



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I824258 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：110122590

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 09 月 17 日

(51)Int. Cl. : C07K14/55 (2006.01)

C07K14/705 (2006.01)

A61K38/00 (2006.01)

A61P31/12 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/09/17 南韓

10-2018-0110698

2019/01/07 南韓

10-2019-0001867

2019/04/10 美國

62/832,013

2019/05/08 南韓

10-2019-0053436

(71)申請人：南韓商 GI 創新股份有限公司 (南韓) GI INNOVATION, INC. (KR)

南韓

(72)發明人：張明浩 JANG, MYUNG HO (KR)

(74)代理人：劉法正；尹重君

(56)參考文獻：

WO 2017/079117A1

WO 2017/220989A1

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：22 項 圖式數：89 共 178 頁

(54)名稱

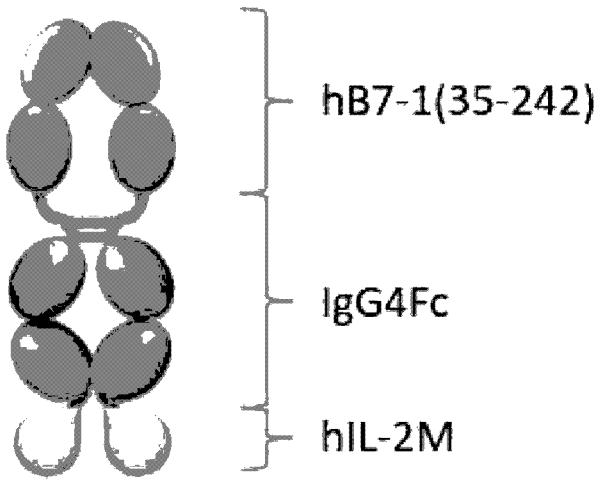
包含 IL-2 蛋白及 CD80 蛋白之融合蛋白及其用途

(57)摘要

本文提供的是一種包含 IL-2 蛋白及 CD80 蛋白之融合蛋白。包含 CD80 片段、免疫球蛋白 Fc 及 IL-2 變異體之融合蛋白能活化免疫細胞如自然殺手細胞，且同時能控制調節性 T 細胞之免疫細胞調節活性。因此，包含該融合蛋白作為活性成份之藥學組成物在產業上是非常有用的，因為此藥學組成物能增加體內的免疫活性，故能有效地用於抗感染性疾病及癌症。

Provided is a fusion protein comprising IL-2 protein and CD80 protein. A fusion protein comprising CD80 fragment, immunoglobulin Fc, and an IL-2 variant can activate immune cells, such as natural killer cells, and at the same time, can control immune cell regulatory activity of regulatory T cells. Therefore, a pharmaceutical composition comprising the fusion protein as an active ingredient is very industrially useful in that such pharmaceutical composition can increase immune activity in the body, and thus can be effectively used against infectious diseases as well as cancer.

指定代表圖：



【圖1】



I824258

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白及其用途

【英文發明名稱】

FUSION PROTEIN COMPRISING IL-2 PROTEIN AND CD80 PROTEIN, AND USE THEREOF

【中文】

本文提供的是一種包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白。包含CD80片段、免疫球蛋白Fc及IL-2變異體之融合蛋白能活化免疫細胞如自然殺手細胞，且同時能控制調節性T細胞之免疫細胞調節活性。因此，包含該融合蛋白作為活性成份之藥學組成物在產業上是非常有用的，因為此藥學組成物能增加體內的免疫活性，故能有效地用於抗感染性疾病及癌症。

【英文】

Provided is a fusion protein comprising IL-2 protein and CD80 protein. A fusion protein comprising CD80 fragment, immunoglobulin Fc, and an IL-2 variant can activate immune cells, such as natural killer cells, and at the same time, can control immune cell regulatory activity of regulatory T cells. Therefore, a pharmaceutical composition comprising the fusion protein as an active ingredient is very industrially useful in that such pharmaceutical composition can increase immune activity in the body, and thus can be effectively used against infectious diseases as well as cancer.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

(無)

【特徵化學式】

(無)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白及其用途

【英文發明名稱】

FUSION PROTEIN COMPRISING IL-2 PROTEIN AND CD80 PROTEIN,
AND USE THEREOF

【技術領域】

發明領域

【0001】 本發明係有關於一種包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白及其用途。具體地，本發明有關於一種具有癌症療效及免疫增強功效之新穎融合蛋白。

【先前技術】

發明背景

【0002】 白介素2 (IL-2)，亦稱作T細胞生長因子(TCGF)，是一種球狀醣蛋白，其在淋巴細胞之產生、存活及恆定中發揮核心的作用。IL-2具有15.5kDa至16kDa之蛋白大小且由133個胺基酸構成。IL-2藉由與由三個不同的次單元組成之IL-2受體結合，介導各種免疫作用。

【0003】 此外，IL-2主要是由活化的T細胞合成，特別是由CD4+輔助T細胞合成。IL-2會刺激T細胞的增生與分化，及誘發細胞毒性T淋巴細胞(CTLs)的產生及周邊血液淋巴細胞分化成細胞毒性細胞與淋巴激素活化殺手細胞(LAK細胞)。

【0004】 再者，IL-2涉及B細胞的增生及分化，藉由B細胞促進免疫球蛋白的合成，及刺激自然殺手細胞(NK細胞)之產生、增生及活化。因此，IL-2被用作抗癌劑，因為其可增加生物體內的淋巴細胞群及增加免疫細胞的功能。目前，IL-2

之療法已獲核准用於患有轉移性腎細胞癌及惡性黑色素瘤之病患。

【0005】 然而，IL-2在免疫反應中具有雙重功能，其不僅對介導免疫細胞數量及其活性的增加很重要，且對維持免疫耐受性也很重要。此外，據報導，IL-2可能不是用於抑制腫瘤生長之最佳方法。理由是IL-2存在時，可能會在產生的細胞毒性T淋巴細胞中發生活化誘導的細胞死亡(AICD)，且免疫反應可能會受到IL-2依賴性調節性T細胞(Treg細胞)的抑制(Imai *et al.*, *Cancer Sci* 98, 416-423, 2007)。

【0006】 此外，在接受IL-2免疫療法之病患中會發生嚴重的心血管、肺、腎、肝、胃腸、神經、皮膚、血液及全身性副作用。因此，已有各種IL-2突變的研究，用以改善IL-2之療效及使其副作用最小化(US 5,229,109 B)。然而，為了將IL-2利用於藥理目的，仍有許多的問題待解決。

【0007】 與此同時，CD80亦稱作B7-1，是膜連型蛋白B7家族的成員，其藉由與其配體結合，透過遞送共刺激反應及共抑制反應之方式進行免疫調節。CD80是一種表達在T細胞、B細胞、樹狀細胞及單核球表面上之穿膜蛋白。CD80已知會與CD28、CTLA4 (CD152)及PD-L1結合。CD80、CD86、CTLA4及CD28涉及共刺激-共抑制系統。例如，其等會調節T細胞之活化且涉及其之增生、分化及存活。

【0008】 例如，當CD80和CD86與CD28交互反應時，產生共刺激訊息以活化T細胞。最後，CD80與CTLA4結合並刺激CTLA4向上調節。結果，CD80在由CD80/CD28交互反應引起的免疫反應活化之前，抑制T細胞的反應。此反饋迴路容許免疫反應的細部調節。

【0009】 此外，CD80已知會結合PD-L1，另一B7家族成員，具有與CD28結合PD-L1相似的親和力。PD-L1已知為二種用於程式死亡-1 (PD-1)蛋白之配體中之一種，且已知PD-L1涉及T細胞的調節。CD80與PD-L1的結合是另一個能阻

斷PD-1/PD-L1交互反應之機制，其可防止腫瘤中T細胞反應的抑制。然而，與此同時，增加CD80位準會導致CD80結合至CD28，如此誘發了CTLA4，從而誘發或抑制T細胞的反應。

【發明內容】

技術問題

【0010】 本發明人已研究開發出安全且有效的IL-2。結果是，本發明人發現，在一個分子中包含IL-2蛋白及CD80蛋白之新穎融合蛋白，可活化免疫細胞及有效地調節Treg細胞，從而完成本發明。

解決問題之方法

【0011】 為了達到以上目的，在本發明之一個態樣中，提供一種包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白。

【0012】 在本發明之另一個態樣中，提供一種藉由使二個融合蛋白彼此附接而獲得的融合蛋白二聚體。

【0013】 在本發明之又另一態樣中，提供一種編碼該融合蛋白之多核苷酸。

【0014】 在本發明之又另一個態樣中，提供一種包含該多核苷酸之載體。

【0015】 在本發明之又另一個態樣中，提供一種其中已導入該載體之轉形細胞。

【0016】 在本發明之又另一個態樣中，提供一種用於預防或治療癌症或感染性疾病之藥學組成物，其包含該融合蛋白或該融合蛋白二聚體作為活性成份。

【0017】 在本發明之又另一個態樣中，提供一種該融合蛋白於治療癌症或感染性疾病之用途。

【0018】 在本發明之又另一個態樣中，提供一種該融合蛋白於製造用於治療癌症或感染性疾病之藥劑之用途。

本發明之有利作用

【0019】 包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白，不僅因IL-2能活化免疫細胞，還可因CD80而能有效地調節Treg細胞。因此，該融合蛋白能以有效的方式攻擊癌細胞，因此能有用地用於治療癌症或感染性疾病。

【圖式簡單說明】

【0020】 圖1描述融合蛋白之示意實施例。

圖2描述融合蛋白調節二個不同類的免疫細胞之機制，然而應理解，該融合蛋白表現作用的機制並不限於此。

圖3描述該融合蛋白展現抗癌作用之機制。

圖4描述該融合蛋白結構之示意圖。在此，GI101及mGI101各為本文之融合蛋白的實施例，GI101C1、GI101C2及mGI101C1是用於比較融合蛋白之活性的比較例。

圖5描述本文之融合蛋白的各種實施例。人及小鼠來源蛋白可結合製成融合蛋白。CD80蛋白及IL-2蛋白可透過除了Fc外之各種連接子彼此結合。

圖6描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的融合蛋白(GI101)而獲得的結果。

圖7描述根據吸光度之融合蛋白(GI101)的數量。

圖8描述利用粒徑篩析層析法(SEC)分析所獲得的融合蛋白(GI101)而獲得的結果。

圖9描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的mGI101融合蛋白而獲得的結果。

圖10描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的GI101C1融合蛋白而獲得的結果。

圖11描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的GI101C2融合蛋白而獲得的結果。

圖12描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的mGI101C1融合蛋白而獲得的結果。

圖13描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的GI102-M45融合蛋白而獲得的結果。

圖14描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的GI102-M61融合蛋白而獲得的結果。

圖15描述用SDS-PAGE鑑定所獲得的GI102-M72融合蛋白而獲得的結果。

圖16描述hCTLA4與GI101間之結合親和力。

圖17描述hPD-L1與GI101間之結合親和力。

圖18描述hPD-L1與hPD-1間之結合親和力。

圖19描述mCTLA4與mGI101間之結合親和力。

圖20描述mPD-L1與mGI101間之結合親和力。

圖21及22描述藉由鑑定GI-101 (hCD80-Fc-hIL-2v)與CTLA-4間及GI-101 (hCD80-Fc-hIL-2v)與PD-L1間之結合能力而獲得的結果。鑑定出GI-101 (hCD80-Fc-hIL-2v)對CTLA-4及PD-L1具有高結合能力。

圖23描述GI101對PD-1/PD-L1結合之作用。GI101有效地抑制PD-1/PD-L1之結合。

圖24描述藉由鑑定GI101與IL-2R α 或IL-2R β 間之結合親和力而獲得的結果。

圖25描述藉由鑑定GI101與IL-2R α 間之結合親和力而獲得的結果。

圖26描述藉由鑑定GI101與IL-2R β 間之結合親和力而獲得的結果。

圖27描述過鑑定IL-2R α 與GI102-M45間之結合親和力而獲得的結果。

圖28描述過鑑定IL-2R α 與GI102-M61間之結合親和力而獲得的結果。

圖29描述過鑑定IL-2R α 與GI102-M72間之結合親和力而獲得的結果。

圖30描述過鑑定IL-2R β 與GI102-M45間之結合親和力而獲得的結果。

圖31描述過鑑定IL-2R β 與GI102-M61間之結合親和力而獲得的結果。

圖32描述過鑑定IL-2R β 與GI102-M72間之結合親和力而獲得的結果。

圖33及34描述藉由測量用各別濃度之GI101、GI101C1、GI101C2或IL-2處理細胞並進行培育時，從細胞分泌出來的IFN- γ 數量而獲得的結果。

圖35及36描述藉由鑑定GI101、GI101C1、GI101C2及IL-2 (普留淨(Proleukin))對CD8+ T細胞增生之作用而獲得的結果。

圖37描述藉由鑑定GI101及GI102對CD8+ T細胞及CD4+ T細胞增生之作用而獲得的結果。在此，圖37A描述CD8+ T細胞及CD4+細胞之比率，圖37B描述CD8+ T細胞之增生能力，而圖37C描述CD4+/FoxP3+ Treg細胞之比率。

圖38及39描述藉由鑑定GI101及GI101w對CD8+ T細胞及NK細胞增生之作用而獲得的結果。

圖40及41描述藉由鑑定GI101對效應T細胞之作用而獲得的結果。

圖42描述藉由鑑定mGI101及mGI102-M61對小鼠免疫細胞之作用而獲得的結果。

圖43及44描述藉由鑑定GI101對癌細胞過度表達PD-L1之作用而獲得的結果。

圖45及46描述藉由鑑定GI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之腫瘤抑制作用而獲得的結果。

圖47描述藉由鑑定mGI101在小鼠來源黑色素瘤移植小鼠中之腫瘤抑制作用而獲得的結果。

圖48描述mGI101在小鼠來源黑色素瘤移植小鼠中之腫瘤抑制。

圖49描述藉由鑑定mGI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中根據其劑量之腫瘤抑制作用而獲得的結果。

圖50描述藉由分析接受mGI101之小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠之存活率而獲得的結果。

圖51描述藉由鑑定GI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之腫瘤抑制作用而獲得的結果。

圖52描述使小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之CD8+ T細胞、IFN- γ T細胞、CD4+ T細胞及Treg細胞而獲得的結果。

圖53以圖表方式描述使小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之CD8+ T細胞、IFN- γ T細胞、CD4+ T細胞及Treg細胞而獲得的結果。

圖54描述使小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之巨噬細胞而獲得的結果。

圖55以圖表方式描述使小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之巨噬細胞而獲得的結果。

圖56描述使小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之樹狀細胞而獲得的結果。

圖57以圖表方式描述使小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之樹狀細胞而獲得的結果。

圖58描述藉由鑑定GI101在小鼠來源肺癌細胞移植小鼠中之腫瘤抑制作用而獲得的結果。

圖59以圖表方式描述使小鼠來源肺癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之CD8+ T細胞、IFN- γ T細胞、CD4+ T細胞及Treg細胞而獲得的結果。

圖60以圖表方式描述使小鼠來源肺癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之巨噬細胞而獲得的結果。

圖61以圖表方式描述使小鼠來源肺癌細胞移植小鼠接受hIgG4、抗PD-1抗體或GI101之處理，然後用FACS分析癌組織中之樹狀細胞而獲得的結果。

圖62描述藉由鑑定mGI102-M61在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之腫瘤抑制作用而獲得的結果。

圖63描述藉由分析接受mGI102-M61之小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠之存活率而獲得的結果。

圖64描述藉由鑑定mGI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之腫瘤抑制作用而獲得的結果。

圖65描述mGI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之腫瘤抑制。

圖66描述藉由對接受PBS或GI101之猴子進行15天臨床觀察而獲得的結果。

圖67及68描述藉由在第-1天、第1天、第8天及第15天對接受PBS或GI101之猴子測量體重而獲得的結果。

圖69描述接受PBS或GI101之猴子15天的食物消耗量。

圖70至72描述藉由在第-1天、第1天、第8天及第15天對接受PBS或GI101之猴子進行血液分析而獲得的結果。

圖73至79描述藉由在第-1天、第1天、第8天及第15天對接受PBS或GI101之猴子進行臨床或化學分析而獲得的結果。

圖80及81描述藉由在第-1天、第1天、第8天及第15天對接受PBS或GI101之猴子進行細胞激素分析而獲得的結果。

圖82至87描述藉由在第-1天、第1天、第8天及第15天對接受PBS或GI101之猴子進行免疫細胞分析而獲得的結果。

圖88描述第16天犧牲接受PBS或GI101之猴子以取得脾組織且病理分析該脾組織所獲得的結果。

圖89描述其中CD80蛋白及IL-2蛋白各結合至一攜帶蛋白之融合蛋白。具體地，圖89A描述其中CD80蛋白及IL-2蛋白分別結合至該攜帶蛋白的N端及C端之融合蛋白。此外，圖89B描述其中CD80蛋白及IL-2蛋白分別結合至該攜帶蛋白的C端及N端之融合蛋白。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白

【0021】 在本發明之一個態樣中，提供一種包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白。

【0022】 本文中所使用的術語"IL-2"或"白介素-2"，除非有另外說明，否則意指從任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，例如靈長類動物(如人)及嚙齒動物(如小鼠及大鼠)獲得之任何野生型IL-2。IL-2可從動物細胞獲得，還包括從能夠產生IL-2之重組細胞獲得的IL-2。此外，IL-2可為野生型IL-2或其變異體。

【0023】 在本說明書中，IL-2或其變異體可集體以術語"IL-2蛋白"或"IL-2多肽"表示。IL-2、IL-2蛋白、IL-2多肽及IL-2變異體會專一性地結合至例如IL-2受體。此專一性結合可用熟悉此技藝之人士已知的方法鑑定。

【0024】 IL-2之一實施例可具有序列辨識編號：35或序列辨識編號：36之胺基酸序列。在此，IL-2亦可為成熟形式。具體地，成熟IL-2可不含訊息序列，且可具有序列辨識編號：10之胺基酸序列。在此，IL-2可在包含野生型IL-2之片段的概念下使用，其中野生型IL-2之N端或C端部分被截短。

【0025】 此外IL-2之片段可為其中從具有序列辨識編號：35或序列辨識編號：36之胺基酸序列之蛋白的N端截短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個鄰接的胺基酸之形式。此外，該IL-2之片段可為其中從具有序列辨識編號：35或序列辨識編號：36之胺基酸序列之蛋白的C端截短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個鄰接的胺基酸之形式。

【0026】 本文中所使用的術語 "IL-2變異體" 意指全長IL-2或上述IL-2之片段中一部分的胺基酸被取代之形式。即，IL-2變異體可具有與野生型IL-2或其片段不同的胺基酸序列。然而，IL-2變異體可具有與野生型IL-2相當或相似的活性。在此，"IL-2活性"可意指例如與IL-2受體專一性結合，該專一性結合可用熟

悉此技藝之人士已知的方法測量。

【0027】 具體地，IL-2變異體可藉由取代野生型IL-2中一部分的胺基酸而獲得。藉由胺基酸取代而獲得的IL-2變異體之實施例，可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中的第38個、第42個、第45個、第61個及第72個胺基酸中之至少一個而獲得。

【0028】 具體地，該IL-2變異體可藉由以另一胺基酸取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中的第38個、第42個、第45個、第61個及第72個胺基酸中之至少一個而獲得。此外，當IL-2為其中序列辨識編號：35之胺基酸序列中N端的一部分被截短之形式時，可以另一胺基酸取代與序列辨識編號：10之胺基酸序列中互補對應位置處之胺基酸。例如，當IL-2具有序列辨識編號：35之胺基酸序列時，其IL-2變異體可藉由以另一胺基酸取代序列辨識編號：35胺基酸序列中第58個、第62個、第65個、第81個或第92個胺基酸中之至少一個而獲得。此等胺基酸殘基分別對應於序列辨識編號：10之胺基酸序列中的第38個、第42個、第45個、第61個及第72個胺基酸殘基。根據一個實施例，可取代一、二、三、四、五、六、七、八、九或十個胺基酸，只要此IL-2變異體保持IL-2活性即可。根據另一個實施例，可取代一至五個胺基酸。

【0029】 在一個實施例中，IL-2變異體可為其中二個胺基酸被取代之形式。具體地，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個及第42個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個及第45個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個及第61個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第42個及第45個胺基酸而

獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第42個及第61個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第42個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第45個及第61個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第45個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第61個及第72個胺基酸而獲得。

【0030】再者，IL-2變異體可為其中三個胺基酸被取代之形式。具體地，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個及第45個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個及第61個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第45個及第61個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第45個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第61個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第42個、第45個及第61個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第42個、第45個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第45個、第61個及第72個胺基酸而獲得。

【0031】此外，IL-2變異體可為其中四個胺基酸被取代之形式。具體地，

該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個、第45個及第61個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個、第45個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第45個、第61個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個、第61個及第72個胺基酸而獲得。此外，在一實施例中，該IL-2變異體可藉由取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第42個、第45個、第61個及第72個胺基酸而獲得。

【0032】再者，IL-2變異體可為其中五個胺基酸被取代之形式。具體地，該IL-2變異體可藉由以另一胺基酸取代序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個、第45個、第61個及第72個胺基酸中之每一個而獲得。

