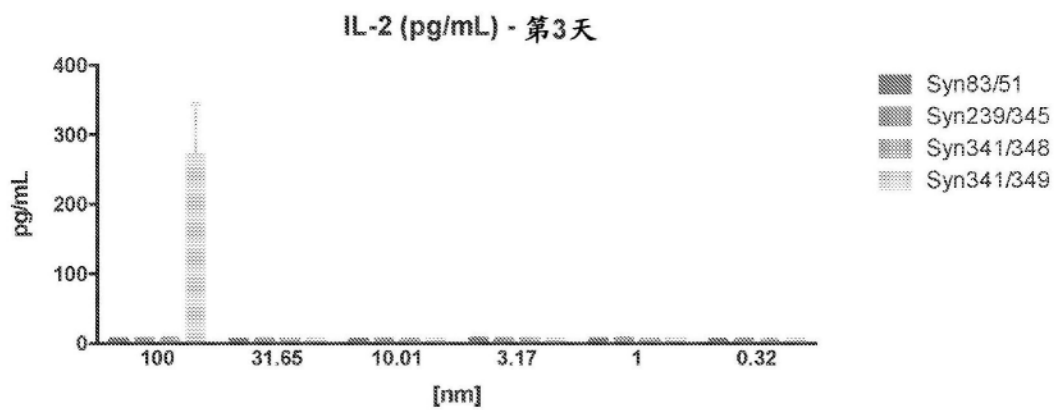


图39A

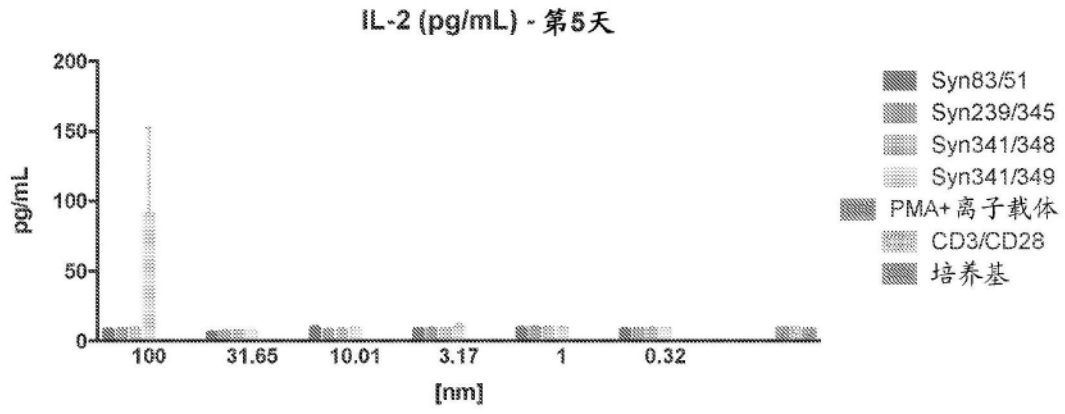


图39B

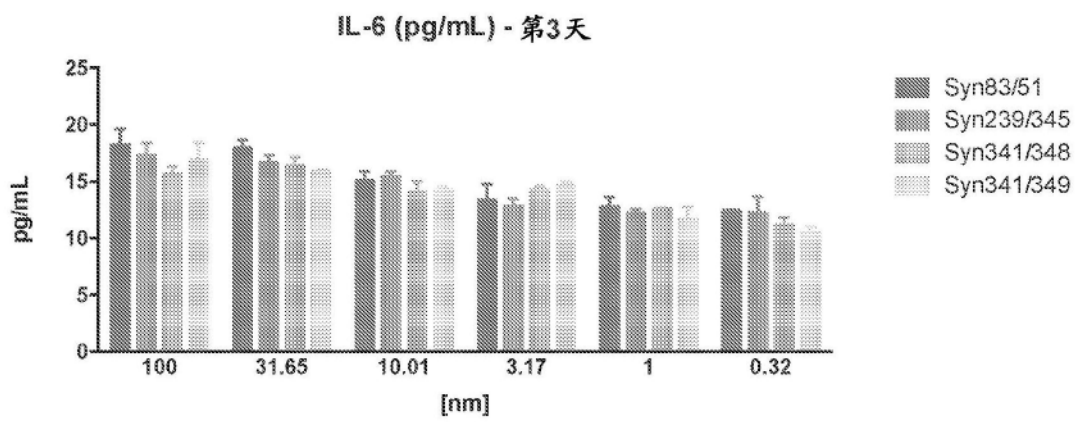


图40A

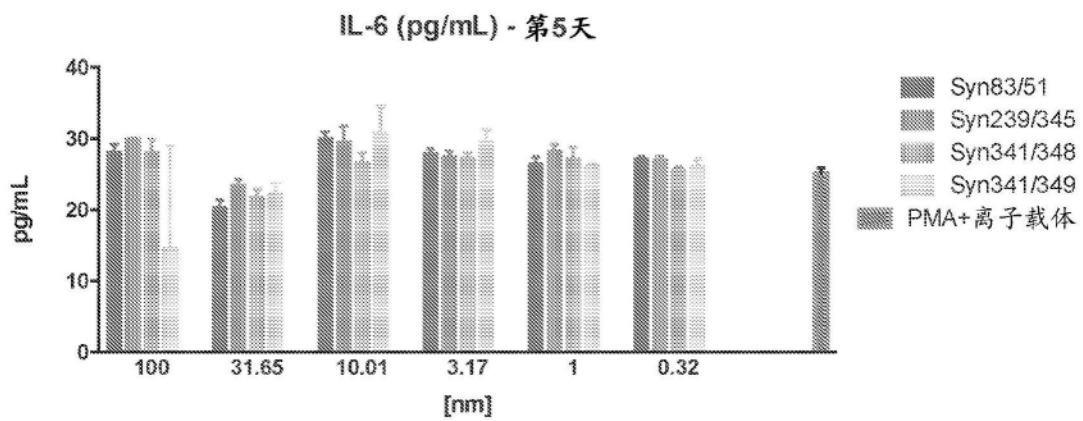


图40B

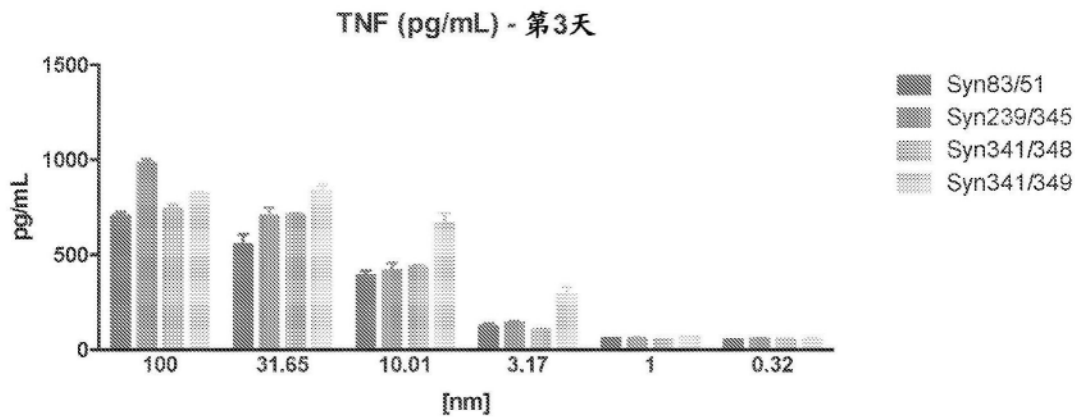


图41A

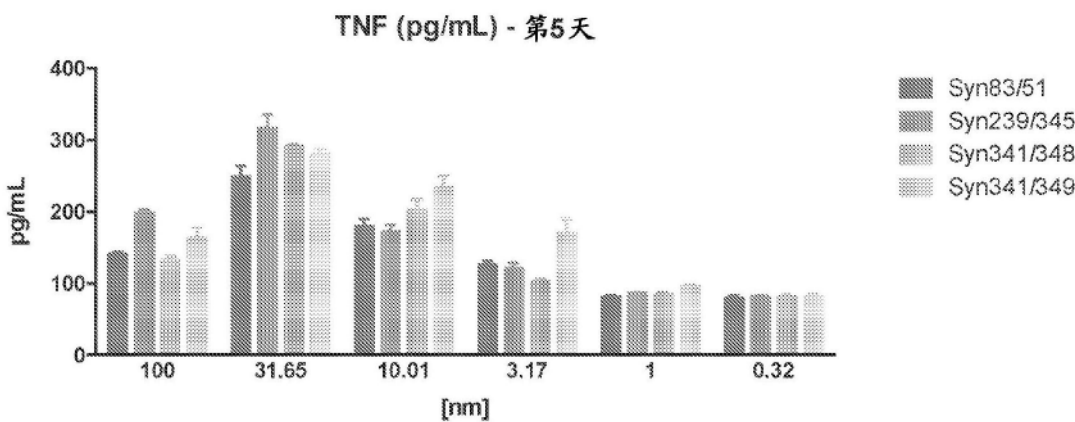


图41B

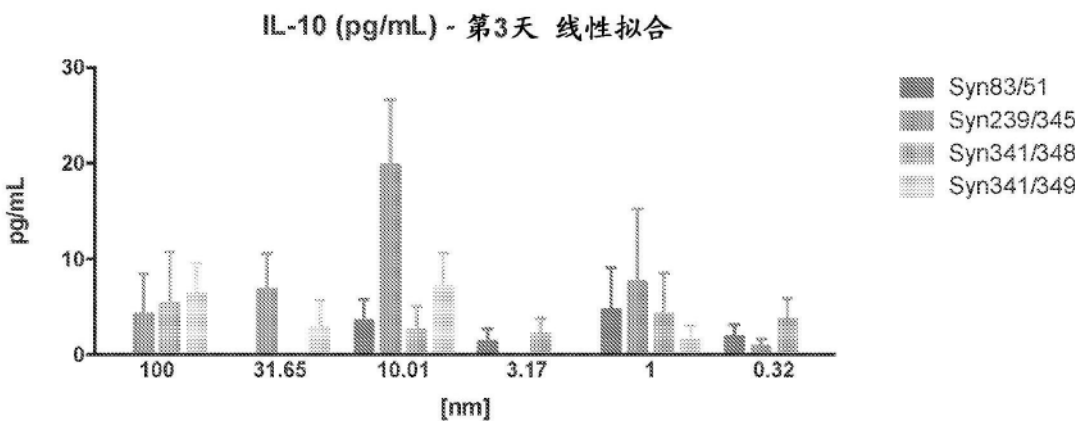


图42A

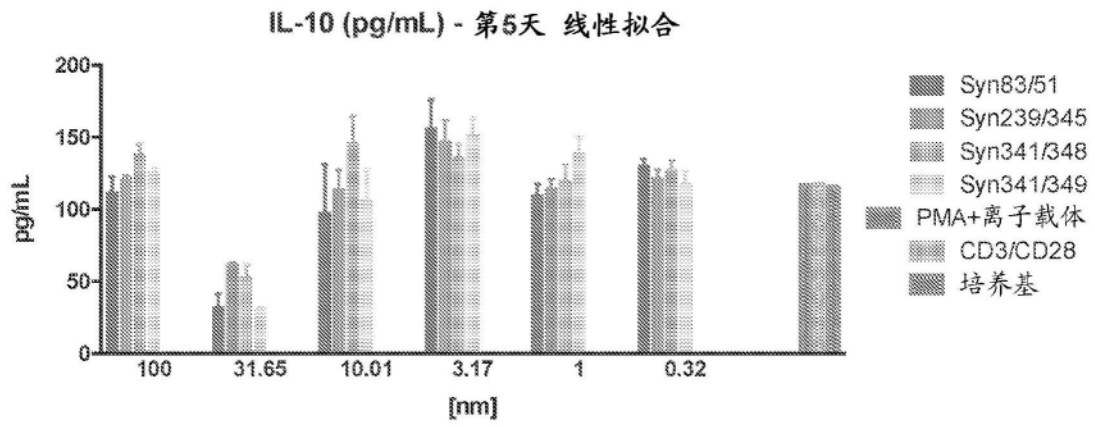


图42B

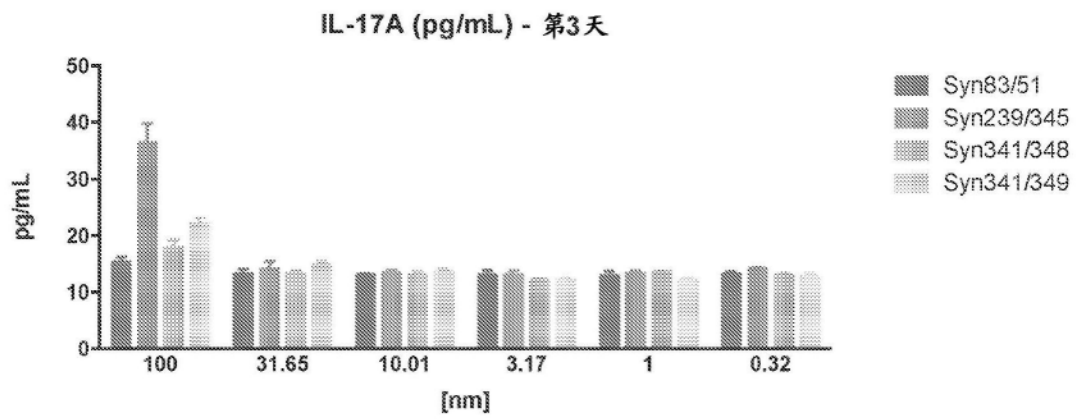


图43A

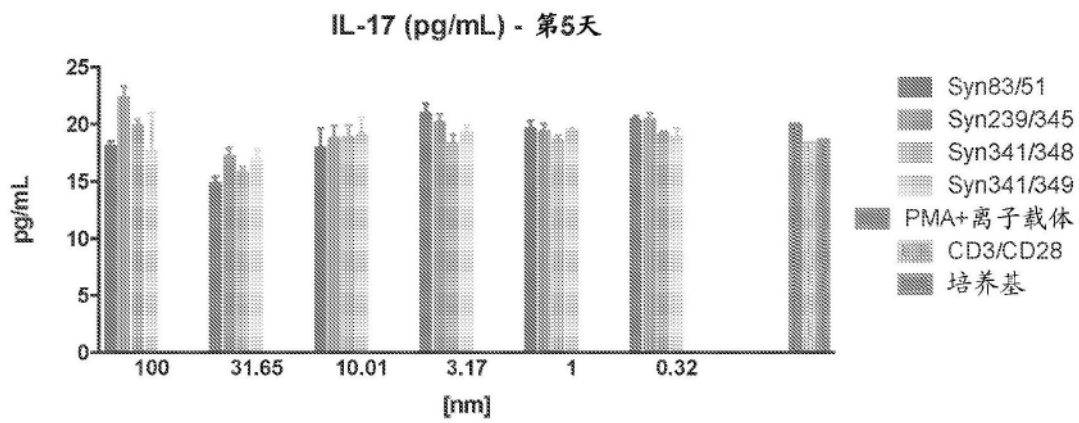


图43B

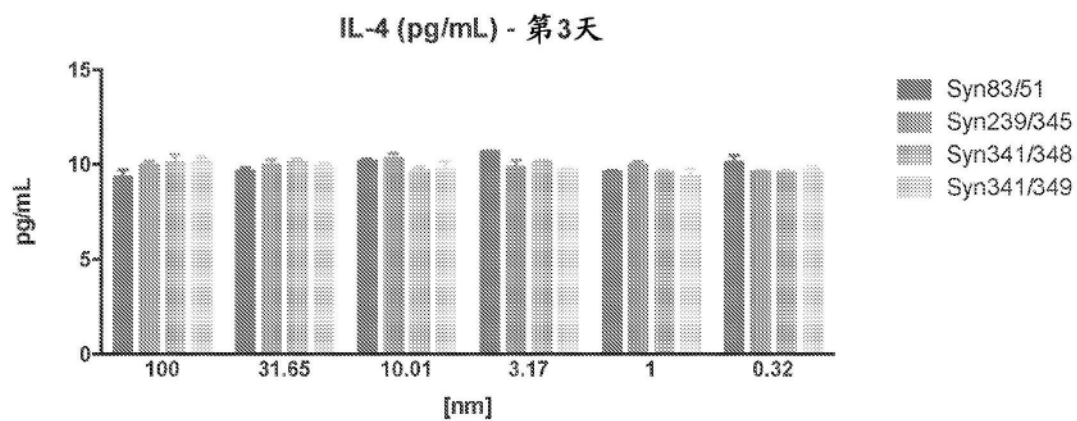


图44A