【0033】在此，藉由取代而導入的"另一胺基酸"可為任一個選自於由下列所構成之群組：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺酸、天冬胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。然而，在該IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第38個胺基酸不能以精胺酸取代、第42個胺基酸不能以苯丙胺酸取代、第45個胺基酸不能以酪胺酸取代、第61個胺基酸不能以麩胺酸取代及第72個胺基酸不能以白胺酸取代。

【0034】在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第38個胺基酸，精胺酸，可以非精胺酸之胺基酸取代。較佳地，在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第38個胺基酸，精胺酸，可以丙胺酸取代 (R38A)。

【0035】在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸

序列中，第42個胺基酸，苯丙胺酸，可以非苯丙胺酸之胺基酸取代。較佳地，在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第42個胺基酸，苯丙胺酸，可以丙胺酸取代(F42A)。

【0036】 在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第45個胺基酸，酪胺酸，可以非酪胺酸之胺基酸取代。較佳地，在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第45個胺基酸，酪胺酸，可以丙胺酸取代(Y45A)。

【0037】 在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第61個胺基酸，麩胺酸，可以非麩胺酸之胺基酸取代。較佳地，在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第61個胺基酸，麩胺酸，可以精胺酸取代(E61R)。

【0038】 在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第72個胺基酸，白胺酸，可以非白胺酸之胺基酸取代。較佳地，在IL-2變異體之胺基酸取代方面，於序列辨識編號：10之胺基酸序列中，第72個胺基酸，白胺酸，可以甘胺酸取代(L72G)。

【0039】 具體地，IL-2變異體可藉由至少一個選自於由下列所構成之群組之取代而獲得：序列辨識編號：10之胺基酸序列中之R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G。

【0040】 具體地，該IL-2變異體可藉由在選自於由R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G所構成之群組之位置中的至少二個、三個、四個或五個位置處之胺基酸取代而獲得。

【0041】 此外，IL-2變異體可為其中二個胺基酸被取代之形式。具體地，IL-2變異體可藉由R38A及F42A之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A及Y45A之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A

及E61R之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由F42A及Y45A之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由F42A及E61R之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由F42A及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由E61R及L72G之取代而獲得。

【0042】此外，IL-2變異體可為其中三個胺基酸被取代之形式。具體地，IL-2變異體可藉由R38A、F42A及Y45A之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A、F42A及E61R之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A、F42A及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A、Y45A及E61R之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A、Y45A及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由F42A、Y45A及E61R之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由F42A、Y45A及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由F42A、E61R及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由Y45A、E61R及L72G之取代而獲得。

【0043】此外，IL-2變異體可為其中四個胺基酸被取代之形式。具體地，IL-2變異體可藉由R38A、F42A、Y45A及E61R之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A、F42A、Y45A及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A、F42A、E61R及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由R38A、Y45A、E61R及L72G之取代而獲得。此外，在一實施例中，IL-2變異體可藉由F42A、Y45A、E61R及L72G之取代而獲得。

【0044】此外，IL-2變異體可藉由R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G之取代而獲得。

【0045】 較佳地，該IL-2變異體之實施例可包含任一個選自於下列序列辨識編號：10之胺基酸序列中的取代組合(a)至(d)：

(a) R38A/F42A

(b) R38A/F42A/Y45A

(c) R38A/F42A/E61R

(d) R38A/F42A/L72G

【0046】 在此，當IL-2具有序列辨識編號：35之胺基酸序列時，胺基酸取代可出現在與序列辨識編號：10之胺基酸序列中互補對應位置處。此外，即使IL-2是序列辨識編號：35之胺基酸序列的片段時，胺基酸取代亦可出現在與序列辨識編號：10之胺基酸序列中互補對應位置處。

【0047】 具體地，IL-2變異體可具有序列辨識編號：6、22、23或24之胺基酸序列。

【0048】 此外，IL-2變異體可具有低活體內毒性之特徵。在此，該低活體內毒性可能為IL-2與IL-2受體 α 鏈(IL-2R α)結合引起的副作用。已開發出各種的IL-2變異體用以減少因IL-2與IL-2受體 α 結合所引起的副作用，且此IL-2變異體可為美國專利案第5,229,109號及韓國專利案第1667096號中所揭示的。特別是，本申請案中所述的IL-2變異體對IL-2受體 α 鏈(IL-2R α)具有低結合能力，因此具有比野生型IL-2低的活體內毒性。

【0049】 本文中所使用的述語"CD80"亦稱作"B7-1"，是一種存在樹狀細胞、活化B細胞及單核球中之膜蛋白。CD80提供T細胞之活化及存活必需的共刺激訊息。CD80已知為存在T細胞表面上二種不同的蛋白，CD28及CTLA-4，之配體。CD80由288個胺基酸構成，具體地具有序列辨識編號：11之胺基酸序列。此外，本文中所使用的術語"CD80蛋白"意指CD80全長或CD80片段。

【0050】 本文中所使用的述語"CD80片段"意指CD80之斷裂形式。此外，該

CD80片段可為CD80之胞外結構域。CD80片段之實施例可藉由除去CD80之N端第1個至第34個胺基酸(其是訊息序列)而獲得。具體地，CD80片段之實施例可為由序列辨識編號：11中第35個至第288個胺基酸構成之蛋白。此外，CD80片段之實施例可為由序列辨識編號：11中第35個至第242個胺基酸構成之蛋白。此外，CD80片段之實施例可為由序列辨識編號：11中第35個至第232個胺基酸構成之蛋白。此外，CD80片段之實施例可為由序列辨識編號：11中第35個至第139個胺基酸構成之蛋白。此外，CD80片段之實施例可為由序列辨識編號：11中第142個至第242個胺基酸構成之蛋白。在一實施例中，CD80片段可具有序列辨識編號：2之胺基酸序列。

【0051】 此外，該IL-2蛋白及該CD80蛋白可透過一連接子(linker)或一攜帶體(carrier)彼此附接。具體地，該IL-2或其變異體及該CD80 (B7-1)或其片段可透過一連接子或一攜帶體彼此附接。在本說明中，該連接子及該攜帶體可交換使用。

【0052】 該連接子會連接二個蛋白。該連接子之實施例可包括1至50個胺基酸、白蛋白或其片段、免疫球蛋白之Fc結構域等等。在此，免疫球蛋白之Fc結構域意指含有免疫球蛋白之重鏈恆定區2 (CH2)及重鏈恆定區3 (CH3)，而不含免疫球蛋白之重及輕鏈可變區及輕鏈恆定區1 (CH1)之蛋白。該免疫球蛋白可為IgG、IgA、IgE、IgD或IgM，較佳地可為IgG4。在此，野生型免疫球蛋白G4之Fc結構域可具有序列辨識編號：4之胺基酸序列。

【0053】 此外，免疫球蛋白之Fc結構域可為Fc結構域變異體及野生型Fc結構域。此外，在本文中使用的術語"Fc結構域變異體"可意指在醣基化模式方面與野生型Fc結構域不同的形式，與野生型Fc結構域相比具高醣基化，或與野生型Fc結構域相比具低醣基化，或去醣基化的形式。此外，無醣基化Fc結構域包含於其中。通過宿主的培養條件或基因操作，可使該Fc結構域或其變異體適應而

具有調整數量的唾液酸、岩藻糖基化或醣基化。

【0054】此外，免疫球蛋白之Fc結構域的醣基化可藉由習用的方法修飾，如化學方法、酵素方法及使用微生物之遺傳工程方法。此外，該Fc結構域變異體可為免疫球蛋白IgG、IgA、IgE、IgD及IgM各別的Fc區之混合形式。此外，該Fc結構域變異體可為其中Fc結構域的一些胺基酸以其它胺基酸取代之形式。Fc結構域變異體之實施例可具有序列辨識編號：12之胺基酸序列。

【0055】該融合蛋白可具有使用Fc結構域作為連接子(或攜帶體)之結構，其中CD80蛋白及IL-2蛋白，或IL-2蛋白及CD80蛋白，分別連接至該連接子或攜帶體之N端及C端(圖89)。該Fc結構域之N端或C端與CD-80或IL-2間之連接，可任擇地藉由一連接肽達成。

【0056】具體地，融合蛋白可由下列結構式(I)或(II)構成：

$N'-X-[連接子(1)]_n-Fc結構域-[連接子(2)]_m-Y-C'$ (I)

$N'-Y-[連接子(1)]_n-Fc結構域-[連接子(2)]_m-X-C'$ (II)

在此，於結構式(I)及(II)中，

N'是該融合蛋白的N端，

C'是該融合蛋白的C端，

X是CD80蛋白，

Y是IL-2蛋白，

該連接子(1)及(2)是胜肽連接子，及

n及m各獨立地為0或1。

【0057】較佳地，該融合蛋白可由結構式(I)構成。該IL-2蛋白如上所述。此外，該CD80蛋白如上所述。根據一個實施例，該IL-2蛋白可為與野生型IL-2相比具有一至五個胺基酸取代的IL-2變異體。該CD80蛋白可為從野生型CD80之N端或C端截短高達約34個鄰接的胺基酸殘基所獲得的片段。選擇性地，該CD蛋

白可為具有結合至T細胞表面受體CTLA-4及CD28之活性的胞外免疫球蛋白樣結構域。

【0058】 具體地，該融合蛋白可具有序列辨識編號：9、26、28或30之胺基酸序列。根據另一個實施例，該融合蛋白包括與序列辨識編號：9、26、28或30之胺基酸序列具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之多肽。在此，該一致性是例如同源百分比，且可透過同源性比對軟體如National Center of Biotechnology Information (NCBI)的BlastN軟體測定。

【0059】 該胜肽連接子(1)可包含在該CD80蛋白與Fc結構域之間。該胜肽連接子(1)可由5至80個鄰接的胺基酸、20至60個鄰接的胺基酸、25至50個鄰接的胺基酸或30至40個鄰接的胺基酸構成。在一實施例中，該胜肽連接子(1)可由30個胺基酸構成。此外，該胜肽連接子(1)可包含至少一個半胱胺酸。具體地，該胜肽連接子(1)可含有一個、二個或三個半胱胺酸。此外，該胜肽連接子(1)可源自免疫球蛋白的絞鏈。在一實施例中，該胜肽連接子(1)可為由序列辨識編號：3之胺基酸序列構成的胜肽連接子。

【0060】 該胜肽連接子(2)可由1至50個鄰接的胺基酸、3至30個鄰接的胺基酸或5至15個鄰接的胺基酸構成。在一實施例中，該胜肽連接子(2)可為 $(G4S)_n$ (其中 n 是1至10之整數)。在此，於 $(G4S)_n$ 中， n 可為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一實施例中，該胜肽連接子(2)可為由序列辨識編號：5之胺基酸序列構成的胜肽連接子。

【0061】 在本發明之另一態樣中，提供一種藉由結合二個融合蛋白而獲得的二聚體，其各包含一IL-2蛋白及一CD80蛋白。包含IL-2或其變異體及CD80或其片段之融合蛋白如上所述。

【0062】 在此，構成該二聚體之融合蛋白間的結合，可藉由，但不限於，

存在該連接子中之半胱胺酸形成的雙硫鍵達成。構成該二聚體之融合蛋白可為彼此相同或不同的融合蛋白。較佳地，該二聚體可為同型二聚體(homodimer)。構成該二聚體之融合蛋白的實施例可為具有序列辨識編號：9之胺基酸序列的蛋白。

編碼融合蛋白之多核苷酸

【0063】 在本發明之又另一態樣中，提供一種編碼包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白的多核苷酸。具體地，該多核苷酸可含有序列辨識編號：8、25、27或29之核苷酸序列。包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白如上所述。在該多核苷酸中，可藉由取代、刪除、插入或其組合改變一或多個核苷酸。利用化學合成製備核苷酸序列時，可使用業界熟知的合成方法，如Engels and Uhlmann (Angew Chem IntEd Eng., 37: 73-127, 1988)中所述的方法。此方法可包括三酯、亞磷酸鹽、亞磷醯胺及H-磷酸鹽方法、PCR及其它Autoprimer方法、固相支撐上的寡核苷酸合成等等。

【0064】 根據一個實施例，該多肽可含有與序列辨識編號：8、25、27或29具有至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約86%、至少約87%、至少約88%、至少約89%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或至少約100%一致性之核酸序列。

【0065】 該多核苷酸可進一步含有編碼一訊息序列或一前導序列之核酸。在本文中所使用的術語"訊息序列"意指可指導標靶蛋白之分泌的訊息肽。該訊息肽在宿主細胞中轉譯並斷裂。具體地，該訊息序列是啟動蛋白跨內質網(ER)膜遷移之胺基酸序列。在一實施例中，該訊息序列可具有序列辨識編號：1之胺基酸序列。

【0066】 訊息序列之特徵是業界熟知的。此訊息序列典型地含有16至30個

胺基酸殘基，且可含有比此胺基酸殘基多或少的胺基酸殘基。典型的訊息肽由三個區組成，即鹼性N端區、中間疏水區及極性較大的C端區。該中間疏水區含有4至12個疏水殘基，其使得該訊息序列在未成熟的多肽通過膜脂雙層遷移期間被固定住。

【0067】 啟動之後，訊息序列在ER的內腔中會被稱作訊息胜肽酶之細胞酵素打斷。在此，該訊息序列可為tPa(組織血纖維蛋白溶酶原活化因子)、HSV gDs(單純疱疹病毒糖蛋白D之訊息序列)或生長激素之分泌訊息序列。較佳地，可使用高等真核細胞包括哺乳動物等等中所使用的分泌訊息序列。此外，可使用野生型IL-2和/或CD-80中所包括的訊息序列，或可使用已經過在宿主細胞中具有高表達頻率之密碼子取代的訊息序列。

帶有編碼融合蛋白之多核苷酸之載體

【0068】 在本發明之又另一態樣中，提供一種包含該多核苷酸之載體。

【0069】 可將該載體導入待與其重組之宿主細胞中及插入該宿主細胞的基因組中。或，該載體可理解為核酸工具，其含有像游離基因(episome)一樣可自主複製的多核苷酸序列。該載體包括線狀核酸、質體、噬菌粒、黏接質體、RNA載體、病毒載體及其類似物。該病毒載體的例子包括，但不限於，反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒。

【0070】 具體地，該載體可包括質體DNA、噬菌體DNA等等；及商業開發的質體(pUC18、pBAD、pIDTSAMRT-AMP等等)、大腸桿菌衍生的質體(pYG601BR322、pBR325、pUC118、pUC119等等)、枯草桿菌衍生的質體(pUB110、pTP5等等)、酵母菌衍生的質體(YEp13、YEp24、YCp50等等)、噬菌體DNA(Charon4A、Charon21A、EMBL3、EMBL4、 λ gt10、 λ gt11、 λ ZAP等等)、動物病毒載體(逆轉錄病毒、腺病毒、痘瘡病毒等等)、昆蟲病毒載體(桿狀病毒等等)。因為載體根據宿主細胞而展現不同的蛋白表達位準及修飾，所以最好是

選擇及使用最適合用途的宿主細胞。

【0071】 本文中所使用的術語標靶蛋白之"基因表達"或"表達"之理解意指DNA序列的轉錄、mRNA轉錄本的轉譯及融合蛋白產物或其片段的分泌。可用的表達載體可為RcCMV (Invitrogen, Carlsbad)或其變異體。表達載體可進一步含有用於促進標靶基因在哺乳細胞中連續轉錄之人巨細胞病毒(CMV)啟動子，及用於增加轉錄後RNA的安定性位準之牛生長激素多腺苷酸化訊息序列。

表達融合蛋白之轉形細胞

【0072】 在本發明之又另一態樣中，提供一種其中已導入該載體之轉形細胞。

【0073】 供用於轉形細胞的宿主細胞可包括，但不限於，原核細胞、真核細胞、哺乳動物、植物、昆蟲、真菌或細菌來源之細胞。作為該原核細胞之例子，可使用大腸桿菌。此外，作為真核細胞之例子，可使用酵母菌。此外，在哺乳動物細胞方面，可使用CHO細胞、F2N細胞、CSO細胞、BHK細胞、Bowes黑色素瘤細胞、HeLa細胞、911細胞、AT1080細胞、A549細胞、HEK 293細胞、HEK293T細胞等等。然而，該哺乳動物細胞不限於此，且可使用熟悉此技藝之人士所知之任何可用作為哺乳動物宿主細胞的細胞。

【0074】 此外，在將表達載體導入宿主細胞方面，可使用CaCl₂沈澱法、效率經由在CaCl₂沈澱中使用還原劑如二甲基亞砷(DMSO)而增加之Hanahan方法、電穿孔法、磷酸鈣沈澱法、原生質體融合、使用碳化矽纖維之攪拌法、農桿菌介導轉形法、使用PEG之轉形法；硫酸葡聚糖-、Lipofectamine-或染料/抑制介導轉形法或類似方法。

【0075】 如上所述，在優化融合蛋白之特性以作為治療劑或用於其它目的方面，可透過熟悉此技藝之人士已知之方法操縱宿主細胞擁有的醣基化相關基因來調整融合蛋白的醣基化模式(例如，唾液酸、岩藻醣基化或醣基化)。

產生融合蛋白之方法

【0076】 在本發明之又另一態樣中，提供一種用於生產包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白之方法，該方法包含培養該轉形細胞。具體地，該生產方法可包含i)培養該轉形細胞以獲得一培養物；及ii)從該培養物中收集該融合蛋白。

【0077】 培養轉形細胞可使用業界熟知的方法進行。具體地，該培養可分批方式進行，或以補料或重複補料之方式連續進行。

融合蛋白或其二聚體之用途

【0078】 在本發明之又另一態樣中，提供一種用於治療或預防癌症或感染性疾病和/或用於增加治療癌症或感染性疾病之療效的藥學組成物，該組成物包含作為活性成份之一包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白或其中該二個融合蛋白附接之一融合蛋白二聚體。

【0079】 該包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白或其中該二個融合蛋白附接之該融合蛋白二聚體如上所述。

【0080】 該癌症可選自於由下列所構成之群組：胃癌、肝癌、肺癌、結直腸癌、乳癌、前列腺癌、卵巢癌、胰臟癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、喉癌、急性骨髓性白血病、腦瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、頭頸癌、唾液腺癌及淋巴瘤。此外，該感染性疾病可為選自於由下列所構成之群組中之任一者：B型肝炎、C型肝炎、人類乳突病毒(HPV)感染、巨細胞病毒感染、病毒性呼吸疾病及流行性感冒。

【0081】 該藥學組成物之較佳劑量隨著病患的病況及體重、疾病嚴重度、藥物形式、投與途徑與期間而變，且可由熟悉此技藝之人士適當地選擇。在用於治療或預防癌症或感染性疾病之本發明的藥學組成物中，可依據應用、劑型、摻合目的等等而包含任何數量(有效量)的活性成份，只要該活性成份對感染性疾

病能表現出抗癌活性或療效即可。其常規有效量以該組成物之總重量計，測定在0.001重量%至20.0重量%之範圍內。在此，術語“有效量”意指活性成份能夠引起抗癌作用或感染性疾病治療作用之數量。此一有效量可在熟悉此技藝之人士之常識範圍內通過實驗決定。

【0082】 本文中所使用的術語“治療”可用於意指治療性與預防性治療。在此，預防性可用於指減輕或緩和個體的病理狀態或疾病。在一實施例中，術語“治療”包括用於治療哺乳動物，包括人，之疾病的施用或任何形式的投藥。此外，該術語包括抑制或減慢疾病或疾病的進展；及包括復原或修復損傷或喪失的功能，以便部分或完全減輕疾病的意思；刺激低效的處理；或減輕嚴重疾病。

【0083】 本文中所使用的術語“療效”意指可利用一或多個參數確定的能力，例如在一定時間如一年、五年或十年內的存活率或無病存活率。此外，該參數可包括抑制個體中至少一個腫瘤的大小。

【0084】 藥動學參數如生物可用率及基礎參數如廓清率亦會影響療效。因此，“增強療效”(例如，改善療效)可以是由於增強藥動學參數或改善療效的結果，其可藉由比較測試動物或人受試者中之廓清率及腫瘤生長，或藉由比較參數如存活率、復發或無疾病存活率來測量。

【0085】 本文中所使用的術語“治療有效量”或“藥學有效量”意指有效預防或治療提到的疾病之化合物或組成物的數量，其足夠以適用於醫療之合理的效益/風險比治療疾病而不會引起副作用。該有效量之位準可依據包括下列之因素決定：病患的健康狀況、疾病的類型或嚴重度、藥物活性、病患對藥物的敏感性、投藥模式、投藥時間、投藥途徑與排泄率、治療期間、配方或同時使用的藥物及醫學領域中熟知之其它因素。在一實施例中，該治療有效量意指有效治療癌症的數量。

【0086】 在此，該藥學組成物可進一步包含一藥學上可接受的載劑。該藥學上可接受的載劑可為任一載劑，只要該載劑為適合遞送至病患之無毒性物質即可。可包含蒸餾水、酒精、脂肪、蠟及惰性固體作為該載劑。該藥學組成物中亦可包含藥學上可接受的佐劑(緩衝液、分散劑)。