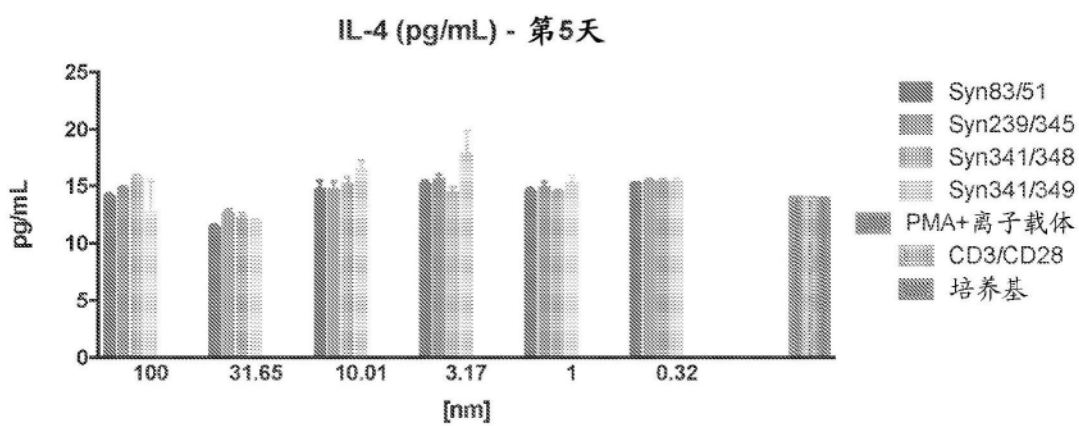


图44B

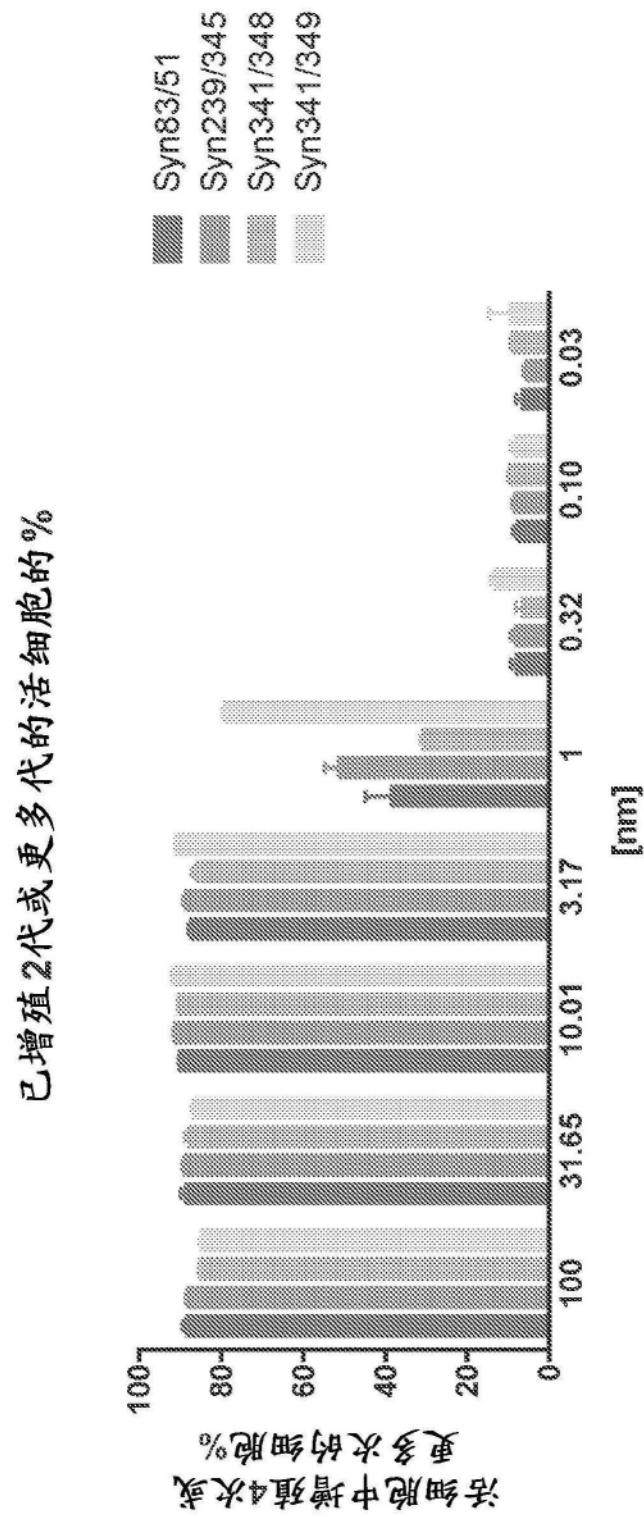


图45

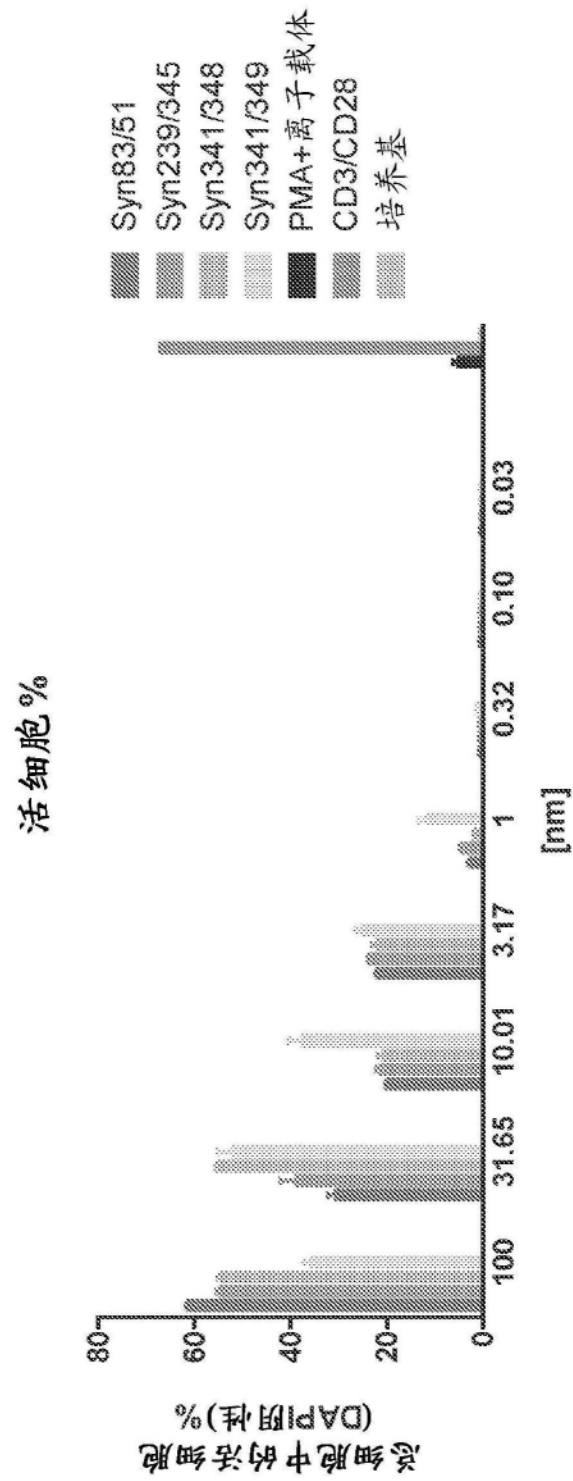


图46

4-1BBL变体	表达水平 mg/L	表达水平 mg/L	相对于野生型的 倍数
M91A	105.9	115.9	14
F92A	48.9	41.6	5.8
Q94A	13.8	23.1	2.3
L95A	81.8	63.3	9.2
V96A	16.2	24.4	2.6
Q98A	43.0	43.0	5.5
N99A	35.3	53.3	5.6
V100A	37.6	42.6	5.1
L101A	137.8	203.2	21.7
L102A	148.0	184.4	21.2
I103A	48.0	68.0	7.4
D104A	70.5	65.1	3.9
G105A	23.8	37.6	2.6
P106A	81.2	66.0	9.4
L107A	13.8	13.4	1.7
S108A	66.2	72.1	8.8
W109A	15.6	30.8	2.9
Y110A	107.0	110.1	13.8
S111A	104.0	109.0	13.6
D112A	28.0	32.1	3.8
P113A	60.1	60.4	7.7
G114A	94.8	81.7	3.9
L115A	23.0	26.4	3.1
G117A	4.4	12.5	
V118A	4.2	5.3	
S119A	4.6	5.6	
L120A	4.6	4.6	
T121A	4.9	6.3	
G122A	9.8	9.5	
G123A	2.5	10.4	
L124A	3.1	8.5	
S125A	8.9	8.3	
Y126A	2.3	0.6	
E128A	6.1	14.6	
D129A	2.2	0.0	