【0087】 具體地，藉由包含除活性成份外之藥學上可接受的載劑，可依據投藥途徑，使用業界慣用的方法，將該藥學組成物製備成腸胃外配方。在此，術語"藥學上可接受的"意指該載劑之毒性不超過所施用的(處方的)受試者所能適應的毒性，同時不抑制活性成份的活性。

【0088】 在將該藥學組成物配製成胃腸外配方時，可根據業界熟知之方法用適合的載劑將其製成注射劑、穿皮貼片、鼻吸劑或栓劑之形式。在製成注射劑之情況下，可使用無菌水、乙醇、諸如甘油或丙二醇之多元醇或其混合物作為適合的載劑；及較佳地可使用等張溶液，諸如林格氏溶液、含三乙醇胺或注射用無菌水之磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)及5%右旋糖等等。藥學組成物之配方是業界已知的，且可具體參考Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995)等等。此文件視為本說明書之一部分。

【0089】 該藥學組成物之較佳劑量範圍可從每日0.01μ g/kg至10g/kg或0.01mg/kg至1g/kg，取決於病患的病況、體重、性別、年齡、病患嚴重度、投藥途徑。該劑量之投與，可一天一次，或可分成一天數次。此一劑量在任何方面不應被解釋為本發明之範疇的限制。

【0090】 該藥學組成物可施用(處方)之受試者為哺乳動物及人，特別適合的是人。除了活性成份外，本申請案之藥學組成物可進一步含有任何已經過安全認證且已知具抗癌活性或具感染性疾病治療功效之化合物或天然萃取物，以便增強或加強抗癌活性。

【0091】 在本發明之又另一態樣中，提供一種包含IL-2蛋白及CD80蛋白之

融合蛋白供用於治療癌症或感染性疾病之用途。

【0092】 在本發明之又另一態樣中，提供一種包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白供用於提高對癌症或感染性疾病之療效之用途。

【0093】 在本發明之又另一態樣中，提供一種包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白供用於製造用於治療癌症或感染性疾病之藥劑之用途。

【0094】 在本發明之又另一態樣中，提供一種用於治療癌症或感染性疾病之方法和/或用於提高對癌症或感染性疾病之療效之方法，其包含對一受試者投與一包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白，或二個該融合蛋白附接之一融合蛋白二聚體。

【0095】 該受試者可為罹患癌症或感染性疾病之個體。此外，該受試者可為哺乳動物，較佳地人。該包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白，或其中二個融合蛋白附接之該融合蛋白二聚體如上所述。

【0096】 投與該融合蛋白或融合蛋白二聚體之投藥途徑、劑量及頻率可依病人的病況，有或無副作用而變化，因此可以各種方法及數量投與該融合蛋白或該融合蛋白二聚體至受試者。最適當的投藥方法、劑量及投藥頻率可由熟悉此技藝之人士在適當的範圍內選擇。此外，該融合蛋白或融合蛋白二聚體可與治療效果已知和待治療之疾病有關的其它藥物或生理活性物質結合投與，或可與其它藥物配製成組合製劑之形式。

【0097】 由於IL-2活性，本發明實施例中之融合蛋白可活化免疫細胞，如自然殺手細胞。因此，該融合蛋白可有效地用於癌症與感染性疾病。特別是，經鑑定，與野生型相比具二至五個胺基酸取代之IL-2變異體，特別是在選自於由下列所構成之群組之位置中的二個、三個、四個或五個位置處含有胺基酸取代之IL-2變異體：R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G，對IL-2受體 α 鏈具低結合能力，因此在習知IL-2之藥理副作用方面，展現出改良的特徵。因此，此一IL-2

變異體當單獨使用或以融合蛋白之形式使用時，可降低血管(或微血管)滲漏症候群(VLS；一種習知與IL-2相關的問題)之發生率。

本發明之模式

【0098】 於下文中，將藉由下列範例更詳細的說明本發明。然而，下列範例僅供例示說明本發明，而本發明之範疇不受其限制。

I. 融合蛋白之製備

製備範例1，hCD80-Fc-IL-2變異體(2M)：GI101之製備

【0099】 為了產生包含人CD80片段、Fc結構域及IL-2變異體之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：8)，其從N端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、CD80片段(序列辨識編號：2)、Ig絞鏈(序列辨識編號：3)、Fc結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及具有二個胺基酸取代的IL-2變異體(2M) (R38A，F42A) (序列辨識編號：6)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)，以表達具序列辨識編號：9之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"GI101"。

【0100】 純化使用含MabSelect SuRe蛋白A樹脂之色層分析法進行。該融合蛋白在25mM Tris、25mM NaCl、pH 7.4之條件下會結合於其上。之後，用100mM NaCl、100mM乙酸、pH 3進行洗提，將20% 1M Tris-HCl，pH 9置於收集試管中，然後收集融合蛋白。針對收集的融合蛋白，用PBS緩衝液透析16個小時交換該緩衝液。

【0101】 之後，以使用TSKgel G3000SWXL管柱(TOSOH Bioscience)之粒徑篩析層析法，測量在280nm波長下隨著時間變化的吸光度，獲得高度濃縮的融合

蛋白。在此，對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之SDS-PAGE處理，且用考馬斯藍(Coomassie Blue)染色，檢測其純度(圖6)。用NanoDrop檢測時，鑑定出該融合蛋白的濃度為2.78mg/ml (圖7)。此外，利用粒徑篩析層析法分析所獲得的結果提供在圖8中。

製備範例2，mCD80-Fc-IL-2變異體(2M)：mGI101之製備

【0102】 為了產生包含小鼠CD80、Fc結構域及IL-2變異體之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：14)，其從N端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、mCD80 (序列辨識編號：13)、Ig絞鏈(序列辨識編號：3)、Fc結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及具二個胺基酸取代之IL-2變異體(2M) (R38A，F42A) (序列辨識編號：6)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達序列辨識編號：15之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"mGI101"。

【0103】 該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之SDS-PAGE處理，且用考馬斯藍染色，檢測其純度(圖9)。用NanoDrop檢測在280nm下之吸光度時，發現該融合蛋白的濃度為1.95mg/ml。

製備範例3，hCD80-Fc：GI101C1之製備

【0104】 為了產生包含人CD80片段及Fc結構域之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：16)，其編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、CD80片段(序列辨識編號：2)、Ig絞鏈(序列辨識編號：

3)及Fc結構域(序列辨識編號：4)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達序列辨識編號：17之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"GI101C1"。

【0105】該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之SDS-PAGE處理，且用考馬斯藍染色，檢測其純度(圖10)。用NanoDrop檢測在280nm下之吸光度時，觀察到該融合蛋白的濃度為3.61mg/ml。

製備範例4，Fc-IL-2變異體(2M)：GI101C2之製備

【0106】為了產生包含Fc結構域及IL-2變異體之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：18)，其從N端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、Fc結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及具有二個胺基酸取代之IL-2變異體(2M) (R38A，F42A) (序列辨識編號：6)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達序列辨識編號：19之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"GI101C2"。

【0107】該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之SDS-PAGE處理，且用考馬斯藍染色，檢測其純度(圖11)。使用NanoDrop檢測在280nm下之吸光度時，發現該融合蛋白的濃度為4.79mg/ml。

製備範例5，mCD80-Fc：mGI101C1之製備

【0108】 為了產生包含小鼠 CD80 及 Fc 結構域之融合蛋白，透過 ThermoFisher Scientific 之 Invitrogen GeneArt Gene Synthesis 服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：20)，其從 N 端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、mCD80 (序列辨識編號：13)、Ig 鉸鏈(序列辨識編號：3)及 Fc 結構域(序列辨識編號：4)之融合蛋白。將該多核苷酸插入 pcDNA3_4 載體中。此外，將該載體導入 CHO 細胞(Expi-CHO™)中，以表達序列辨識編號：21 之融合蛋白。導入載體後，在 37°C、125RPM 及 8% CO₂ 濃度之環境中進行培養 7 天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為 "mGI101C1"。

【0109】 該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例 1 中相同的方法進行。對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之 SDS-PAGE 處理，且用考馬斯藍染色，檢測其純度(圖 12)。使用 NanoDrop 檢測在 280nm 下之吸光度時，觀察到該融合蛋白的濃度為 2.49mg/ml。

【0110】 製備範例 1 至 5 中所製得的融合蛋白總結於以下表 1 中。

[表 1]

項目	N-端	連接子	C-端
製備範例 1 (GI101)	hCD80 片段	Fc 結構域	hIL-2m
製備範例 2 (mGI101)	mCD80 片段	Fc 結構域	hIL-2m
製備範例 3 (GI101C1)	CD80 片段	Fc 結構域	-
製備範例 4 (GI101C2)	-	Fc 結構域	IL-2m
製備範例 5 (mGI101C1)	mCD80 片段	Fc 結構域	-

製備範例 6，CD80-Fc-IL-2：GI101w 之製備

【0111】 為了產生包含人 CD80 片段、Fc 結構域及人 IL-2 之融合蛋白，透過 ThermoFisher Scientific 之 Invitrogen GeneArt Gene Synthesis 服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：31)，其從 N 端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、CD80 片段(序列辨識編號：2)、Ig 鉸鏈(序列辨識編號：3)、Fc 結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及成熟

人IL-2 (序列辨識編號：10)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達具序列辨識編號：32之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"GI101w"。該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。

製備範例7，hCD80-Fc-IL-2變異體(3M)：GI102-M45之製備

【0112】 為了產生包含人CD80、Fc結構域及具有三個胺基酸取代之IL-2變異體(3M) (R38A、F42A、Y45A) (GI102-M45)之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸包含一核苷酸序列(序列辨識編號：25)，其從N端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、CD80片段(序列辨識編號：2)、Ig絞鏈(序列辨識編號：3)、Fc結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及IL-2變異體(序列辨識編號：22)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達序列辨識編號：26之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"GI102-M45"。

【0113】 該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之SDS-PAGE處理，且用考馬斯藍染色，檢測其純度(圖13)。

製備範例8，hCD80-Fc-IL-2變異體(3M)：GI102-M61之製備

【0114】 為了產生包含人CD80片段、Fc結構域及具有三個胺基酸取代之IL-2變異體(3M) (R38A、F42A、E61R) (GI102-M61)之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：27)，其從N端依序

編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、CD80片段(序列辨識編號：2)、Ig絞鏈(序列辨識編號：3)、Fc結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及IL-2變異體(序列辨識編號：23)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達具序列辨識編號：28之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"GI102-M61"。

【0115】 該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之SDS-PAGE處理，且用考馬斯藍染色，檢測其純度(圖14)。

製備範例9，hCD80-Fc-IL-3M:GI102-M72之製備

【0116】 為了產生包含人CD80片段、Fc結構域及具有三個胺基酸取代之IL-2變異體(3M) (R38A、F42A、L72G) (GI102-M72)之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：29)，其從N端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、CD80片段(序列辨識編號：2)、Ig絞鏈(序列辨識編號：3)、Fc結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及IL-2變異體(序列辨識編號：24)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達具序列辨識編號：30之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及濃度8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"GI102-M72"。

【0117】 該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。對分離且純化的融合蛋白進行在還原(R)或非還原(NR)條件下之SDS-PAGE處理，

且用考馬斯藍染色，檢測其純度(圖15)。

製備範例10，mCD80-Fc-IL-3M:mGI102-M61之製備

【0118】為了產生包含小鼠CD80片段、Fc結構域及具有三個胺基酸取代之IL-2變異體(3M) (R38A、F42A、E61R) (GI102-M61)之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成一多核苷酸。具體地，該多核苷酸含有一核苷酸序列(序列辨識編號：33)，其從N端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、mCD80片段(序列辨識編號：13)、Ig絞鏈(序列辨識編號：3)、Fc結構域(序列辨識編號：4)、連接子(序列辨識編號：5)及IL-2變異體(序列辨識編號：23)之融合蛋白。將該多核苷酸插入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(Expi-CHO™)中，以表達具序列辨識編號：34之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂濃度之環境中進行培養7天。之後，收成培養物，然後從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白標定為"mGI102-M61"。

【0119】該融合蛋白之純化及收集使用與製備範例1中相同的方法進行。

II. 融合蛋白與其配體間之結合親和力的鑑定

【0120】為了鑑定融合蛋白與其配體間之結合親和力，使用Octet RED 384測量該親和力。

實驗例1，hCTLA-4與GI101間之結合親和力的鑑定

【0121】事先用96孔微板(GreinerBio-one，目錄號：655209)中200μl的蒸餾水水合AR2G生物感應器(Amine Reactive 2nd gen，ForteBio，目錄號：18-5092)。用10mM醋酸鹽緩衝液(pH 5，AR2G試劑套組，ForteBio目錄號：18-5095)將待與AR2G生物感應器接觸之配體(CTLA-4，人CTLA-4/CD152，組胺酸標籤，Sino Biological，目錄號：11159-H08H)稀釋至濃度5μg/ml。此外，用1X AR2G動力學緩衝液(AR2G試劑套組，ForteBio，目錄號：18-5095)將待與該配體接觸之GI101

稀釋至濃度1,000nM、500nM、250nM、125nM或62.5nM。藉由將20mM EDC與10mM s-NHS (AR2G試劑套組, ForteBio, 目錄號: 18-5095)混合於蒸餾水中製備活化緩衝液。將80μl各試劑置於384孔微盤(Greiner Bio-one, 目錄號: 781209)中, 然後設定程式。

【0122】 hCTLA-4與GI101間之結合親和力的測量結果如圖16所示。

實驗例2, hPD-L1/GI101與hPD-L1/PD-1間之結合親和力的鑑定

【0123】 事先用96孔微板(GreinerBio-one, 目錄號: 655209)中200μl的1X Ni-NTA動力學緩衝液(10X動力學緩衝液, ForteBio, 18-1042)水合Ni-NTA (帶鎳Tris-NTA, Ni-NTA Biosensors, ForteBio, 18-5101)。用1X Ni-NTA動力學緩衝液將待與Ni-NTA生物感應器接觸之配體(人PD-L1/B7-H1蛋白, 組胺酸標籤, Sino biological, 目錄號: 10084-H08H)稀釋至濃度5μg/ml。用1X Ni-NTA動力學緩衝液將待與該配體接觸之GI101稀釋至濃度1,000nM、500nM、250nM、125nM或62.5nM。此外, 用1X Ni-NTA動力學緩衝液將待與該配體接觸之人PD-1/PDCD1 (人PD-1/PDCD1, Fc標籤, Sino Biological, 目錄號: 10377-H02H)稀釋至濃度2,000nM、1,000nM、500nM、250nM或125nM。然後, 將80μl各試劑置於384孔微盤中, 然後設定程式。

【0124】 hPD-L1與GI101間之結合親和力的測量結果如圖17所示。此外, hPD-L1與hPD-1間之結合親和力的測量結果如圖18所示。

實驗例3, mCTLA-4與mGI101間之結合親和力的鑑定

【0125】 用與實驗例1中相同的方法檢驗mCTLA-4與mGI101間之結合親和力。在此, 所使用的設備如下: 生物感應器: AR2G, 配體: mCTLA-4 (重組小鼠CTLA-4 Fc嵌合體, R&D Systems, 目錄號: 434-CT-200), 分析物: mGI101 (500nM、250nM、125nM、62.5nM、31.3nM)。

【0126】 mCTLA-4與mGI101間之結合親和力的測量結果如圖19所示。

實驗例4，mPD-L1與mGI101間之結合親和力的鑑定

【0127】 用與實驗例1中相同的方法鑑定mPD-L1與mGI101間之結合親和力。在此，所使用的設備如下：生物感應器：AR2G，配體：mPD-L1 (重組小鼠 B7-H1/PD-L1 Fc嵌合體，R&D Systems，目錄號：434-CT-200)，分析物：mGI101 (500nM、250nM、125nM、62.5nM、31.3nM)。

【0128】 mPD-L1與mGI101間之結合親和力的測量結果如圖20所示。

實驗例5，GI-101 (hCD80-Fc-hIL-2v)對CTLA-4與PD-L1之結合能力的鑑定

【0129】 結合動力學之測量係使用Octet RED 384儀器(ForteBio, Pall Life Science)，在30°C、1,000rpm之攪拌下進行。對CTLA-4之結合能力，使用胺反應性第2代(AR2G)生物感應晶片測量，而對PD-L1之結合能力，使用帶鎳Tris-NTA (Ni-NTA)生物感應晶片測量。用400mM EDC與100mM 硫-NHS之組合活化AR2G生物感應晶片。之後，用10mM 醋酸鹽緩衝液(pH 5)將人CTLA-4-組胺酸標籤(Sino Biological，目錄號：11159-H08H)稀釋至5µg/ml，然後加載在AR2G生物感應晶片上，歷時300秒並固定。

【0130】 之後，測量CTLA-4對各濃度下的GI-101 (hCD80-Fc-hIL-2v)、GI-101C1 (hCD80-Fc)、伊皮利木單抗 (Ipilimumab) (Bristol-Myers Squibb)及GI-101C2 (Fc-hIL-2v)之結合300秒，亦測量其解離300秒。另一方面，用1XNi-NTA動力學緩衝液將人PD-L1-組胺酸標籤(Sino biological，目錄號：10084-H08H)稀釋至濃度5µg/ml，然後加載於Ni-NTA生物感應晶片上，歷時600秒並固定。之後，測量PD-L1對各濃度下的GI-101、GI-101C1、hPD-1-Fc (Sino biological，目錄號：10377-H02H)及GI101C2之結合300秒，亦測量其解離300秒。使用Pall Corporation提供的Octet Data Analysis HT軟體第10版進行結合動力學分析。結果示於圖21及22中。

實驗例6，GI-101 (hCD80-Fc-hIL-2v)在PD-1/PD-L1結合上之作用的鑑定

【0131】 使用Octet RED 384儀器(ForteBio, Pall Life Science)，在30°C、1,000rpm之攪拌下進行阻斷實驗。用1XNi-NTA動力學緩衝液將人PD-L1-組胺酸標籤(Sino biological，目錄號：10084-H08H)稀釋至濃度5μ g/ml，然後加載於Ni-NTA生物感應晶片上，歷時600秒並固定。為了進行阻斷實驗，使固定在該生物感應晶片上之hPD-L1與不同濃度下的GI-101 (300nM、100nM、50nM、25nM、12.5nM及0nM)結合600秒，然後再次令其與競爭性人PD-1 (100nM)結合600秒，以便測量還有多少hPD-1能結合於其上。相反的，使hPD-L1與各種濃度下的hPD-1 (300nM、100nM、50nM、25nM、12.5nM及0nM)結合600秒，然後再次令其與競爭性GI-101 (100nM)結合600秒，以便測量還有多少GI-101可結合於其上。使用Pall Corporation提供之Octet Data Analysis HT軟體第10版的表位分箱(epitope binning)選項單分析該阻斷實驗。結果示於圖23中。

實驗例7，IL-2Rα 或IL-2Rβ 與GI101間之結合親和力的鑑定

【0132】 對IL-2Rα 的結合能力，使用AR2G生物感應器測量，而IL-2Rβ 的結合能力，使用Ni-NTA生物感應器(帶鎳Tris-NTA，Ni-NTA生物感應器，ForteBio，18-5101)測量。

【0133】 用10mM醋酸鹽緩衝液(pH 5，AR2G試劑套組，ForteBio，目錄號：18-5095)將待附著於AR2G生物感應器上之配體(IL-2Rα -組胺酸標籤，Acro，目錄號：ILA-H52H9)稀釋至濃度5μ g/ml。用藉由混合400mM EDC與100mM硫-NHS製得的緩衝液活化AR2G生物感應器，然後將該稀釋的配體加載於AR2G生物感應器上，歷300秒並固定。

【0134】 同時，用1X Ni-NTA動力學緩衝液將待附著於Ni-NTA生物感應器之配體(IL-2Rβ -組胺酸標籤，Acro，目錄號：CD2-H5221)稀釋至濃度5μ g/ml。將該稀釋的配體加載於Ni-NTA生物感應器上，歷600秒並固定。

【0135】 之後，將待附著於該配體之各濃度的GI101、GI101w或普留淨

(Proleukin) (Novartis, hIL-2)加載於其上，歷300秒。然後，測量其之結合，亦測量其之解離，歷300秒。使用Pall Corporation提供的Octet Data Analysis HT軟體第10版進行結合動力學分析。結果示於圖24至26中。

【0136】 結果，鑑定出相較於GI101w及普留淨(Proleukin)，GI101對IL-2受體 α 鏈，IL-2R α ，具有低結合能力，而對IL-2R β 具有高結合能力。

實驗例8，融合蛋白與配體間之結合親和力的測量

【0137】 為了鑑定融合蛋白與其配體間之結合親和力，使用Octet RED 384測量結合親和力。

實驗例8.1，IL2 α 受體與GI101-M45、GI101-M61或GI101-M72間之結合親和力的鑑定

【0138】 事先用96孔微板(GreinerBio-one，目錄號：655209)中200 μ l的蒸餾水(DW)水合AR2G生物感應器(Amine Reactive 2nd gen，ForteBio，目錄號：18-5092)。用10mM醋酸鹽緩衝液(pH 5) (AR2G試劑套組，ForteBio，目錄號：18-5095)將待附著於該生物感應器之配體(人IL-2 R α 蛋白，組胺酸標籤，Acro，ILA-H52H9)稀釋至濃度5 μ g/ml。用1X AR2G動力學緩衝液(AR2G試劑套組，ForteBio，目錄號：18-5095)將待附著於該配體之分析物(GI101-M45、GI101-M61、GI101-M72)分別稀釋至500nM、250nM、125 nM及62.5nM。藉由將20mM EDC與10mM s-NHS (AR2G試劑套組，ForteBio，目錄號：18-5095)混合於DW中，製備活化緩衝液。將80 μ l之各試劑置於384孔微板中(Greiner Bio-one，目錄號：781209)並設定程式。

【0139】 IL2 α 受體與GI101-M45間之結合親和力的結果示於圖27中。此外，IL2 α 受體與GI101-M61間之結合親和力的結果示於圖28中，及IL2 α 受體與GI101-M72間之結合親和力的結果示於圖29中。

實驗例8.2，GI102-M45、GI102-M61及GI102-M72對IL-2R β 之結合親和力

的鑑定

【0140】 事先用96孔微板中200 μ l的1X Ni-NTA動力學緩衝液(10X動力學緩衝液，ForteBio，18-1042)水合Ni-NTA生物感應器。用1X Ni-NTA動力學緩衝液將待附著於該生物感應器之配體(人IL-2 R β 蛋白，His-Tag，Acro，CD2-H5221)稀釋至濃度2 μ g/ml。用1X Ni-NTA動力學緩衝液將待附著於該配體之GI102-M45、GI102-M61或GI102-M72稀釋至濃度500nM、250nM、125nM或62.5nM。將80 μ l各試劑置入384孔微板中，並設定程式。

【0141】 IL-2R β 與GI102-M45間之親和力的測量結果如圖30所示，而IL-2R β 與GI102-M61間之親和力的測量結果如圖31所示。此外，IL-2R β 與GI102-M72間之親和力的測量結果如圖32所示。

III.融合蛋白之免疫活性的鑑定

實驗例9，由融合蛋白引起的IFN- γ 產量的鑑定

實驗例9.1，CFSE標記的PBMCs之培養

【0142】 使從人體內分離出的周邊血液單核細胞(PBMCs)與1 μ M CellTrace CFSE染料在37°C下反應20分鐘，標記上羧基螢光素琥珀醯亞胺酯(CFSE)。藉由與具有5倍染色反應溶液體積的培養基反應5分鐘，然後在1,300rpm下離心5分鐘，除去未與細胞結合的CFSE。將CFB標記的PBMCs重新懸浮於培養基(含10% FBS、10mM HEPES、100U/ml盤尼西林/鏈黴素、1mM丙酮酸鈉、55 μ M 2-巰乙醇、1mM非必需胺基酸及2mM L-麩醯胺酸之RPMI1640培養基)中，然後以每孔 1×10^5 個細胞加至96孔盤中。進行5 μ g/ml之PHA (源自菜豆(Phaseolus Vulgaris)，紅菜豆，之凝集素，Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA，目錄號L1668-5MG)及GI101、GI101C1、GI101C2或IL-2 (Aldesleukin；人重組IL-2，Novartis)的處理，且在5% CO₂培養箱中37°C下培育6天。

【0143】 在此，GI101、GI101C1、GI101C2及IL-2之處理，在濃度1nM、

10nM或100nM下進行。利用FACS分析細胞，使用ELISA套組(Biolegend, San Diego, CA, USA，目錄號430103)測量存在培養基中之人IFN- γ 。

實驗例9.2，FACS分析法

【0144】用FACS緩衝液(3% FBS、10mM EDTA、1M HEPES、100單位/mL 盤尼西林鏈黴素、10 μ g/ml、1mM丙酮酸鈉)清洗除去上清液而獲得的細胞沈澱物，然後與Fc阻斷劑(Biolegend，目錄號422302)在4°C下反應5分鐘。之後，以APC抗-CD3 Ab (Biolegend，目錄號300412)及PE抗-CD8a Ab (Biolegend，目錄號300908)處理，並使反應在4°C下進行20分鐘。之後，用FACS緩衝液清洗產物。將細胞沈澱物重新懸浮於FACS緩衝液中，然後使用BD LSR Fortessa (BD Biosciences, San Diego, CA, USA)及FlowJo軟體分析。

實驗例9.3，人IFN- γ ELISA

【0145】使用人IFN- γ ELISA套組(Biolegend，目錄號430103)測量分泌至各樣本(其中細胞經過培養)上清液中之人IFN- γ 的數量。簡言之，將抗人IFN- γ 抗體加至ELISA盤中，使反應在4°C下進行一整夜，如此此等抗體會包覆於其上。然後，用添加1% BSA之PBS溶液在室溫下進行阻斷1個小時。用清洗緩衝液(配製於PBS中之0.05% Tween-20)清洗，然後將標準溶液及各樣本適當地稀釋並加入於其中。然後，使反應在室溫下進行2個小時。

【0146】反應完成後，清洗該盤，並於其中加入二級抗體(檢測抗體)。使反應在室溫下進行1個小時。用清洗緩衝液清洗，然後於其中加入Avidin-HRP溶液。令反應在室溫下進行30分鐘。於其中加入基質溶液，且在室溫黑暗中20分鐘引發顯色反應。最後，於其中加入H₂SO₄停止顯色反應，並用Epoch微板分光光度計(BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)測量在450nm下之吸光度。

【0147】結果發現，相較於用GI101C1、GI101C2或IL-2處理的細胞，用GI101處理的細胞表示出IFN- γ 之分泌明顯的增加(圖33及34)。

實驗例10，GI101對CD8+ T細胞增生之功效的鑑定

【0148】使從人體內分離出的周邊血液單核細胞(PBMCs)與1 μ M CellTrace CFSE染料在37°C下反應20分鐘，標記上CFSE。藉由與具有5倍染色反應溶液體積的培養基反應5分鐘，然後在1,300rpm下離心5分鐘，除去未與細胞結合的CFSE。將CFB標識的PBMCs重新懸浮於培養基(含10% FBS、10mM HEPES、100U/ml盤尼西林/鏈黴素、1mM丙酮酸鈉、55 μ M 2-巰乙醇、1mM非必需胺基酸及2mM L-麩醯胺酸之RPMI1640培養基)中，然後以每孔 1×10^5 個細胞加至96孔盤中。

【0149】之後，進行1 μ g/ml之抗CD3 ϵ 抗體(Biolegend，目錄號L1668-5MG)及GI101、GI101C1、GI101C2或普留淨(Proleukin) (Novartis)的處理，且在5% CO₂培養箱中37°C下培育6天。在此，以100nM濃度之GI101、GI101C1、GI101C2及IL-2處理該細胞。藉由使用APC-TCR $\alpha\beta$ 及PE-CD8 α 抗體之FACS分析，測量沒有標記CFSE之CD8+ T細胞的比例，檢驗該培育細胞之增生程度。

【0150】結果發現，GI101活體外活化CD8+ T細胞增生之程度，與野生型IL-2 普留淨(Proleukin)相似(圖35及36)。

實驗例11，GI101及GI102對CD8+ T細胞增生之功效的鑑定

【0151】從Allcells採購人PBMCs (Lot # 3014928，USA)。使用1M CellTrace CFSE染料，其與人PBMCs在遮光室溫條件下反應20分鐘。藉由與1 μ M CellTrace CFSE染料於37°C下反應20分鐘，在該細胞上標記CFSE。藉由與具有5倍染色反應溶液體積的培養基反應5分鐘，然後在1,300rpm下離心5分鐘，除去未與細胞結合的CFSE。將CFB標記的PBMCs重新懸浮於培養基(含10% FBS、10mM HEPES、100U/ml盤尼西林/鏈黴素、1mM丙酮酸鈉、55 μ M 2-巰乙醇、1mM非必需胺基酸及2mM L-麩醯胺酸之RPMI1640培養基)中，然後以每孔 1×10^5 個細胞加至96孔盤中。

【0152】 之後，用1 μ g/ml 抗CD3 ϵ 抗體(OKT3, eBioscience, USA)及GI101、GI101C1、GI101C2或普留淨(Proleukin) (Novartis)處理CFB標記的PBMCs，且於5% CO₂培養箱中37°C下培育7天。在此，用濃度10 μ M之GI101、GI101C1、GI101C2及IL-2處理該細胞。

【0153】 藉由使用抗人CD4-PE抗體(BioLegend, USA)、抗人CD8-PE/Cy7抗體(BioLegend, USA)及抗人FoxP3-APC抗體(BioLegend, USA)之FACS分析法測量沒有標記CFSE之CD8+ T細胞的比例，檢驗該培育細胞之增生程度。

【0154】 結果，相較於對照組(無刺激)、單獨抗CD3抗體處理組及GI101C1處理組，GI101、GI102_M61、GI101C2及普留淨(Proleukin)處理組表現出CD8+ T細胞之比例顯著的增加。此外，相較於陰性對照組(無刺激)及單獨抗CD3處理組，GI101、GI101C2及普留淨(Proleukin)處理組表現出CD4+/FoxP3+ Treg細胞增生顯著的增加，然而GI102及GI101C1處理組沒有表現出CD4+/FoxP3+ Treg細胞增生顯著的增加(圖 37)。

實驗例12，GI101或GI101w對CD8+ T細胞及NK細胞增生之功效的鑑定

【0155】 將從Orient Bio (Busan, Korea)購得之7周大的C57BL/6小鼠分成3組，每一組包含3隻小鼠，且於其腹腔中注射PBS、GI101或GI101w。在此，分別將40.5 μ g之GI101及GI101w配製於200 μ l PBS中，並注射於腹腔中。注射後5天，從各組小鼠身上取出脾臟。從其中分離出細胞，使用血球計測量細胞總數。以使用APC-CD3 ϵ 抗體(Biolegend; 145-2C11)、PE-NK1.1抗體(Biolegend; PK136)及Pacific blue-CD8 α 抗體(BD; 53-6.7)染色之FACS分析法，檢驗脾細胞中CD8+ T細胞及NK細胞的比例。因此，計算脾中所存在的CD8+ T細胞及NK細胞的數目。

【0156】 結果鑑定出，相較於GI101w，GI101在活體內會活化CD8+ T細胞及NK細胞之增生(圖38及39)。

實驗例13，GI101對T細胞功能之作用的鑑定

【0157】 使用CTLA-4阻斷生物分析套組(Promega，目錄號JA4005)進行實驗。此實驗簡短說明如下。使保存在液態氮中之CTLA-4效應細胞於37°C恆溫水浴中解凍3分鐘，然後將0.8ml之CTLA-4效應細胞與3.2ml之預熱的分析緩衝液(90% RPMI + 10% FBS)充分混合。之後，將該混合物以每孔25 μ l加至96孔白血球培養盤(SPL，目錄號30196)中。之後，於其中加入25 μ l各濃度的GI101。至於陰性對照組，於其中加入25 μ l之分析緩衝液。之後，將白血球培養盤蓋起來，並置於室溫下直到製得aAPC/Raji細胞。

【0158】 使保存在液態氮中之aAPC/Raji細胞在37°C恆溫水浴下解凍3分鐘，並將0.8ml之aAPC/Raji細胞與3.2ml之預熱分析緩衝液充分混合。之後，於盤上每一孔中加入25 μ l之該混合物，且令反應在5% CO₂培養箱中37°C下反應16個小時。反應完全後，使產物於室溫下靜置15分鐘，然後於其中加入Bio-Glo試劑，同時注意避免泡泡。還在最外面的三個孔中加入Bio-Glo試劑，並將該孔作為空白以校正背景信號。令反應在室溫下進行10分鐘，然後用Cytation 3 (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)測量發光。藉由計算RLU (GI101-背景)/RLU (無處理背景)進行最後的數據分析。

【0159】 結果發現，GI101會附接於表達在效應T細胞上之CTLA-4，且活化T細胞之功能而不是抑制其功能(圖40及41)。

實驗例14，mGI101及mGI102對免疫細胞之作用的鑑定

【0160】 將從Orient Bio (Korea)購得之7周大的C57BL/6小鼠分成3組，各組包含3隻小鼠，且於其腹腔中投與PBS、3mg/kg、6mg/kg或12mg/kg之GI101或3mg/kg、6mg/kg或12mg/kg之mGI102 (mGI102-M61)。在注射後第1、3、5、7及14天，從各組小鼠身上取出脾臟。之後，針對脾組織，以使用各別的抗體之FACS分析法計算效應CD8⁺ T細胞、NK細胞及Treg細胞數，且分別計算效應CD8⁺ T細胞及NK細胞相對於Treg細胞之比例。在各細胞分析中使用的抗體之信息如下：

效應CD8⁺ T細胞：PB抗小鼠CD3 ϵ 抗體(Biolegend，# 155612；KT3.1.1)、FITC抗小鼠CD8 α 抗體(BD，# 553031，53-6.7)、PE/Cy7抗小鼠CD44抗體(Biolegend，# 103030；IM7)、APC抗小鼠CD122抗體(Biolegend，# 123214；TM- β 1)

NK細胞：PB抗小鼠CD3 ϵ 抗體(Biolegend，# 155612；KT3.1.1)、PE抗小鼠NK-1.1 (Biolegend，# 108708；PK136)

Treg細胞：FITC抗小鼠CD3抗體(Biolegend，# 100204；17A2)、PB抗小鼠CD4抗體(Biolegend，# 100531；RM4-5)、PE抗小鼠CD25抗體(Biolegend，#102008；PC61)、APC抗小鼠Foxp3抗體(Invitrogen，# FJK-16s，17-5773-82)。

【0161】結果，相較於PBS投與組，接受mGI101或mGI102 (mGI102-M61)之組在投與後3天至14天之時間點的CD8⁺ T細胞及NK細胞數方面，表現出顯著的增加。此外，發現相較於PBS投與組，接受mGI102之組在投與後3天至14天之時間點的活化CD8⁺ T細胞/Treg細胞及NK細胞/Treg細胞比率方面，表現出顯著的增加(圖42)。

IV. 融合蛋白之抗癌作用的鑑定

實驗例15，GI101對過度表達PD-L1之癌細胞之作用的鑑定

【0162】將過度表達PD-L1之NCI-H292癌細胞株在含有10 μ g/ml絲裂黴素C (Sigma)之培養基中培養3個小時，然後清洗該培養基以除去絲裂黴素C。之後，使5 $\times$ 10⁴個絲裂黴素C處理的NCI-H292癌細胞株之細胞與1 $\times$ 10⁵個人PBMCs細胞在96孔盤中培育。在此，以5 μ g/ml之PHA (Sigma)處理進行T細胞活化。此外，使50nM濃度的GI101C1及GI101與50nM濃度的IgG1-Fc (Biolegend)或阿巴西普(abatacept；Orencia；Bristol-Myers Squibb)在4°C下反應30分鐘，之後將產物用於處理NCI-H292癌細胞。3天後，收集細胞培育上清液並使用ELISA套組(Biolegend)定量IFN- γ 之數量。

【0163】使用在無絲裂黴素C處理的NCI-H292癌細胞株之存在下用PHA刺

激的人PBMCs，作為陽性對照組；而使用在有絲裂黴素C處理的NCI-H292癌細胞株之存在下用PHA刺激的人PBMCs，作為陰性對照組。使用IFN- γ ELISA套組之實驗方法，以與實驗例9.3中相同的方法進行。

【0164】結果，GI101有效地活化已被過度表達PD-L1之癌細胞株抑制的免疫反應。此外，發現GI101會抑制在效應T細胞上表達的CTLA-4之傳訊(圖43及44)。

實驗例16，GI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0165】將 5×10^6 細胞/0.05ml的小鼠來源CT-26癌細胞株與0.05ml的Matrigel基質無酚紅(BD)混合，然後在6周大雌性BALB/c小鼠(Orient Bio)之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並分開達到約 80 mm^3 至 120 mm^3 之受試者。之後，在該受試者身上靜脈投與0.1ml的GI101。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次，而對陰性對照組給予PBS。每天測量腫瘤大小，以鑑定抗癌作用。

【0166】結果觀察到，相較於陰性對照組，用GI101處理之CT-26癌細胞株移植小鼠在腫瘤大小方面，表現出明顯的縮小(圖45及46)。

實驗例17，mGI101在小鼠來源黑色素瘤移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0167】讓從Orient Bio取得之C57BL/6小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，使 5×10^6 個B16F10癌細胞株(ATCC，USA)之細胞與0.05ml之Matrigel基質無酚紅(BD)混合，在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 50 mm^3 至 120 mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。

【0168】之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰對照組投與4mg/kg劑量的hIgG4，而對陽性對照組投與5mg/kg劑量的抗PD-1抗體。在實驗組方面，於

其中靜脈投與1mg/kg或4mg/kg劑量的mGI101。此外，還將接受4mg/kg劑量的mGI101及5mg/kg劑量的抗PD-1抗體之組設定為實驗組。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。

【0169】結果，所有組的起始腫瘤體積均為90mm³，每一組的標準誤差(S.E.)為5mm³至6mm³。在陰性對照組中，在實驗期間觀察到腫瘤體積改變，其中在投與後直到15天，腫瘤體積從90mm³增加至1,434mm³。

【0170】在接受1mg/kg劑量的mGI101之組中，在與陰性對照組相同的實驗期間觀察到腫瘤體積從90mm³增加至885mm³，且在某些測量時間點觀察到統計上顯著的腫瘤生長抑制(第11天p值：0.5，第7天p值< 0.01，第3天p值< 0.001)。在接受4mg/kg劑量的mGI101之組中，在與陰性對照組相同的實驗期間觀察到腫瘤體積從90mm³至748mm³，且在某些測量時間點觀察到統計上顯著的腫瘤生長抑制(第9天p值：0.5，第7天及第11天p值< 0.01)。

【0171】此外，使用接受4mg/kg劑量的mIgG之組作為參考值，並將此組與其它組之每一個進行比較，來分析腫瘤生長的抑制率。在接受1mg/kg劑量的mGI101之組中，相較於陰性對照組觀察到36.5%的生長抑制率，沒觀察到統計上顯著的差異(p值：0.5)。在接受4mg/kg劑量的mGI101之組中，相較於陰性對照組觀察到統計上顯著的腫瘤生長抑制率(p值：0.5)。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與二次。每天測量腫瘤大小。

【0172】由此發現，在針對B16F10，黑色素瘤同種異體移植C57BL/6小鼠的腫瘤生長抑制功效測試中，mGI101具有劑量依賴性抑制腫瘤生長之作用(圖47及48)。

實驗例18，mGI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0173】讓從Orient Bio取得之BALB/c小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，使5x10⁶個CT-26癌細胞株(ATCC，USA)之細胞與0.05ml之Matrigel基

質無酚紅(BD)混合，在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 28mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰性對照組投與6mg/kg劑量的hIgG4。在實驗組方面，於其中靜脈投與3mg/kg、6mg/kg或12mg/kg劑量的mGI101。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。

【0174】結果發現，以6mg/kg或12mg/kg mGI101劑量接受mGI101之實驗組，在一些測量時間點及測試結束時，相較於陰性對照組表現出顯著的腫瘤生長抑制(圖49)。此外，測量存活率的結果發現，接受6mg/kg劑量的mGI101之實驗組，在一些測量時間點及測試結束時，相較於陰性對照組表現出顯著的改善(圖50)。

實驗例19，GI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

實驗例19.1，腫瘤抑制作用的鑑定

【0175】讓從Orient Bio取得之BALB/c小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，將 5×10^6 個CT-26癌細胞株(ATCC，USA)之細胞懸浮於0.1ml之PBS中，在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該懸浮液進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 50mm^3 至 200mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰性對照組不投與藥物，而對陽性對照組投與5mg/kg劑量的抗PD-1抗體或5mg/kg劑量的抗PD-1抗體及5mg/kg劑量的抗CTLA-4抗體。在實驗組方面，於其中靜脈投與0.1mg/kg或1mg/kg劑量的GI101。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。

【0176】結果，在CT-26癌細胞株移植小鼠中，所有接受抗PD-1抗體、抗PD-1抗體及抗CTLA-4抗體或0.1mg/kg或1mg/kg劑量的GI101之組中，相較陰性

對照組均表現出顯著的腫瘤生長抑制。特別是，接受0.1mg/kg劑量的GI101之實驗組，相較於抗PD-1抗體處理組，表現出顯著的腫瘤抑制作用(* $p < 0.05$) (圖51)。

實驗例19.2，癌組織中之免疫細胞分析

【0177】 實驗例19.1中每一組的小鼠，當腫瘤體積長到平均200mm³時，將其犧牲，並採集癌組織。之後，將癌組織分離成單一細胞程度，以便分析其中的免疫細胞，然後使用下列抗體在該癌組織中之免疫細胞上進行FACS分析：抗小鼠CD3 (Biolegend，目錄號100320)、抗小鼠CD4 (Biolegend，目錄號100526)、抗小鼠CD8 (Biolegend，目錄號100750)、抗小鼠FoxP3 (eBioscience，目錄號12-5773-82)、抗小鼠CD25 (Biolegend，目錄號102049)、抗小鼠CD44 (eBioscience，目錄號61-0441-82)、抗小鼠PD-1 (Biolegend，目錄號135218)、抗小鼠IFN- γ (Biolegend，目錄號505832)、抗小鼠CD49b (Biolegend，目錄號108906)、抗小鼠H2 (Invitrogen，目錄號A15443)、抗小鼠CD11c (Biolegend，目錄號117343)、抗小鼠CD80 (eBioscience，目錄號47-4801-82)、抗小鼠CD86 (Biolegend，目錄號104729)、抗小鼠F4/80 (eBioscience，目錄號47-4801-82)及抗小鼠CD206 (eBioscience，目錄號17-2061-80)。