图47

4-1BBL 变体	表达水平 mg/L	表达水平 mg/L	相对于野生型的 倍数
T130A	1.9	2.6	
K131A	7.0	15.3	
E132A	2.3	6.8	
F144A	1.5	0.0	
F145A	8.2	6.3	
Q146A	5.7	10.5	
L147A	10.3	16.8	
E148A	5.7	4.4	
L149A	9.9	12.9	
R150A	10.3	4.7	
R151A	1.8	0.0	
V152A	2.9	6.7	
V153A	3.7	7.9	
G155A	6.9	13.1	
E156A	4.3	4.0	
G157A	12.3	18.7	
S158A	6.7	6.3	
D184A	3.6	5.0	
L185A	2.2	0.0	
P186A	4.3	2.2	
P187A	2.9	0.0	
S189A	3.8	6.1	
S190A	2.4	3.1	
E191A	1.8	4.1	
R193A	6.6	7.5	
N194A	4.3	0.1	
S195A	3.2	1.6	
F197A	3.1	6.5	
Q210A	5.1	3.9	
R211A	1.6	3.5	
L212A	2.0	9.8	
G213A	5.0	2.9	
V214A	2.7	7.5	
H215A	3.3	2.4	
L216A	3.4	10.2	

图47 (续)

4-1BBL 变体	表达水平 mg/L	表达水平 mg/L	相对于野生型的 倍数
H217A	8.6	3.2	
T218A	6.6	9.9	
E219A	2.8	5.2	
R221A	3.3	8.7	
R223A	6.2	9.7	
H224A	4.1	6.0	
W226A	1.9	0.0	
L228A	3.1	0.0	
T229A	6.0	7.8	
Q230A	2.7	4.7	
G231A	1.9	2.4	
T233A	1.8	0.0	
V234A	1.9	0.0	
wt	3.8	11.9	

图47(续)