【0178】 結果，接受0.1mg/kg劑量的GI101之實驗組，相較於僅接受5mg/kg劑量的抗PD-1抗體之陽性對照組，表現出CD8+ T細胞顯著的增加(* $p < 0.05$ ，圖52及53)。此外，所有接受GI101之實驗組，相較於陰性對照組，在T細胞中IFN- γ 的表達位準方面表現出顯著的增加(* $p < 0.05$ ，圖52及53)。此外，接受0.1mg/kg劑量的GI101之實驗組，相較於陰性對照組及僅接受抗PD-1抗體之陽性對照組，表現出M1巨噬細胞增加(圖54及55)。此外，所有接受GI101之實驗組在巨噬細胞及樹狀細胞中CD86表達位準方面，均表現出增加(* $p < 0.05$ ，圖54至57)。

實驗例20，GI101在小鼠來源肺癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

實驗例20.1，腫瘤抑制作用的鑑定

【0179】讓從Orient Bio取得之C57BL/6小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，使 5×10^6 個LLC2癌細胞株(ATCC，USA)之細胞懸浮於0.1ml之PBS中，然後在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該懸浮液進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 50mm^3 至 200mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰性對照組不投與藥物，而對陽性對照組靜脈投與5mg/kg劑量的抗PD-1抗體或5mg/kg劑量的抗PD-1抗體及5mg/kg劑量的抗CTLA-4抗體。在實驗組方面，於其中靜脈投與0.1mg/kg或1mg/kg劑量的GI101。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。

【0180】結果，相較於陰性對照組，所有的實驗組均表現出顯著的腫瘤抑制作用(* $p < 0.05$) (圖58)。

實驗例20.2，癌組織中之免疫細胞分析

【0181】實驗例20.1中每一組的小鼠，當腫瘤體積長到平均 200mm^3 時，將其犧牲，並採集癌組織。之後，用與實驗例19.2相同的方法進行FACS分析，以分析癌組織中之免疫細胞。

【0182】結果，相較於僅接受抗PD-1抗體之陽性對照組，接受0.1mg/kg劑量的GI101之實驗組表現出CD8+ T細胞顯著的增加(* $p < 0.05$ ，圖59)。此外，相較於陰性對照組，所有接受GI101之實驗組均表現出IFN- γ 之表達位準顯著的增加(* $p < 0.05$ ，圖59)。此外，所有接受GI101之實驗組在巨噬細胞及樹狀細胞中CD86表達位準方面，均表現出增加(* $p < 0.05$ ，圖59至61)。

實驗例21，mGI102-M61在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0183】讓從Orient Bio取得之BALB/c小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，使 5×10^6 個CT-26癌細胞株(ATCC，USA)之細胞與0.05ml之Matrigel基

質無酚紅(BD)混合，然後在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 28mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰性對照組投與6mg/kg劑量的hIgG4。在實驗組方面，於其中靜脈投與3mg/kg、6mg/kg或12mg/kg劑量的mGI102-M61。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。

【0184】 結果鑑定出，相較於陰性對照組，接受12mg/kg劑量的mGI102-M61之組，在一些測量時間點及測試結束時表現出顯著的腫瘤生長抑制(圖62)。此外，測量存活率的結果鑑定出，相較於陰性對照組，接受12mg/kg劑量的mGI102-M61之實驗組，在一些測量時間點及測試結束時表現出顯著的改善(圖63)。

實驗例22，mGI101在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中k 抗癌作用的鑑定

【0185】 讓從Orient Bio取得之BALB/c小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，將 5×10^6 個CT-26癌細胞株(ATCC，USA)之細胞與0.05ml之Matrigel基質無酚紅(BD)混合，且在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 200mm^3 至 250mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。

【0186】 之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰性對照組投與4mg/kg劑量的hIgG4。在實驗組方面，於其中靜脈投與1mg/kg、4mg/kg或6mg/kg劑量的mGI101。此外，將接受4.9mg/kg的mCD80或2.8mg/kg的Fc-IL-2v (GI101C2)之組設定為對照組。此外，將同時接受4.9mg/kg的mCD80與2.8mg/kg的Fc-IL-2v (GI101C2)之組設定為對照組。

【0187】 在腫瘤體積測量方面鑑定出，相較於陰性對照組，接受6mg/kg劑

量的mGI101之組在一些測量時間點及測試結束時表現出顯著的抑制。相較於接受mCD80與Fc-IL-2v (GI101C2)的組合之組，觀察到優異的腫瘤生長抑制率(圖64及65)。

【0188】 結論，在CT-26 (BALB/c小鼠來源結直腸癌細胞株)同種異體移植BALB/c小鼠上之腫瘤生長抑制功效測試中，證實相較於mCD80及IL-2v單一製劑，測試物質mGI101在此測試條件下具有腫瘤抑制功效；及鑑定出相較於接受mCD80與IL-2v組合之組，mGI101表現出優異的抗癌功效(圖64及65)。特別是，相較於陰性對照組及接受mCD80與Fc-IL2v (GI101C2)組合之組，接受6mg/kg劑量的mGI101之組表現出顯著的腫瘤大小抑制。

V. 融合蛋白之毒性評估

實驗例23，使用猴子之GI101的毒性分析

實驗例23.1，猴子飼養及藥物投與

【0189】 在本實驗中，使用九隻2至3歲大的雄性菲律賓猴(食蟹猴)。此實驗依照日本的"Act on Welfare and Management of Animals"及Ina Research Inc之"Guidance for Animal Care and Use"進行。實驗計劃書經Ina Research Inc的動物試驗保護與使用委員會(IACUC)審視，之後經AAALAC International (Accredited Unit No. 001107)核准。

【0190】 該實驗從藥物投與前一天進行至藥物投與後15天。在籠子周圍觀察每一隻猴子，額外檢查大便狀態。使用數位秤(LDS-150H，Shimadzu Corporation)測量藥物投與前一天及藥物投與後第1天、第8天及第15天之體重。此外，測量從藥物投與前一天至犧牲猴子那天之食物的剩餘量。

【0191】 在此，於拋棄式注射筒(24G)中填充藥物GI101，透過靜脈途徑共投與二次，每一次投與以0.17ml/sec之速率進行。以周為間隔，給予5mg/kg/天或10mg/kg/天劑量的GI101兩次。對照組以相同方法投與PBS (pH 7.4)。

實驗例23.2，臨床觀察，體重及食物攝取量變化之鑑定

【0192】 從藥物投與前一天至藥物投與後第1天、第8天及第15天，進行臨床觀察及體重及食物攝取量變化之測量。結果，GI101沒有引起毒性(圖66至69)。

實驗例23.3，血液分析

【0193】 在藥物投與前一天及藥物投與後第1天、第8天及第15天，從實驗例23.1之猴子身上採血。在此，使用拋棄式注射筒(22G)透過股靜脈進行採血。使用Automated Hematology System XN-2000 (Sysmex Corporation)及Automated Blood Coagulation Analyzer CA-510 (Sysmex Corporation)對採集血液進行以下表2所列項目之血液分析。

[表2]

參數	編寫	單位	方法	設備
全血計數				
紅血球計數	RBC	10 ⁶ /μL	DC鞘流檢測	XN-2000
血紅素濃度	HGB	g/dL	SLS-血紅素	XN-2000
血球容積比	HCT	%	RBC脈高檢測	XN-2000
紅血球平均容量	MCV	fL	HCT/RBC (X10 ⁴ /μL)X 1000	XN-2000
紅血球平均血紅素	MCH	pg	HGB/RBC (X10 ⁴ /μL)X 1000	XN-2000
紅血球平均血紅素濃度	MCHC	g/dL	HGB/HCT X 100	XN-2000
網狀紅血球比率計數	RET % RET #	% 10 ⁹ /L	流式細胞分析技術	XN-2000
血小板計數	PLT	10 ³ /μL	流式細胞分析技術	XN-2000
白血球計數	WBC	10 ³ /μL	流式細胞分析技術	XN-2000
白血球分類 ^{a)} 比率計數	Diff WBC % Diff WBC #	% 10 ³ /μL	流式細胞分析技術	XN-2000
凝血試驗				
凝血酶原時間	PT	s	光散射檢測	CA-510
活化部分凝血激酶酶時間	APTT	s	光散射檢測	CA-510
^{a)} 嗜中性白血球(NEUT)、淋巴細胞(LYMPH)、單核球(MONO)、嗜酸性白血球(EO)及嗜鹼性白血球(BASO)				

【0194】 結果，接受5mg/kg/天或10mg/kg/天的GI101之組，在第15天表現出網狀紅血球、白血球及淋巴細胞數增加(圖70至72)。

實驗例23.4，臨床及化學分析

【0195】 在藥物投與前一天及藥物投與後第1天、第8天及第15天，從實驗例23.1之猴子身上採血。在此，使用與實驗例23.3中相同的方法採血。使用Clinical Analyzer Model 7180 (Hitachi High-Technologies Corporation)對採集血液進行以下表3所列項目之臨床及化學分析

[表3]

參數	縮寫	單位	方法
天門冬胺酸轉胺酶	AST	U/L	JSCC溯源性方法
丙胺酸轉胺酶	ALT	U/L	JSCC溯源性方法
鹼性磷酸酶	ALP	U/L	JSCC溯源性方法
乳酸去氫酶	LD	U/L	JSCC溯源性方法
肌酸激酶	CK	U/L	JSCC溯源性方法
葡萄糖	GLU	mg/dL	酵素(Gluc-DH)
總膽紅素	BIL	mg/dL	酵素(BOD)
尿素氮	UN	mg/dL	酵素(脲酶-LEDH)
肌酸酐	CRE	mg/dL	酵素
總膽固醇	CHO	mg/dL	酵素(膽固醇氧化酶)
三酸甘油酯	TG	mg/dL	酵素(GK-GPO游離甘油排除)
磷脂質	PL	mg/dL	酵素(膽鹼氧化酶)
無機磷	IP	mg/dL	酵素(麥芽糖磷酸化酶)
鈣	CA	mg/dL	OCPC
鈉	NA	mEq/L	離子選擇性電極
鉀	K	mEq/L	離子選擇性電極
氯化物	CL	mEq/L	離子選擇性電極
總蛋白	TP	g/dL	縮二脲
白蛋白	ALB	g/dL	BCG
白蛋白-球蛋白比	A/G	-	計算的
JSCC：日本臨床化學學會			

【0196】 結果，在臨床及化學分析中，沒有檢測到由GI101引起的毒性(圖73至79)。

實驗例21.5，細胞激素分析

【0197】 在藥物投與第一天及藥物投與後第1天、第8天及第15天，從實驗例23.1之猴子身上採血。在此，使用與實驗例23.3相同之方式進行採血。使用Bio-Plex 200 (Bio-Rad Laboratories, Inc.)儀器及非人靈長類細胞激素磁珠板(EMD

Millipore)分析套組，分析所採集的血液之TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10及IL-12。結果，在細胞激素分析方面，未檢測到由GI101引起的毒性(圖80及81)。

實驗例23.6，免疫細胞分析

【0198】 在藥物投與第一天及藥物投與後第1天、第8天及第15天，從實驗例23.1之猴子身上採血。在此，使用與實驗例23.3相同之方式進行採血。使用流式細胞儀(LSRFortessa X-20, Becton, Dickinson and Company)分析所採集的血液下列之項目：

- 1) Ki67 + CD4 : CD45+/CD3+/CD4+/Ki67+
- 2) Ki67 + CD8 : CD45+/CD3+/CD8+/Ki67+
- 3) Ki67 + Treg : CD45+/CD3+/FoxP3+/Ki67+
- 4) Ki67 + ICOS + Treg : CD45+/CD3+/FoxP3+/Ki67+/CD278+
- 5) ICOS + Treg : CD45+/CD3+/FoxP3+/CD278+
- 6) Ki67 + NK細胞 : CD45+/CD16+ and CD56+/Ki67+。

【0199】 結果，在免疫細胞分析方面，所有接受GI101之組，在第15天T細胞、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、調節性T細胞、NK細胞及Ki67+ T細胞、Ki67+ CD4+ T細胞、Ki67+ CD8+ T細胞、Ki67+調節性T細胞、Ki67+ ICOS+調節性T細胞、Ki67+ NK細胞、ICOS+調節性T細胞之數目均增加。

【0200】 具體地，在淋巴細胞中，T細胞、CD4+ T細胞、調節性T細胞之比例增加，NK細胞之比例減少，而CD8+ T細胞之比例沒有變化。調節性T細胞之比例在第3天增加，而在第8天及第15天減少。然而，比例仍高於對照組。

【0201】 此外，有關免疫細胞(其是Ki67+)在各自的免疫細胞中之比例，Ki67+ T細胞、Ki67+ CD4+ T細胞、Ki67+ CD8+ T細胞、Ki67+調節性T細胞、Ki67+ ICOS+調節性T細胞、Ki67+ NK細胞及ICOS+調節性T細胞之比例增加。

【0202】 此外，Ki67+ T細胞、Ki67+ CD8+ T細胞及Ki67+ NK細胞之比例在第3天、第8天及第15天增加；Ki67+ CD4+ T細胞及Ki67+調節性T之比例在第3天及第8天增加；及Ki67+ ICOS+調節性T細胞及ICOS+調節性T細胞僅在第8天增加(圖82至87)。

實驗例23.7，病理分析

【0203】 在第16天，犧牲實驗例23.1之猴子，並使用10%福馬林固定所有的器官與組織。然而，使用福馬林-蔗糖-乙酸(FSA)溶液固定睪丸，而使用1%甲醛-2.5%戊二醛的磷酸鹽緩衝液固定眼睛及視神經。對以下表4中所列的項目中之器官及組織上進行蘇木精-伊紅染色，並在光學顯微鏡下觀察。

[表4]

器官/組織	固定	器官重量	檢體製備	
			HE染色	注釋
心臟	O	O	-	左心室乳頭肌、右心室壁及包括冠狀動脈和主動脈瓣的區域
主動脈(胸部)	O	-		
胸骨	O	-		脫鈣
胸骨骨髓		-		
股骨	O (R&L)	-		遠端關節軟骨和軸；脫鈣
股骨髓	O (R)	-		脫鈣
胸腺	O	O	O	
脾	O	O	O	
頷下淋巴結	O	-	O	
腸繫膜淋巴結	O	-	O	
氣管	O	-		脫鈣
支氣管	O (R&L)	O (R&L分開的)	-	左前和右後葉
肺				
舌	O	-		
頷下腺	O (R&L)	O (R&L結合的)		
腮腺	O (R&L)	-		
食道	O	-		
胃	O	-		賁門、本體及幽門
十二指腸	O	-		
空腸	O	-		
迴腸	O	-		
培氏斑				
盲腸	O	-		
結腸	O	-		
直腸	O	-		
肝	O	O (膽汁排出的膽囊)	O	左外側葉和右內側葉(包括膽囊)
膽囊			O	
胰臟	O	O	-	
腎臟	O (R&L)	O (R&L分開的)	O (R&L)	
膀胱	O	-		
腦下垂體	O	O		

器官/組織	固定	器官重量	檢體製備	
			HE染色	注釋
甲狀腺	O (R&L)	O (R&L分開的)		
副甲狀腺				
腎上腺	O (R&L)	O (R&L分開的)		
睪丸	O (R&L)	O (R&L分開的)		
附睪	O (R&L)	O (R&L分開的)		
前列腺	O	O		
精囊	O	O	-	
腦	O	O	-	大腦(額葉、頂葉(包括基底神經節及海馬迴)及枕葉)；小腦；橋腦；及延腦
脊髓(胸部)	O	-		
坐骨神經	O (L)	-		
眼睛	O (R&L)	-		
視神經	O (R&L)	-		
淚腺	O (R&L)	-		
骨骼肌(股二頭肌)	O (L)	-		
皮膚(胸部)	O	-		
注射位置 (尾靜脈)	O	-		脫鈣
胸部或股骨內側區域編號的皮膚	O	-	-	
O：有進行 -：沒進行 R&L：左右器官/組織均進行。 L：進行右或左器官/組織之一 (通常是左邊)。 R：進行右或左器官/組織之一 (通常是右邊)。				

【0204】 結果，用5mg/kg/天或10mg/kg/天劑量的GI101處理之組表現出脾重量增加(圖88)。在其它組織中沒有觀察到顯著的變化。結論，在接受GI101之組中，有觀察到一些變化，但沒觀察到毒性。

VI. 實驗例24，用於鑑定GI102之抗癌作用。GI102-M45之抗癌作用的鑑定
實驗例24.1，GI102-M45於小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0205】 使 5x10⁶ 細胞 /0.05ml 之小鼠來源 CT-26 癌細胞株與 0.05ml 之 Matrigel 基質無酚紅(BD)混合，然後在6周大雌性BALB/c小鼠(Orient Bio)之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，分離達到約80mm³至120mm³之受試者。然後於該受試者中靜脈投與0.1ml之GI102-M45。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次，及對陰性對照組給予PBS。每天測量腫瘤大小以鑑定抗癌作用。用與實驗例16中相同的方法鑑定GI102-M45之活性。

實驗例24.2，GI102-M45在小鼠肺癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0206】讓從Orient Bio取得之C57BL/6小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，將 5×10^6 個LLC2癌細胞株(ATCC，USA)之細胞懸浮於0.1ml之PBS中，且在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該懸浮液進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 50mm^3 至 200mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰性對照組不投與藥物，而對陽性對照組靜脈投與5mg/kg劑量的抗PD-1抗體或5mg/kg劑量的抗PD-1抗體及5mg/kg劑量的抗CTLA-4抗體。在實驗組方面，於其中靜脈投與0.1mg/kg或1mg/kg劑量的GI102-M45。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。用與實驗例20.1中相同的方法鑑定GI102-M45之活性。

實驗例25，GI102-M61之抗癌作用的鑑定

實驗例25.1，GI102-M61在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0207】使 5×10^6 細胞/0.05ml之小鼠來源CT-26癌細胞株與0.05ml之Matrigel基質無酚紅(BD)混合，且在6周大雌性BALB/c小鼠(Orient Bio)之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，分離達到約 80mm^3 至 120mm^3 之受試者。然後於該受試者中靜脈投與0.1ml之GI102-M61。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次，及對陰性對照組給予PBS。每天測量腫瘤大小以鑑定抗癌作用。用與實驗例16中相同的方法鑑定GI102-M61之活性。

實驗例25.2，GI102-M61在小鼠來源肺癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0208】讓從Orient Bio取得之C57BL/6小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，使 5×10^6 個LLC2癌細胞株(ATCC，USA)之細胞懸浮於0.1ml之PBS中，在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該懸浮液進行同種異體移植。在癌細胞移植後

之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 50mm^3 至 200mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。之後，使用拋棄式注射器(31G，1 mL)，對陰性對照組不投與藥物，而對陽性對照組靜脈投與5mg/kg劑量的抗PD-1抗體或5mg/kg劑量的抗PD-1抗體及5mg/kg劑量的抗CTLA-4抗體。在實驗組方面，於其中靜脈投與0.1mg/kg或1mg/kg劑量的GI102-M61。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。用與實驗例20.1中相同的方法鑑定GI102-M61之活性。

實驗例26，GI102-M72之抗癌作用的鑑定

實驗例26.1，GI102-M72在小鼠來源結直腸癌細胞移植小鼠中之抗腫瘤作用的鑑定

【0209】使 5×10^6 細胞/0.05ml之小鼠來源CT-26癌細胞株(ATCC, USA)與0.05ml之Matrigel基質無酚紅(BD)混合，且在6周大雌性BALB/c小鼠(Orient Bio)之右背區皮下投與0.1ml之該混合物進行移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，分離達到約 80mm^3 至 120mm^3 之受試者。然後於該受試者中靜脈投與0.1ml之GI102-M72。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次，及對陰性對照組給予PBS。每天測量腫瘤大小以鑑定抗癌作用。用與實驗例16中相同的方法鑑定GI102-M72之活性。

實驗例26.2，GI102-M72在小鼠肺癌細胞移植小鼠中之抗癌作用的鑑定

【0210】讓從Orient Bio取得之C57BL/6小鼠(雌性，7周大)接受7天的適應期。然後，將 5×10^6 個LLC2癌細胞株(ATCC，USA)之細胞懸浮於0.1ml之PBS中，在小鼠之右背區皮下投與0.1ml之該懸浮液進行同種異體移植。在癌細胞移植後之特定時間測量腫瘤體積，並選擇達到約 50mm^3 至 200mm^3 之受試者，然後依據腫瘤大小及體重將選定的小鼠平均分組，每一組有10隻小鼠。之後，使用拋棄式注射器(31G，1mL)，對陰性對照組不投與藥物，而對陽性對照組靜脈投與

5mg/kg劑量的抗PD-1抗體或5mg/kg劑量的抗PD-1抗體及5mg/kg劑量的抗CTLA-4抗體。在實驗組方面，於其中靜脈投與0.1mg/kg或1mg/kg劑量的GI102-M72。在第一次投與後，每三天給予一次，共投與三次。每天測量腫瘤大小。用與實驗例20.1中相同的方法鑑定GI102-M72之活性。

序列表

<110> 南韓商GI創新股份有限公司 (GI INNOVATION, INC.)