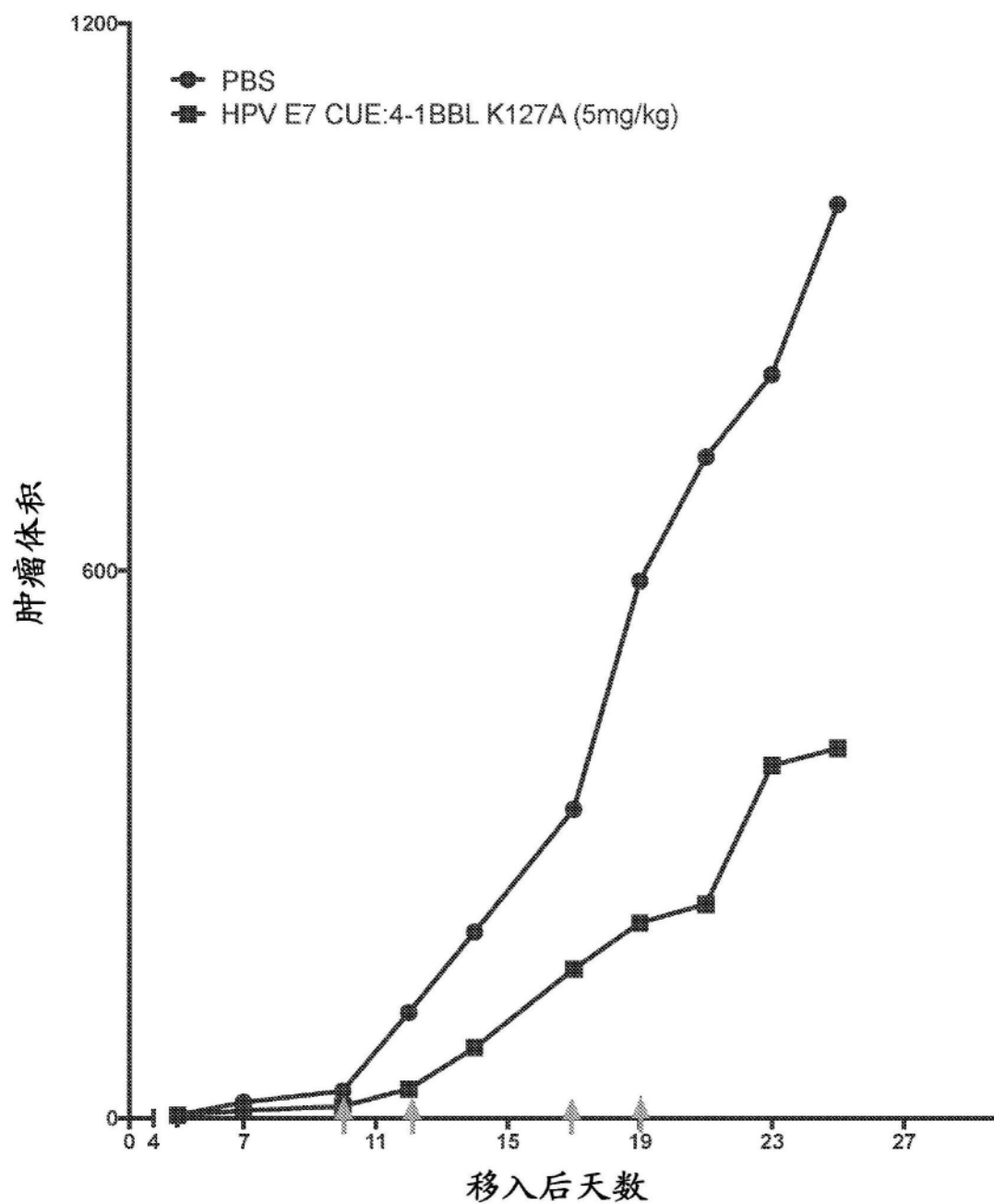


图48

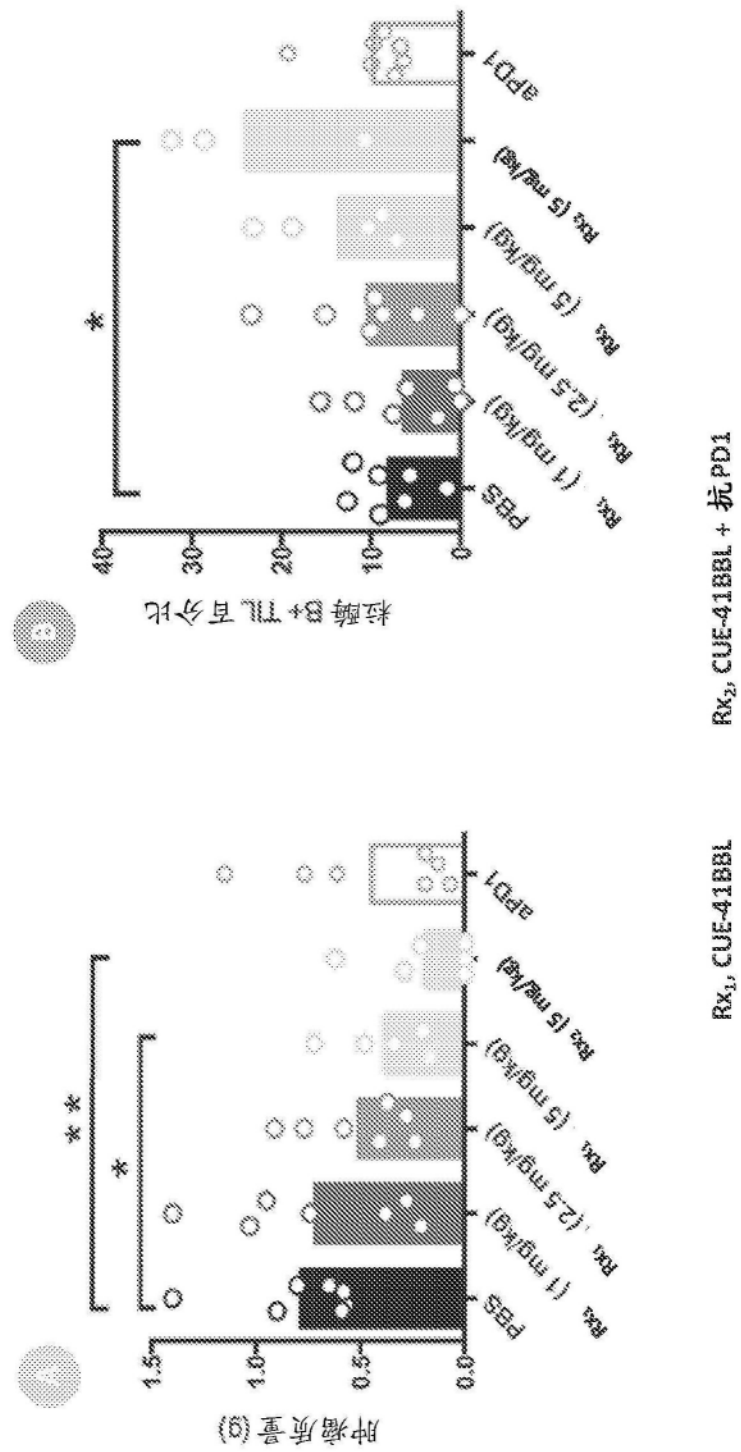


图49

PD-L1
小鼠
NP_068693
氨基酸 19-290

1 mrifaglift acchllraft itapkdlyv eygsnvtmec rfpvereldl lalvvyweke
61 deqvlgfvag eedlkpqhsn frgraslpgd qlkgnaalq itdvlqdag vycclisygg
121 adykritlkv napyrkingr isvdpatsch elicqaegyp eaeviwtnsd hqpvsgkrsv
181 ttsrtgmll nvtsslrzna tandvfycf wrsqpgqht aellielpa thppqnrtwh
241 vllgsillfl ivvstvlfl rkqvrmlde kcgvedtssk nrndtqfeet