<120> 包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白及其用途

<130> TW 108133398

<150> KR 10-2018-0110698

<151> 2018-09-17

<150> KR 10-2019-0001867

<151> 2019-01-07

<150> US 62/832013

<151> 2019-04-10

<150> KR 10-2019-0053436

<151> 2019-05-08

<160> 37

<170> KopatentIn 3.0

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 訊息肽(TPA)

<400> 1

Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala
20 25

<210> 2

<211> 208

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hB7-1:35-242

<400> 2
Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

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

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 3
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈

<400> 3
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Ala Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

<210> 4
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 免疫球蛋白fc

<400> 4
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

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

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
210 215

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 5
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 6
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hIL-2M

<400> 6
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 7
<211> 617
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含IL-2之變異體及CD80之片段的融合蛋白

<400> 7
Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala Val Ile His Val Thr Lys Glu
20 25 30

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

Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp Gln Lys Glu Lys Lys Met Val
50 55 60

Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn
65 70 75 80

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

Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr
100 105 110

Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser
115 120 125

Val	Lys	Ala	Asp	Phe	Pro	Thr	Pro	Ser	Ile	Ser	Asp	Phe	Glu	Ile	Pro
130						135					140				
Thr	Ser	Asn	Ile	Arg	Arg	Ile	Ile	Cys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Phe	Pro
145					150					155					160
Glu	Pro	His	Leu	Ser	Trp	Leu	Glu	Asn	Gly	Glu	Glu	Leu	Asn	Ala	Ile
			165					170					175		
Asn	Thr	Thr	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu	Thr	Glu	Leu	Tyr	Ala	Val	Ser
			180					185					190		
Ser	Lys	Leu	Asp	Phe	Asn	Met	Thr	Thr	Asn	His	Ser	Phe	Met	Cys	Leu
	195						200					205			
Ile	Lys	Tyr	Gly	His	Leu	Arg	Val	Asn	Gln	Thr	Phe	Asn	Trp	Asn	Thr
210						215					220				
Thr	Lys	Gln	Glu	His	Phe	Pro	Asp	Asn	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly
				245					250					255	
Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			260					265						270	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
		275					280					285			
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro
	290					295						300			
Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
305					310					315					320
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
				325					330					335	
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
			340					345					350		
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr
	355						360					365			
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
	370					375					380				
Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
385					390					395					400

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
405 410 415

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
420 425 430

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
435 440 445

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala
450 455 460

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Gly
465 470 475 480

Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
485 490 495

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
500 505 510

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe
515 520 525

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
530 535 540

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
545 550 555 560

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
565 570 575

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
580 585 590

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
595 600 605

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
610 615

<210> 8
<211> 1857
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼融合蛋白(GI101)之核苷酸

<400> 8

atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg	60
tctcctttctc acgctgtgat ccacgtgacc aaagaagtga aagaggtcgc cacactgtcc	120
tgcggccaca acgtttcagt ggaagaactg gcccagacca ggatctactg gcagaaagaa	180
aagaaaatgg tgctgaccat gatgtccggc gacatgaaca tctggcctga gtacaagaac	240
cggaccatct tcgacatcac caacaacctg tccatcgtga ttctggccct gaggccttct	300
gatgagggca cctatgagtg cgttgttctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag	360
cacctggctg aagtgacact gtccgtgaag gccgactttc ccacaccttc catctccgac	420
ttcgagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggctttcct	480
gagcctcacc tgtcttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg	540
tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgct gtgtcctcca agctggactt caacatgacc	600
accaaccaca gcttcatgtg cctgattaag tacggccacc tgagagtga ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tccttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcgga cctctctgtt tcctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacacc gaagtgcct gcgtgggtgt ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gttcaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgtc cgtgctgacc	1020
gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgtc caacaagggc	1080
ctgccttcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaaccccag	1140
gtttacacc tgccccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgtc cctgacctgc	1200
ctggtcaagg gcttctaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa tggccagcct	1260
gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac	1320
tctgcctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc ctgctctgtg	1380

ctgcacgagg cctgcacaa tcactacacc cagaagtcctc tctctctgtc tcttggaggt 1440

ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa cccagctcca gttggagcat 1500

ctgctgctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg 1560

accgccatgc tgaccgctaa gttctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc 1620

cagtgcctgg aagaagaact gaagcccctg gaagaggtgc tgaatctggc ccagtccaag 1680

aacttcacc tgaggccacg ggacctgac agcaacatca acgtgatcgt gctggaactg 1740

aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa 1800

tttctgaacc ggtggatcac cttctgccag agcatcatct ccacactgac ctgatga 1857

<210> 9

<211> 592

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 融合蛋白(GI101)

<400> 9

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	His	Leu	Ser	Trp	Leu	Glu	Asn	
130						135					140					
Gly	Glu	Glu	Leu	Asn	Ala	Ile	Asn	Thr	Thr	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu	
145					150					155					160	
Thr	Glu	Leu	Tyr	Ala	Val	Ser	Ser	Lys	Leu	Asp	Phe	Asn	Met	Thr	Thr	
				165					170					175		
Asn	His	Ser	Phe	Met	Cys	Leu	Ile	Lys	Tyr	Gly	His	Leu	Arg	Val	Asn	
			180					185					190			
Gln	Thr	Phe	Asn	Trp	Asn	Thr	Thr	Lys	Gln	Glu	His	Phe	Pro	Asp	Asn	
	195						200					205				
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
210						215					220					
Ser	Ala	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	
225					230					235					240	
Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	
				245					250					255		
Asp	Gln	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	
		260						265					270			
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	
	275						280					285				
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	
290						295					300					
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	
305					310					315					320	
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	
				325					330					335		
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	
			340					345					350			
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	
	355						360					365				
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	
370						375					380					
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	

385390395400

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

405410415

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

420425430

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

435440445

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser

450455460

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu

465470475480

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr

485490495

Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu

500505510

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val

515520525

Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu

530535540

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr

545550555560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe

565570575

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

580585590

<210>10

<211>133

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>hIL-2

<400>10
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
202530

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
354045

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
505560

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65707580

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
859095

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100105110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115120125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210>11
<211>288
<212>PRT
<213>人工序列

<220>
<223>CD80

<400>11
Met Gly His Thr Arg Arg Gln Gly Thr Ser Pro Ser Lys Cys Pro Tyr
151015

Leu Asn Phe Phe Gln Leu Leu Val Leu Ala Gly Leu Ser His Phe Cys
202530

Ser Gly Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu
354045

Ser Cys Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile
505560

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

- <210> 12
- <211> 215
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 修飾的Fc

<400> 12
Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
1 5 10 15

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
20 25 30

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
35 40 45

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
50 55 60

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
65 70 75 80

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
85 90 95

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
100 105 110

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
115 120 125

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
130 135 140

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
145 150 155 160

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
165 170 175

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
180 185 190

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
195 200 205

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

<210> 13

<211> 306
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> mCD80

<400> 13
Met Ala Cys Asn Cys Gln Leu Met Gln Asp Thr Pro Leu Leu Lys Phe
1 5 10 15

Pro Cys Pro Arg Leu Ile Leu Leu Phe Val Leu Leu Ile Arg Leu Ser
20 25 30

Gln Val Ser Ser Asp Val Asp Glu Gln Leu Ser Lys Ser Val Lys Asp
35 40 45

Lys Val Leu Leu Pro Cys Arg Tyr Asn Ser Pro His Glu Asp Glu Ser
50 55 60

Glu Asp Arg Ile Tyr Trp Gln Lys His Asp Lys Val Val Leu Ser Val
65 70 75 80

Ile Ala Gly Lys Leu Lys Val Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Leu
85 90 95

Tyr Asp Asn Thr Thr Tyr Ser Leu Ile Ile Leu Gly Leu Val Leu Ser
100 105 110

Asp Arg Gly Thr Tyr Ser Cys Val Val Gln Lys Lys Glu Arg Gly Thr
115 120 125

Tyr Glu Val Lys His Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser Ile Lys Ala Asp
130 135 140

Phe Ser Thr Pro Asn Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro Ser Ala Asp Thr
145 150 155 160

Lys Arg Ile Thr Cys Phe Ala Ser Gly Gly Phe Pro Lys Pro Arg Phe
165 170 175

Ser Trp Leu Glu Asn Gly Arg Glu Leu Pro Gly Ile Asn Thr Thr Ile
180 185 190

Ser Gln Asp Pro Glu Ser Glu Leu Tyr Thr Ile Ser Ser Gln Leu Asp
195 200 205

Phe Asn Thr Thr Arg Asn His Thr Ile Lys Cys Leu Ile Lys Tyr Gly
210 215 220

Asp Ala His Val Ser Glu Asp Phe Thr Trp Glu Lys Pro Pro Glu Asp
225 230 235 240

Pro Pro Asp Ser Lys Asn Thr Leu Val Leu Phe Gly Ala Gly Phe Gly
245 250 255

Ala Val Ile Thr Val Val Val Ile Val Val Ile Ile Lys Cys Phe Cys
260 265 270

Lys His Arg Ser Cys Phe Arg Arg Asn Glu Ala Ser Arg Glu Thr Asn
275 280 285

Asn Ser Leu Thr Phe Gly Pro Glu Glu Ala Leu Ala Glu Gln Thr Val
290 295 300

Phe Leu
305

<210> 14
<211> 1848
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白(mGI101)之核苷酸

<400> 14
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg 60

tctccttctc acgctgtgga cgagcagctc tccaagtccg tgaaggataa ggtcctgctg 120

ccttgccggt acaactctcc tcacgaggac gagtctgagg accggatcta ctggcagaaa 180

cacgacaagg tgggtctgtc cgtgatcgcc ggaaagctga aagtgtggcc tgagtacaag 240

aacaggaccc tgtacgacaa caccacctac agcctgatca tcttgggcct cgtgctgagc 300

gatagaggca cctattcttg cgtggtgcag aagaaagagc ggggcaccta cgaagtgaag 360

cacctggctc tggtaagct gtccatcaag gccgacttca gcaccctaa catcaccgag 420

tctggcaacc ctccgccga caccaagaga atcacctggt tcgcctctgg cggttcctt 480

aagcctcgggt tctcttggct ggaaaacggc agagagctgc ccggcatcaa taccaccatt 540

tctcaggacc cagagtccga gctgtacacc atctccagcc agctcgactt taacaccacc 600

agaaaccaca ccatcaagtg cctgattaag tacggcgacg cccacgtgtc cgaggacttt 660

acttgggaga aacctcctga ggacctcct gactctggat ctggcggcgg aggttctggc 720

ggaggtggaa gcggaggcgg aggatctgct gagtctaagt atggccctcc ttgtcctcca 780

tgtctgtctc cagaagctgc tggcggaccc tctgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag 840

gaccagctca tgatctctcg gacctctgaa gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtctcaa 900

gaggaccctg aggtgcagtt caattggtac gtggacggcg tggaaagtga caacgccaag 960

accaagccta gagaggaaca gttcaactcc acctatagag tggtgtccgt gctgaccgtg 1020

ctgcaccagg attggctgaa cggcaaagag tacaagtga aggtgtccaa caagggcctg 1080

ccttcagca tcgaaaagac catcagcaag gctaagggcc agcctaggga accccaggtt 1140

tacacctgc ctccaagcca agaggaaatg accaagaacc aggtgtccct gacctgctg 1200

gtcaagggt tctacccttc cgacattgcc gtggaatggg agtccaatgg ccagcctgag 1260

aacaactaca agaccacacc tctgtgtctg gactccgacg gctccttctt tctgtactct 1320

cgcctgaccg tggacaagtc taggtggcaa gagggcaacg tgttctcctg ctctgtgtctg 1380

cacgaggctc tgcacaacca ctacaccag aagtccctgt ctctgtctct tggaggtggt 1440

ggcggttctg cccctacctc cagctctacc aagaaaacce agctccagtt ggagcatctg 1500

ctgtctggacc tccagatgat cctgaatggc atcaacaatt acaagaacce caagctgacc 1560

gccatgctga ccgctaagtt ctacatgccc aagaaggcca ccgagctgaa gcacttgca 1620

tgcttgaag aggaactgaa gcccctggaa gaagtgtga atctggcca gtccaagaac 1680

ttccacctga ggcctaggga cctgatctcc aacatcaacg tgatcgtgct ggaactgaaa 1740

ggctccgaga caaccttcat gtgcgagtac gccgacgaga cagccaccat cgtggaattt 1800

ctgaaccggt ggatcacctt ctgccagagc atcatctcca cactgacc 1848

<210> 15
<211> 616
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白(mGI101)

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

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

515

520

525

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu
530 535 540

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn
545 550 555 560

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val
565 570 575

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp
580 585 590

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys
595 600 605

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
610 615

<210> 16
<211> 1437
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白(GI101C1)之核苷酸

<400> 16
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg 60

tctcctttctc acgctgtgat ccacgtgacc aaagaagtga aagaggtcgc cacactgtcc 120

tgcggccaca acgtttcagt ggaagaactg gcccagacca ggatctactg gcagaaagaa 180

aagaaaatgg tgctgaccat gatgtccggc gacatgaaca tctggcctga gtacaagaac 240

cggaccatct tcgacatcac caacaacctg tccatcgtga ttctggccct gaggccttct 300

gatgagggca cctatgagtg cgtgggtgctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag 360

cacctggctg aagtgacact gtccgtgaag gccgactttc ccacaccttc catctccgac 420

ttcgagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggttttct 480

gagcctcacc tgtctttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg 540

tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgct gtgtcctcca agctggactt caacatgacc 600

accaaccaca gcttcatgtg cctgattaa g tacggccacc tgagagtga ccagaccttc 660

aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct 720

ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tccitgtcct 780

ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcgga cctctgtgt tctgtttcc tccaaagcct 840

aaggaccagc tcatgatctc tcggacaccc gaagtgcctt gcgtgggtgt ggatgtgtct 900

caagaggacc ctgagggtgca gtccaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc 960

aagaccaagc ctagagagga acagtccaac tccacctaca gagtgggtgtc cgtgtgtgacc 1020

gtgtgtgacc aggatgtgct gaacggcaaa gactacaagt gcaagggtgtc caacaagggc 1080

ctgccttcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaaccccag 1140

gtttacacc tgccccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgtc cctgacctgc 1200

ctggtcaagg gcttctaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa tggccagcct 1260

gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac 1320

tctcgctga ccgtggacaa gtctaggtgg caagagggca acgtgttctc ctgtctgtg 1380

ctgcacgagg ccttcacaaa tcaactacacc cagaagtccc tgtctctgtc cctgggc 1437

<210> 17

<211> 454

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 融合蛋白(GI101C1)

<400> 17

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

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

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
325 330 335

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

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

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

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
450

<210> 18
<211> 1176
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白(GI101C2)之核苷酸

<400> 18
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg 60

tctccatctc acgccgctga gtctaagtac ggccctcctt gtccctccatg tcttgcctca 120

gaagctgctg gcggaccctc tgtgttcctg ttctctccaa agcctaagga ccagctcatg 180

atctctcgga cccctgaagt gacctgcgtg gtggtggatg tgtctcaaga ggaccctgag 240

gtgcagttca attggtacgt ggacggcgtg gaagtgcaca acgccaagac caagcctaga 300

gaggaacagt tcaactccac ctacagagtg gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat 360

tggtgaacg gcaaagagta caagtgcaag gtgtccaaca agggcctgcc ttccagcatc 420

gaaaagacca tctccaaggc taagggccag cctagggaac cccaggttta caccctgcct 480

ccaagccaag aggaaatgac caagaaccag gtgtccctga cctgcctggt caagggttc 540

tacccttccg acattgccgt ggaatgggag tccaatggcc agcctgagaa caactacaag 600

accacacctc ctgtgctgga ctccgacggc tccttctttc tgtactctcg cctgaccgtg 660

gacaagtcta ggtggcaaga gggcaacgtg ttctcctgct ctgtgctgca cgaggccctg 720

cacaatcact acaccagaa gtccctgtct ctgtctcttg gcggaggcgg aggatctgct 780

cctacctcca gctccaccaa gaaaaccag ctccagttgg agcatctgct gctggacctc 840

cagatgatcc tgaatggcat caacaattac aagaacccca agctgaccgc catgctgacc 900

gctaagttct acatgcccaa gaaggccacc gagctgaagc acctccagtg cctggaagag 960

gaactgaagc ccctggaaga agtgctgaat ctggcccagt ccaagaactt ccacctgagg 1020

cctagggacc tgatctccaa catcaacgtg atcgtgctgg aactgaaagg ctccgagaca 1080

accttcatgt gcgagtacgc cgacgagaca gccaccatcg tggaatttct gaaccggtgg 1140

atcaccttct gccagtcct catctccaca ctgacc 1176

<210> 19

<211> 367

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 融合蛋白(GI101C2)

<400> 19

Ala Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

1 5 10 15

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

20 25 30

Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

35 40 45

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

50 55 60

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

325

330

335

Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu

340345350

Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

355360365

<210>20

<211>1434

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<223>編碼融合蛋白(mGI101C1)之核苷酸

<400>20

atgggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg60

tctccttctc acgctgtgga cgagcagctc tccaagtccg tgaaggataa ggtcctgctg120

ccttgccggt acaactctcc tcacgaggac gagtctgagg accggatcta ctggcagaaa180

cacgacaagg tgggtgctgtc cgtgatcgcc ggaaagctga aagtgtggcc tgagtacaag240

aacaggaccc tgtacgacaa caccacctac agcctgatca tcctgggcct cgtgctgagc300

gatagaggca cctattcttg cgtgggtcag aagaaagagc ggggcaccta cgaagtgaag360

cacctggctc tgggtcaagct gtccatcaag gccgacttca gcacccctaa cateaccgag420

tctggcaacc ctccgccga caccaagaga atcacctggt tcgcctctgg cggttcctc480

aagcctcggg tctcttggct ggaaaacggc agagagctgc ccggcatcaa taccaccatt540

tctcaggacc cagagtcgga gctgtacacc atctccagcc agctcgactt taacaccacc600

agaaaccaca ccatcaagtg cctgattaag tacggcgacg cccacgtgtc cgaggacttt660

acttgggaga aacctcctga ggacctcct gactctggat ctggcggcgg aggttctggc720

ggagggtgga gcggaggcgg aggatctgct gagtctaagt atggccctcc ttgtcctcca780

tgtcctgctc cagaagctgc tggcggaccc tctgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag840

gaccagctca tgatctctcg gaccttgaa gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtctcaa900

gaggaccctg aggtgcagtt caattggtac gtggacggcg tggaaagtga caacgccaaag 960

accaagccta gagaggaaca gtccaactcc acctatagag tgggtgtccgt gctgaccctg 1020

ctgcaccagg attggctgaa cggcaaagag tacaagtga aggtgtccaa caagggcctg 1080

ccttcagca tcgaaaagac catcagcaag gctaagggcc agcctaggga accccaggtt 1140

tacaccctgc ctccaagcca agaggaaatg accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg 1200

gtcaagggct tctacccttc cgacattgcc gtggaatggg agtccaatgg ccagcctgag 1260

aacaactaca agaccacacc tctgtgtctg gactccgacg gctccttctt tctgtactct 1320

cgctgaccg tggacaagtc taggtggcaa gagggcaacg tgttctcctg ctctgtgctg 1380

cacgaggctc tgcacaacca ctacaccag aagtccctgt ctctgtccct gggc 1434

<210> 21

<211> 478

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 融合蛋白(mGI101C1)

<400> 21

Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala Val Asp Glu Gln Leu Ser Lys

20 25 30

Ser Val Lys Asp Lys Val Leu Leu Pro Cys Arg Tyr Asn Ser Pro His

35 40 45

Glu Asp Glu Ser Glu Asp Arg Ile Tyr Trp Gln Lys His Asp Lys Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Arg Thr Leu Tyr Asp Asn Thr Thr Tyr Ser Leu Ile Ile Leu Gly

85 90 95

Leu Val Leu Ser Asp Arg Gly Thr Tyr Ser Cys Val Val Gln Lys Lys

100 105 110

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

370

375

380

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

385390395400

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

405410415

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

420425430

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

435440445

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

450455460

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

465470475

<210>22

<211>133

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>IL-2之變異體(3M, M45)

<400>22

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

151015

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

202530

Asn Pro Lys Leu Thr Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys

354045

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

505560

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65707580

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

859095

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 23

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-2之變異體(3M, M61)

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Arg Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 24

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-2之變異體(3M, M72)