(SEQ ID NO:187)

图50A

PD-L1
智人
NP_054852
氨基酸 19-290

1 mrlfavfifm tywhllnaft vtpkdlyyv eygsnmtiec kfpvekqldl aalivyweme
61 dknliqfvhg eedlkvqhss yrqrarllkd qlslgnaalq itdvklqdag vyrcmlsygg
121 adykritvkv napynkingr ilvdpvtse heltcqaegy pkaeviwatss dhqvlsgktt
181 tttnskreekl fntvtstlrin tttneiflyct frrlldpeenh taelvipelp lahppnerth
241 livilgaillic lgvaltfifr lrkgrmndvk kcgigdtnsk kgsdthleet

(SEQ ID NO:188)

图50B

CD80 (B7-1) 胞外域

vihvtk evkevatlsc ghvsvveela
 qtriywqkek kmvltmmsgd mniwpeyknr tiftidtnls ivilalrpsd egtynecvvlk
 yekdafkreh laevtlsvka dfptpsisdf eiptsnirri icstsggfpe phlswleng
 elnainttvs qdpetelyav sskldfnmtt nhsfncliky ghlrvnqgtfn wnttkqehfp
 dn (SEQ ID NO:189)

图51

智人
 ICOS-L
 GenBank NP 056074
 氨基酸 19-302

```

1 mrlgspglif llfsslradt qekevramvg sdvelscacp egsrfdindv yvywqtsek
61 tvvtýhipqn sslenvdsry rnralnspag mlrgdfslrl fnvtpqdeqk fhclvlsql
121 gfqevlsvev tlhvaañsv pvvsaphspg qdeltftcts ingyprpnvy winktdnsil
181 dgalqndtvf lnmrglydv svlriartps vnigccienv llqnlitvgs qtgndigerd
241 kitenpvstg eknaatwsil avlcllvva vaigwvcrdr clqhsyagaw avspeteltg
301 hv
  
```

(SEQ ID NO:190)

图52

智人
GenBank NP_003317
OX4L
1 nervqpleen vgnaarprfe rnklllvasv iqglglllcf tyiclhfisal qvshrypriq
61 sikvqfteyk kekqfilitq kedelmkvqn nsvlincdgi yllslkgyfs qevnislhyq
121 kdeeplfqik kvrsvnslnv asltykdkvy invttdntsl ddfhvnggel ilihqnggef
181 cvl
(SEQ ID NO:191)

图53

智人

GenBank NP_079315

PD-L2

氨基酸 20-273

```
1 mifllllmlsl elqlhqlaal ftvtvpkely iiehgsnvtl ecnfdtgshv nlgaitslq  
61 kvendtsphr eratllleeql plgkasfhip qvqvrdegq qciilgyvaw dykyltlkvv  
121 asyrkinthi lkvpetdeve ltcqatgyp l aevswpnsv pantshsrtp eglyqvtsvl  
181 rikpppgnrf scvfnthvr eltlasidldq sqneprthpt wllhifipfc ilafifiatv  
241 ialrkqlcck lysskdttkr pvtttkrevn sai
```

(SEQ ID NO:192)

图54

智人
GenBank NP_787058
CD86 (B7-2)
氨基酸 31-329

1 mdpqctmgls nilfvmafll sgaaplkica yfnetadlpc gfansqngsl selvfwgddg
61 enlvinevyl gkekfdsvhs kymgrtsfds dswtlrlhnl qikdkglyqc iihkkkptgm
121 irihqmsel svlanfsqpe lvpisniten vyinitcssi hgypepkkas vlirtknsti
181 eydgimqksq dnvtefydvs islsvsfpdv tsnmtifcil etdktrllss pfsielelbpq
241 pppdhipwit avlptviicv mvfcililkw kkkkrprnsy kcgtnntwerc eseqtkkkrek
301 ihipersdea qrvfksskts sedksdtcf
(SEQ ID NO:193)

图55

Fas配体 (FasL)
智人
GenBank NP_000630
氨基酸 1-281

1 mqqpfnyyp qlywvdsas spwappgtvl pcptsvprp gqrrppppp ppplppppp
61 pplpplpipp lkkrgnhstg lcllvmfimv lvalvglgg mqlfhlqke laelrestsq
121 mhtasslekq ighpspppek kelrkvaht gksnsrsmpl ewedtyglvl lsgvkykkqg
181 lvinetglyf vyskvyfirgq scnnpplshk vymrnsryp q divmneqnm sycttgqmw
241 rssylgavfn ltsadhlyvn vseislvnfe esqtffglyk 1

(SEQ ID NO:194)

图56