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 25

<211> 1851

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼融合蛋白(GI102-M45)之核苷酸

<400> 25

atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg 60

tctccttctc acgctgtgat ccacgtgacc aaagaagtga aagaggtcgc cacactgtcc 120

tgcggccaca acgtttcagt ggaagaactg gcccagacca ggatctactg gcagaaagaa 180

aagaaaatgg tgctgaccat gatgtccggc gacatgaaca tctggcctga gtacaagaac	240
cggaccatct tgcacatcac caacaacctg tccatcgtga ttctggccct gaggccttct	300
gatgagggca cctatgagtg cgtgggtgctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag	360
cacctggctg aagtgacact gtccgtgaag gccgactttc ccacaccttc catctccgac	420
ttcgagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggttttctt	480
gagcctcacc tgtcttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg	540
tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgct gtgtcctcca agctggactt caacatgacc	600
accaaccaca gtttcatgtg cctgattaag tacggccacc tgagagtga ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcatttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tcttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcgga cctcttgtt tctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacaccc gaagtgcctt gcgtgggtgtt ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gttcaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgtc cgtgctgacc	1020
gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgtc caacaagggc	1080
ctgccttcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaaccccag	1140
gtttacaccc tgccccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgtc cctgacctgc	1200
ctggtaagg gtttctacce ttccgacatt gccgtggaat gggagtcca tggccagcct	1260
gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac	1320
tctgcctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc ctgctctgtg	1380
ctgcacgagg ccctgcacaa tctactaccc cagaagtccc tgtctctgtc tcttgagggt	1440
ggtggcgggt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa cccagctcca gttggagcat	1500
ctgctgctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa ccccaagctg	1560
accgcatgc tgaccgctaa gttcgccatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc	1620
cagtgcctgg aagaagaact gaagcccctg gaagagggtgc tgaatctggc ccagtccaag	1680

aacttcacc tgaggccacg ggacctgac agcaacatca acgtgatcgt gctggaactg 1740

aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa 1800

tttctgaacc ggtggatcac cttctgccag agcatcatct ccacactgac c 1851

<210> 26

<211> 592

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 融合蛋白(GI102-M45)

<400> 26

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

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

435

440

445

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser

450455460

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu

465470475480

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr

485490495

Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu

500505510

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val

515520525

Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu

530535540

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr

545550555560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe

565570575

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

580585590

<210>27

<211>1851

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<223>編碼融合蛋白(GI102-M61)-之核苷酸

<400>27

atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg60

tctccttctc acgctgtgat ccacgtgacc aaagaagtga aagaggtcgc cacactgtcc120

tgcggccaca acgtttcagt ggaagaactg gcccagacca ggatctactg gcagaaagaa180

aagaaaatgg tgctgaccat gatgtccggc gacatgaaca tctggcctga gtacaagaac240

cggaccatct tcgacatcac caacaacctg tccatcgtga ttctggccct gaggccttct	300
gatgagggca cctatgagtg cgtgggtctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag	360
cacctggctg aagtgacact gtccgtgaag gccgactttc ccacaccttc catctccgac	420
ttcgagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggctttcct	480
gagcctcacc tgtcttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg	540
tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgt gtgtcctcca agctggactt caacatgacc	600
accaaccaca gcttcatgtg cctgattaag tacggccacc tgagagtga ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tccttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcggg cctctgtgtt tcctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacacct gaagtgcct gcgtgggtgtt ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gtccaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgtc cgtgtctgacc	1020
gtgtctgacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgtc caacaagggc	1080
ctgccttcca gcatcgaaaa gacctctcc aaggctaagg gccagcctag ggaaccccag	1140
gtttacacct tgccccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgtc cctgacctgc	1200
ctggtcaagg gcttctacct ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa tggccagcct	1260
gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac	1320
tctgcctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc ctgctctgtg	1380
ctgcacgagg ccctgcacaa tctactacacc cagaagtccc tgtctctgtc tcttggaggt	1440
ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat	1500
ctgtctctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg	1560
accgccatgc tgaccgctaa gttctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc	1620
cagtgcctgg aaagggaact gaagcccctg gaagagggtgc tgaatctggc ccagtccaag	1680
aacttcacc tgaggccacg ggacctgatc agcaacatca acgtgatcgt gctggaactg	1740

aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa1800

tttctgaacc ggtggatcac cttctgccag agcatcatct ccacactgac c1851

<210>28

<211>592

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>融合蛋白(GI102-M61)

<400>28

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

151015

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

202530

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

354045

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

505560

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65707580

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

859095

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100105110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115120125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130135140

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

145150155160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165170175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180185190

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

450	455	460
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu		
465	470	475 480
Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr		
	485	490 495
Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu		
	500	505 510
Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Arg Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val		
	515	520 525
Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu		
	530	535 540
Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr		
545	550	555 560
Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe		
	565	570 575
Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		
	580	585 590

<210> 29
<211> 1857
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白(GI102-M72)之核苷酸

<400> 29	
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg	60
tctcctttctc acgctgtgat ccacgtgacc aaagaagtga aagaggtcgc cacactgtcc	120
tgcggccaca acgtttcagt ggaagaactg gcccagacca ggaatctactg gcagaaagaa	180
aagaaaatgg tgctgaccat gatgtccggc gacatgaaca tctggcctga gtacaagaac	240
cggaccatct tegacatcac caacaacctg tccatcgtga ttctggccct gaggccttct	300
gatgagggca cctatgagtg cgtgggtgctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag	360

cacctggctg aagtgacact gtccgtgaag gccgactttc ccacaccttc catctccgac	420
ttcgagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggttttctt	480
gagcctcacc tgtcttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg	540
tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgtt gtgtcctcca agctggactt caacatgacc	600
accaaccaca gtctcatgtg cctgattaa gtagagtgaa ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tcttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcgga cctctgtgtt tctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacaccc gaagtgcctt gcgtgggtgtt ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gtccaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgtc cgtgtgacc	1020
gtgtgtcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgtc caacaagggc	1080
ctgccttcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaaccccag	1140
gtttacacc tgccccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgtc cctgacctgc	1200
ctggtcaagg gctttaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa tggccagcct	1260
gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac	1320
tctcgctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc ctgtctgtg	1380
ctgcacgagg cctgcacaa tctactacacc cagaagtccc tgtctctgtc tcttgagggt	1440
ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat	1500
ctgtgtctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg	1560
accgccatgc tgaccgctaa gtctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc	1620
cagtgcctgg aagaagaact gaagccctg gaagagggtc tgaatggggc ccagtccaag	1680
aacttcacc tgaggccacg ggacctgac agcaacatca acgtgatcgt gctggaactg	1740
aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa	1800
ttctgaacc ggtggatcac ctctgcccag agcatcatct ccacactgac ctgatga	1857

<210> 30
<211> 592
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白(GI102-M72)

<400> 30
Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

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

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

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

465	470	475	480
Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr			
485	490	495	
Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu			
500	505	510	
Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val			
515	520	525	
Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu			
530	535	540	
Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr			
545	550	555	560
Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe			
565	570	575	
Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr			
580	585	590	

<210> 31
<211> 1851
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白(GI101w)之核苷酸

<400> 31	
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg	60
tctccttctc acgctgtgat ccacgtgacc aaagaagtga aagaggtcgc cacactgtcc	120
tgcggccaca acgtttcagt ggaagaactg gcccagacca ggatctactg gcagaaagaa	180
aagaaaatgg tgctgaccat gatgtccggc gacatgaaca tctggcctga gtacaagaac	240
cggaccatct tcgacatcac caacaacctg tccatcgtga ttctggccct gaggccttct	300
gatgagggca cctatgagtg cgtggtgctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag	360
cacctggctg aagtgacact gtccgtgaag gccgacttcc ccacaccttc catctccgac	420

ttcgagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggctttcct	480
gagcctcacc tgtcttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg	540
tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgt gtgtcctcca agctggactt caacatgacc	600
accaaccaca gcttcatgtg cctgattaag tacggccacc tgagagtga ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tcttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcggg cctctgtgt tctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacacc gaagtgcct gcgtgggtgt ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gttcaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgt cgtgtgacc	1020
gtgtgtcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgt caacaagggc	1080
ctgccttcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaacccag	1140
gtttacacc tgctccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgt cctgacctgc	1200
ctggtcaagg gcttctaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa tggccagcct	1260
gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac	1320
tctgcctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc ctgctctgtg	1380
ctgcacgagg ccctgcacaa tctactacacc cagaagtccc tgtctctgtc tcttggagggt	1440
ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat	1500
ctgctgctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg	1560
accgcatgc tgacctttaa gttctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc	1620
cagtgcctgg aagaagaact gaagcccctg gaagagggtg tgaatctggc ccagtccaag	1680
aacttcacc tgaggccacg ggacctgac agcaacatca acgtgatcgt gctggaactg	1740
aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa	1800
tttctgaacc ggtggtacac cttctgccag agcatcatct ccacactgac c	1851

<211> 592
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白(GI101w)

<400> 32
Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

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

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser	Ala	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
225					230				235						240
Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
			245						250					255	
Asp	Gln	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
		260						265					270		
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
	275						280					285			
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
290						295					300				
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
305					310					315					320
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
			325						330					335	
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
		340						345					350		
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
	355						360				365				
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
370						375					380				
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
385					390					395					400
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
			405						410					415	
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
		420						425					430		
Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
	435						440					445			
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser
450					455					460					
Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu
465					470				475					480	
Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr

485										490										495																			
Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu																								
500										505										510																			
Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val																								
515										520										525																			
Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu																								
530										535										540																			
Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr																								
545										550										555										560									
Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe																								
565										570										575																			
Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr																								
580										585										590																			

<210> 33
<211> 1848
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白(mGI102-M61)之核苷酸

<400> 33	
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg	60
tctccttctc acgctgtgga cgagcagctc tccaagtccg tgaaggataa ggtcctgctg	120
ccttgccggt acaactctcc tcacaggagc gagtctgagg accggatcta ctggcagaaa	180
cacgacaagg tgggtgctgtc cgtgatcgcc ggaaagctga aagtgtggcc tgagtacaag	240
aacaggaccc tgtacgacaa caccacctac agcctgatca tcctgggcct cgtgctgagc	300
gatagaggca cctattcttg cgtgggtcag aagaaagagc ggggcaccta cgaagtgaag	360
cacctggctc tgggtcaagct gtccatcaag gccgacttca gcaccctaa cateaccgag	420
tctggcaacc ctccgccga caccaagaga atcacctggt tcgcctctgg cggttcct	480
aagcctcggt tctcttggtt ggaaaacggc agagagctgc ccggcatcaa taccaccatt	540

tctcaggacc cagagtcga gctgtacacc atctccagcc agctcgactt taacaccacc 600

agaaaccaca ccatcaagtg cctgattaa gacggcgacg cccacgtgtc cgaggacttt 660

acttgggaga aacctcciga ggacctcct gactctggat ctggcggcgg aggttctggc 720

ggaggtggaa gcggaggcgg aggatctgct gagtctaagt atggccctcc ttgtcctcca 780

tgtcctgctc cagaagctgc tggcggaccc tctgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag 840

gaccagctca tgatctctcg gaccttgaa gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtctcaa 900

gaggacctg aggtgcagtt caattggtac gtggacggcg tggaaagtga caacgccaag 960

accaagccta gagaggaaca gttcaactcc acctatagag tggtgtccgt gctgacctg 1020

ctgcaccagg attggctgaa cggcaaagag tacaagtga aggtgtccaa caagggcctg 1080

ccttcagca tcgaaaagac catcagcaag gctaagggcc agcctaggga accccaggtt 1140

tacacctgc ctccaagcca agaggaaatg accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg 1200

gtcaagggtt tctacccttc cgacattgcc gtggaatggg agtccaatgg ccagcctgag 1260

aacaactaca agaccacacc tctgtgtctg gactccgacg gctccttctt tctgtactct 1320

cgctgaccg tggacaagtc taggtggcaa gagggcaacg tgttctctg ctctgtgtg 1380

cacgaggtc tgcacaacca ctacaccag aagtccctgt ctctgtctct tggaggtggt 1440

ggcggttctg cccctacctc cagctctacc aagaaaacc agctccagtt ggagcatctg 1500

ctgtctggacc tccagatgat cctgaatggc atcaacaatt acaagaacc caagctgacc 1560

gccatgctga ccgctaagtt ctacatgcc aagaaggcca ccgagtgaa gcacttgag 1620

tgcttgaaa gggaactgaa gcccctggaa gaagtgtga atctggcca gtccaagaac 1680

ttccacctga ggcctaggga cctgatctcc aacatcaacg tgatcgtgtt ggaactgaaa 1740

ggctccgaga caaccttcac gtgcgagtac gccgacgaga cagccacat cgtggaattt 1800

ctgaaccggt gcatcacctt ctgccagagc atcatctcca cactgacc 1848

<210> 34
<211> 616
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白(mGI102-M61)

<400> 34
Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala Val Asp Glu Gln Leu Ser Lys
20 25 30

Ser Val Lys Asp Lys Val Leu Leu Pro Cys Arg Tyr Asn Ser Pro His
35 40 45

Glu Asp Glu Ser Glu Asp Arg Ile Tyr Trp Gln Lys His Asp Lys Val
50 55 60

Val Leu Ser Val Ile Ala Gly Lys Leu Lys Val Trp Pro Glu Tyr Lys
65 70 75 80

Asn Arg Thr Leu Tyr Asp Asn Thr Thr Tyr Ser Leu Ile Ile Leu Gly
85 90 95

Leu Val Leu Ser Asp Arg Gly Thr Tyr Ser Cys Val Val Gln Lys Lys
100 105 110

Glu Arg Gly Thr Tyr Glu Val Lys His Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser
115 120 125

Ile Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Asn Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro
130 135 140

Ser Ala Asp Thr Lys Arg Ile Thr Cys Phe Ala Ser Gly Gly Phe Pro
145 150 155 160

Lys Pro Arg Phe Ser Trp Leu Glu Asn Gly Arg Glu Leu Pro Gly Ile
165 170 175

Asn Thr Thr Ile Ser Gln Asp Pro Glu Ser Glu Leu Tyr Thr Ile Ser
180 185 190

Ser Gln Leu Asp Phe Asn Thr Thr Arg Asn His Thr Ile Lys Cys Leu
195 200 205

Ile Lys Tyr Gly Asp Ala His Val Ser Glu Asp Phe Thr Trp Glu Lys
210 215 220

Pro Pro Glu Asp Pro Pro Asp Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
245 250 255

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
260 265 270

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr
275 280 285

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
290 295 300

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
305 310 315 320

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
325 330 335

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
340 345 350

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
355 360 365

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
370 375 380

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
385 390 395 400

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
405 410 415

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
420 425 430

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
435 440 445

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu
450 455 460

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Gly Gly
465 470 475 480

Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln
485 490 495

Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn

500

505

510

Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr

515520525

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Arg

530535540

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn

545550555560

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val

565570575

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp

580585590

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys

595600605

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

610615

<210>35

<211>153

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>野生型hIL-2

<400>35

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

151015

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

202530

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

354045

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

505560

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65707580

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys

85

90

95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile

100105110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115120125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

130135140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145150

<210>36

<211>158

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>帶訊息序列之IL-2

<400>36

Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

151015

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr

202530

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met

354045

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met

505560

Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His

65707580

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn

859095

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser

100105110

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe

115120125

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn

130135140

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145150155

<210>37

<211>474

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<223>編碼帶訊息序列之IL-2之核苷酸序列

<400>37

atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg60

tctcctttctc acgtgcccc taccagctcc tctaccaaga aaaccagct ccagttggag120

catctgctgc tggacctcca gatgattctg aacgggatca acaactataa gaacccaag180

ctgaccgcga tgctgacctt taagttctac atgccaaga aggccaccga gctgaagcac240

ctccagtgcc tggaagaaga actgaagccc ctggaagagg tgctgaatct ggcccagtcc300

aagaacttcc acctgaggcc acgggacctg atcagcaaca tcaacgtgat cgtgctggaa360

ctgaagggct ccgagacaac ctttatgtgc gagtacgccg acgagacagc caccatcgtg420

gaattttctga accggtggat caccttctgc cagagcatca tctccacact gacc474

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種融合蛋白，其包含一IL-2蛋白及一CD80蛋白，其中該融合蛋白由下列結構式(I)構成：

$$N'-X-[\text{連接子}(1)]_n\text{-Fc結構域}-[\text{連接子}(2)]_m\text{-Y-C' (I)}$$

在該結構式(I)中，

N'是該融合蛋白之N端，

C'是該融合蛋白之C端，

X是該CD80蛋白之胞外結構域，

Y是該IL-2變異體蛋白，

其中該IL-2變異體是藉由至少二個選自下列之取代而獲得：序列辨識編號：10之胺基酸序列中的第38個、第42個、第45個、第61個及第72個胺基酸；

該連接子(1)及(2)是胜肽連接子，其中該連接子(1)包含5至80個鄰接的胺基酸而該連接子(2)包含1至50個鄰接的胺基酸，及

n及m各為1。

【請求項2】 如請求項1之融合蛋白，其中該IL-2變異體是藉由至少二個選自於由下列所構成之群組之取代而獲得：序列辨識編號：10之胺基酸序列中的R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G。

【請求項3】 如請求項1之融合蛋白，其中該IL-2變異體含有任一個選自於下列序列辨識編號：10之胺基酸序列中的取代組合(a)至(d)：

(a) R38A/F42A

(b) R38A/F42A/Y45A

(c) R38A/F42A/E61R

(d) R38A/F42A/L72G。

【請求項4】 如請求項1之融合蛋白，其中該IL-2變異體具有序列辨識編號：6、22、23或24之胺基酸序列。

【請求項5】 如請求項1之融合蛋白，其中該CD80蛋白具有序列辨識編號：11之胺基酸序列。

【請求項6】 如請求項1之融合蛋白，其中該CD80之胞外結構域由序列辨識編號：11之胺基酸序列中的第35個胺基酸至第242個胺基酸構成。

【請求項7】 如請求項1之融合蛋白，其中該Fc結構域是野生型或變異體。

【請求項8】 如請求項1之融合蛋白，其中該Fc結構域具有序列辨識編號：4之胺基酸序列。

【請求項9】 如請求項7之融合蛋白，其中該Fc結構域之變異體具有序列辨識編號：12之胺基酸序列。

【請求項10】 如請求項1之融合蛋白，其中該連接子(1)是由序列辨識編號：3之胺基酸序列構成的胜肽連接子。

【請求項11】 如請求項1之融合蛋白，其中該連接子(2)是由序列辨識編號：5之胺基酸序列構成的胜肽連接子。

【請求項12】 如請求項1之融合蛋白，其中該融合蛋白與序列辨識編號：9、26、28或30之胺基酸序列具有90%或更高的序列一致性。

【請求項13】 一種融合蛋白二聚體，其中二個如請求項1至12中任一項之融合蛋白彼此附接。

【請求項14】 如請求項13之融合蛋白二聚體，其中該融合蛋白二聚體是一同型二聚體(homodimer)。

【請求項15】 一種多核苷酸，其編碼如請求項1至12中任一項之融合蛋白。

【請求項16】 如請求項15之多核苷酸，其中該多核苷酸與序列辨識編號：8、25、27或29之核苷酸序列具有90%或更高的序列一致性。

【請求項17】 一種載體，其包含如請求項15之多核苷酸。

【請求項18】 一種轉形細胞，其中已導入如請求項17之載體。

【請求項19】 一種用於治療癌症或感染性疾病之藥學組成物，其包含一活

性成份：

如請求項1至12中任一項之融合蛋白；或

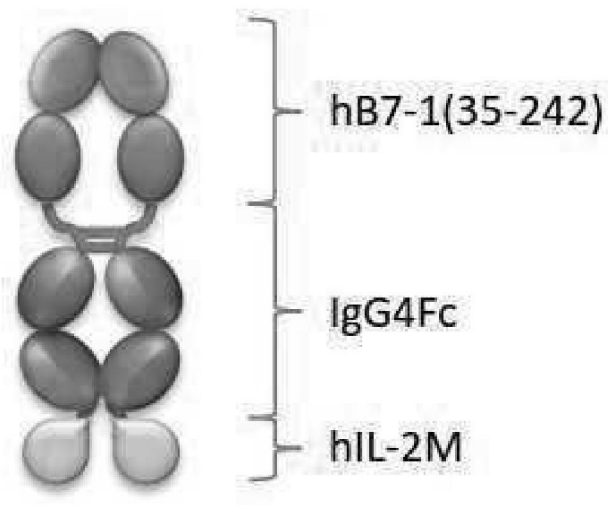
如請求項13或14之融合蛋白二聚體。

【請求項20】如請求項19之藥學組成物，其進一步包含一藥學上可接受的載劑。

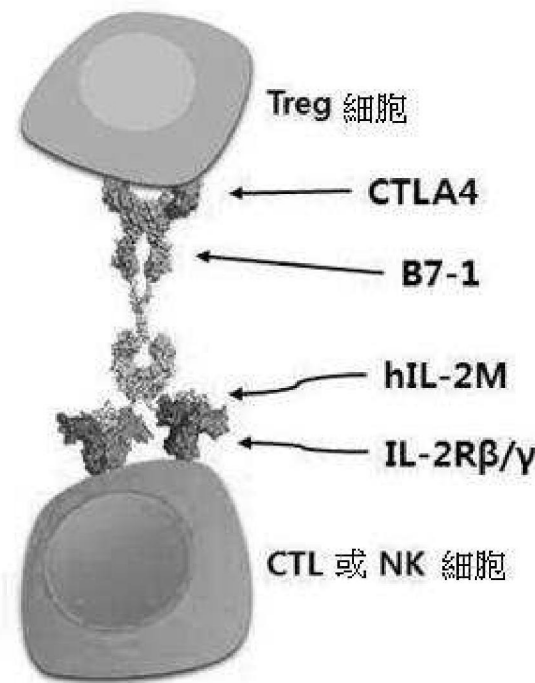
【請求項21】如請求項19之藥學組成物，其中該癌症是選自於由下列所構成之群組中之任一者：胃癌、肝癌、肺癌、結直腸癌、乳癌、前列腺癌、卵巢癌、胰臟癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、喉癌、急性骨髓性白血病、腦瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、頭頸癌、唾液腺癌及淋巴瘤。

【請求項22】如請求項19之藥學組成物，其中該感染性疾病是選自於由下列所構成之群組中之任一者：B型肝炎、C型肝炎、人類乳突病毒感染、巨細胞病毒感染、病毒性呼吸疾病及流行性感冒。

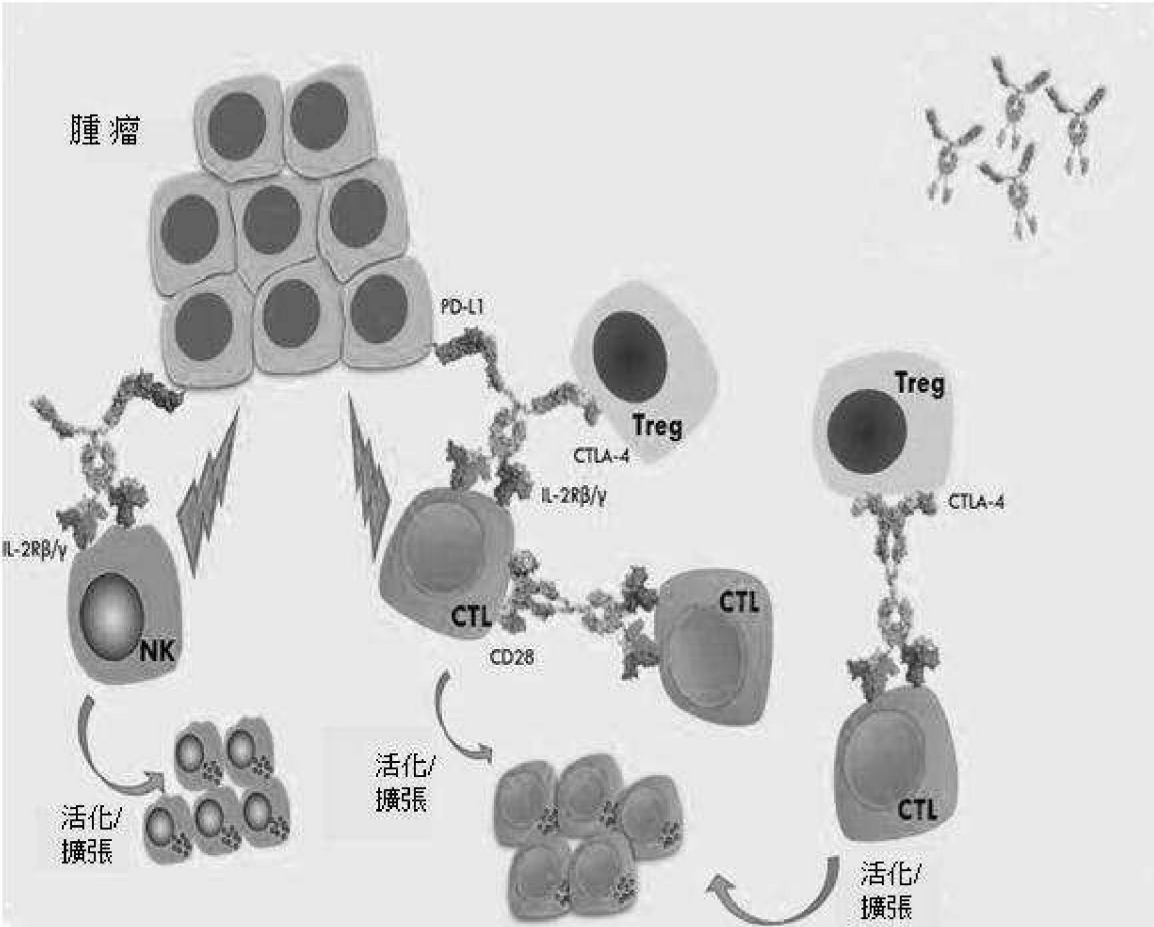
【發明圖式】



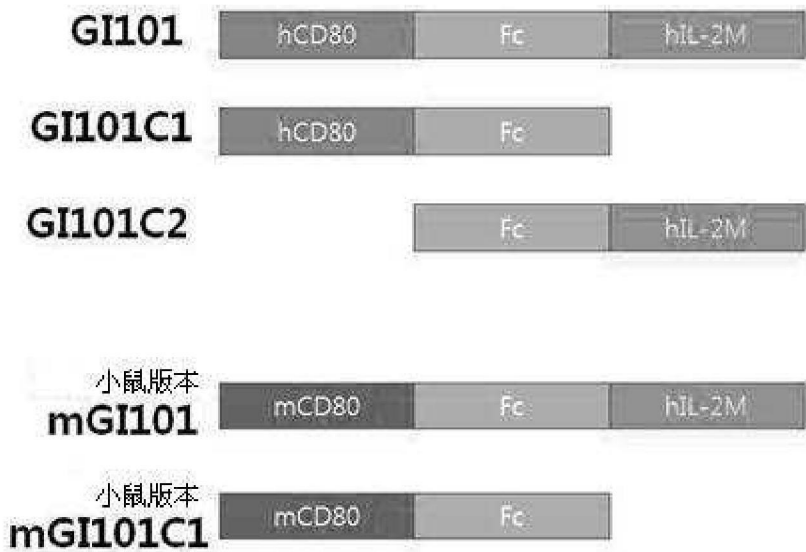
【圖1】



【圖2】



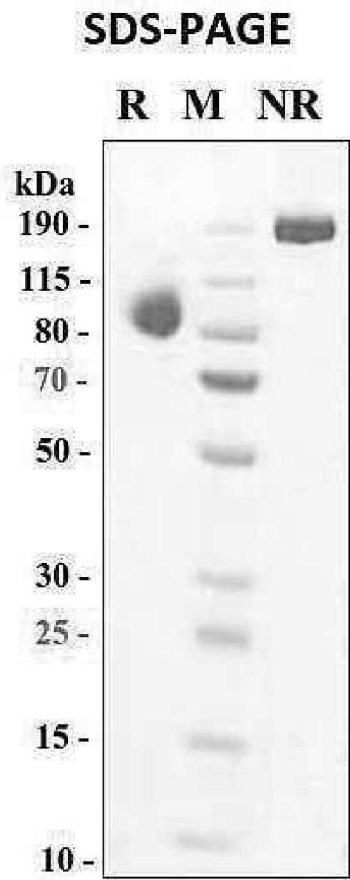
【圖3】



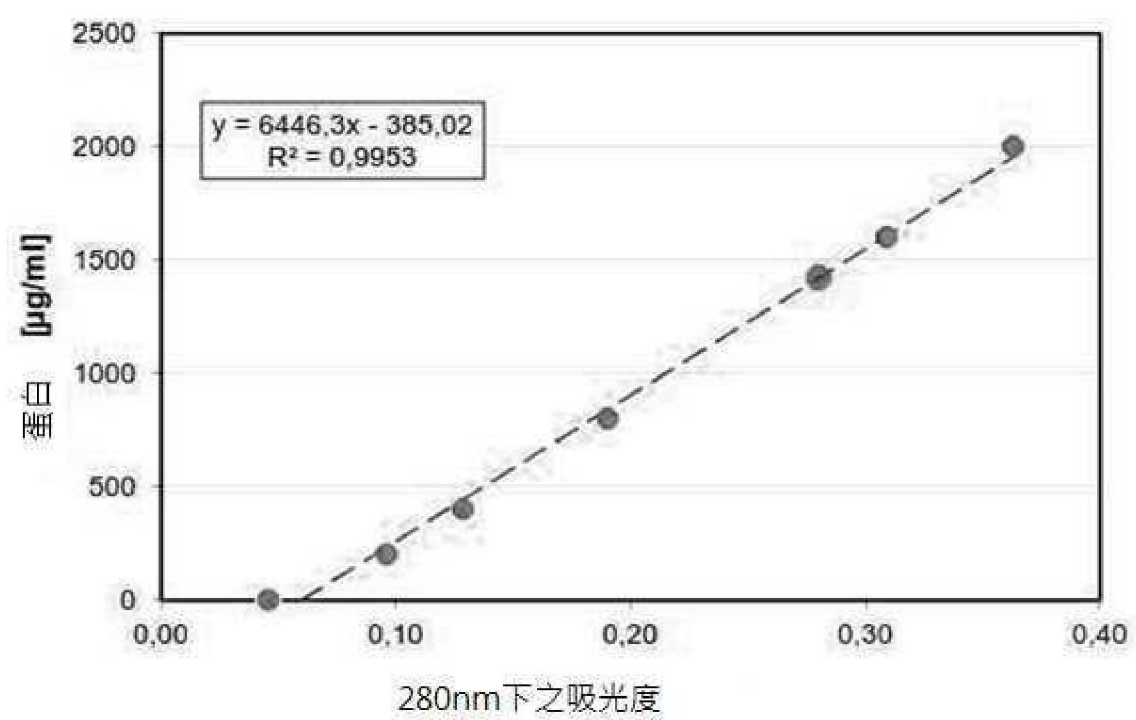
【圖4】



【圖5】

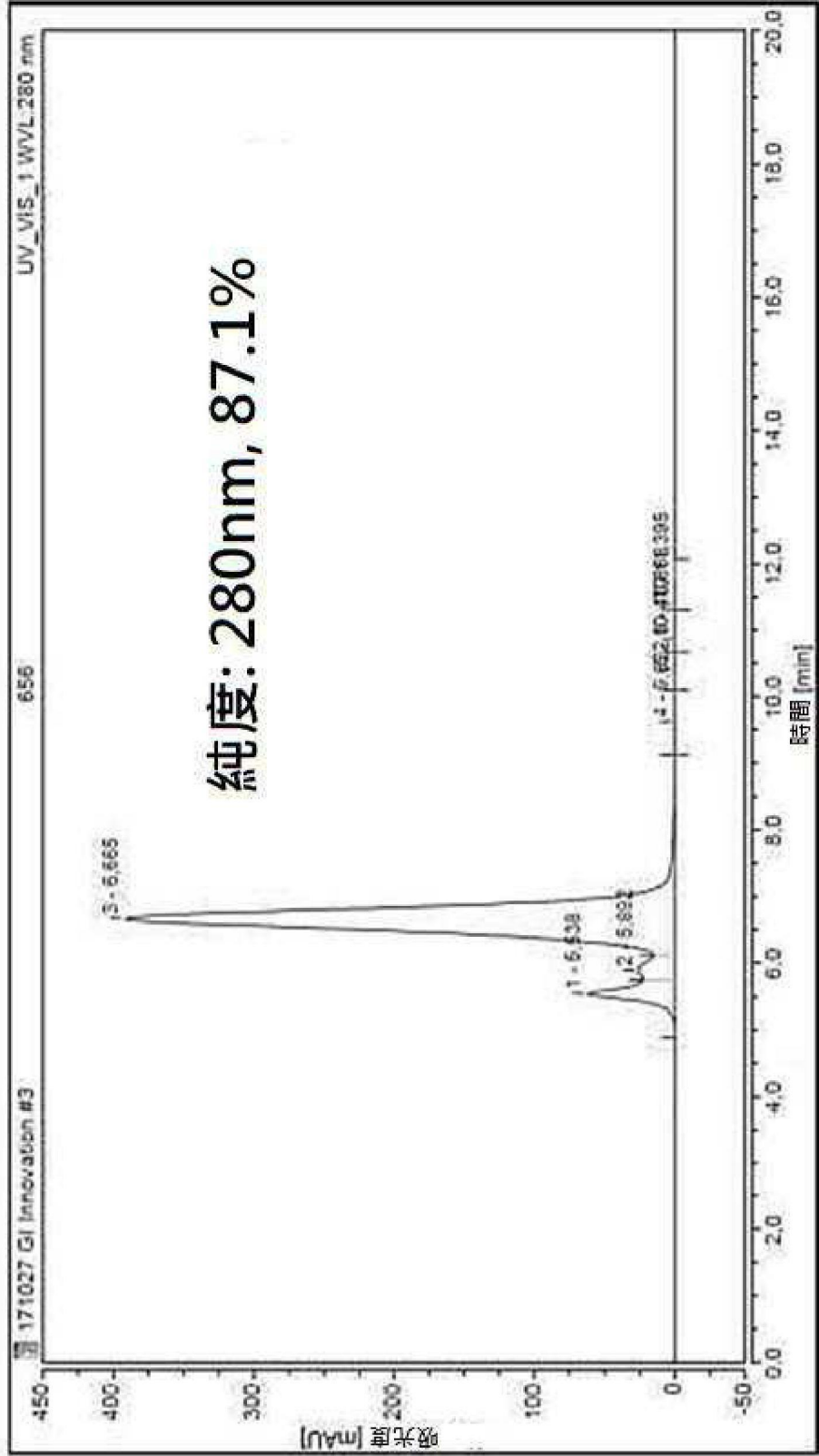


【圖6】

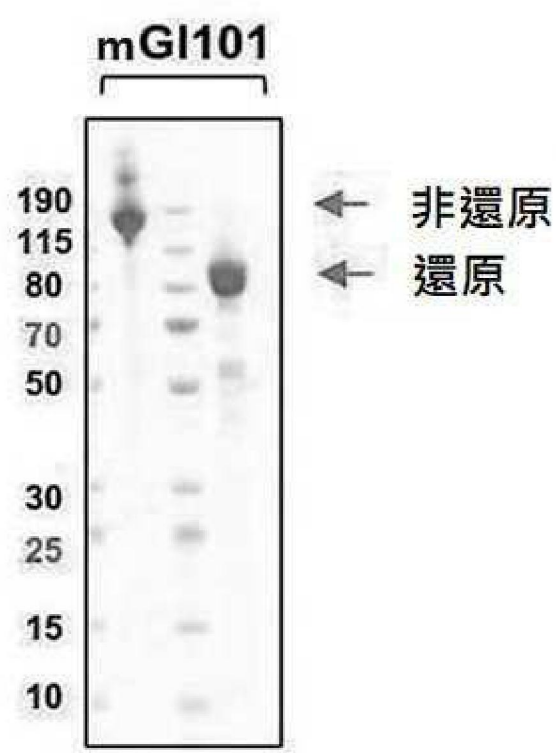


【圖7】

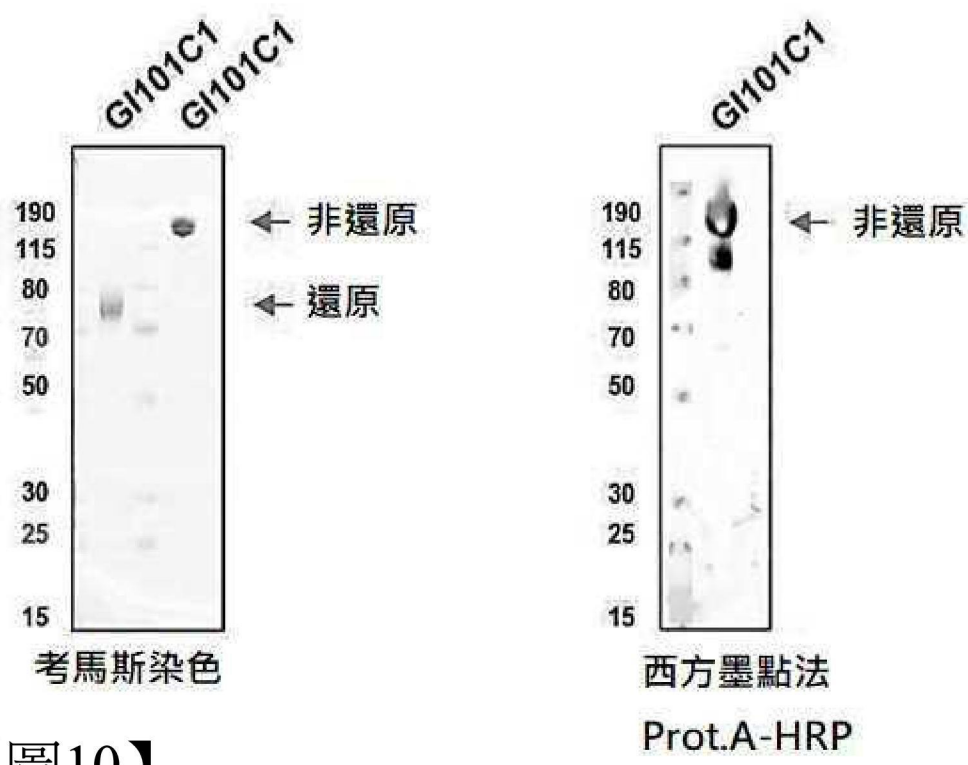
分析型粒徑篩析法 (SEC)



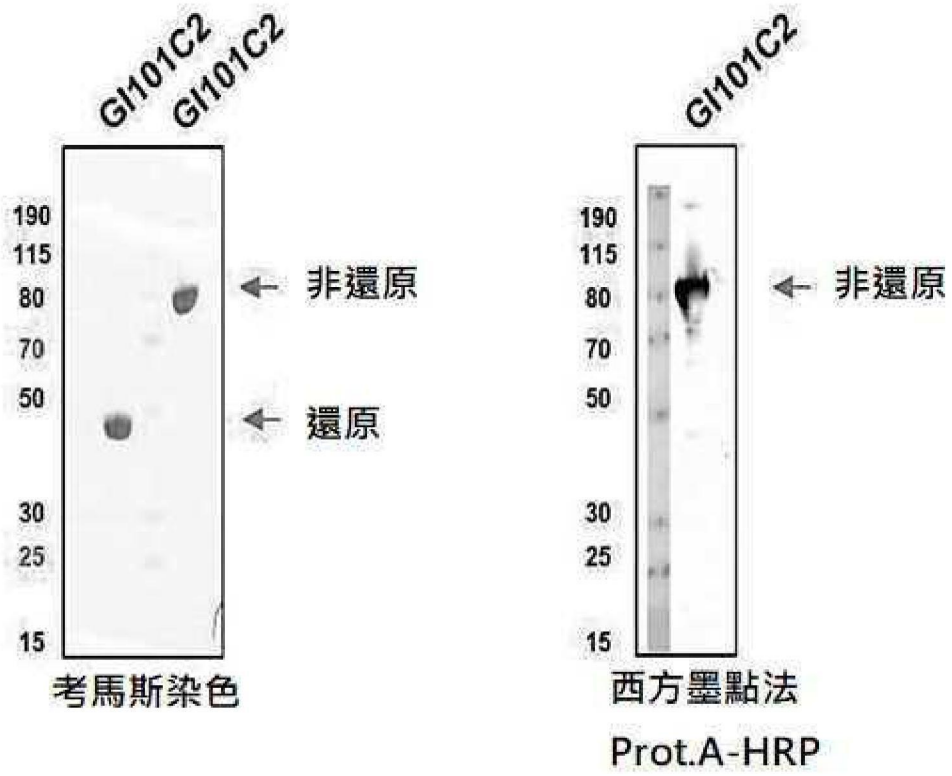
【圖8】



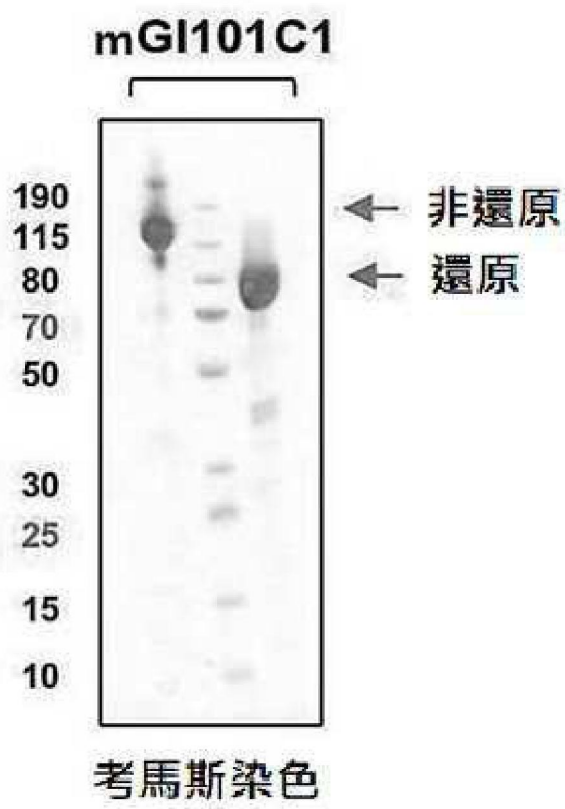
【圖9】
考馬斯染色



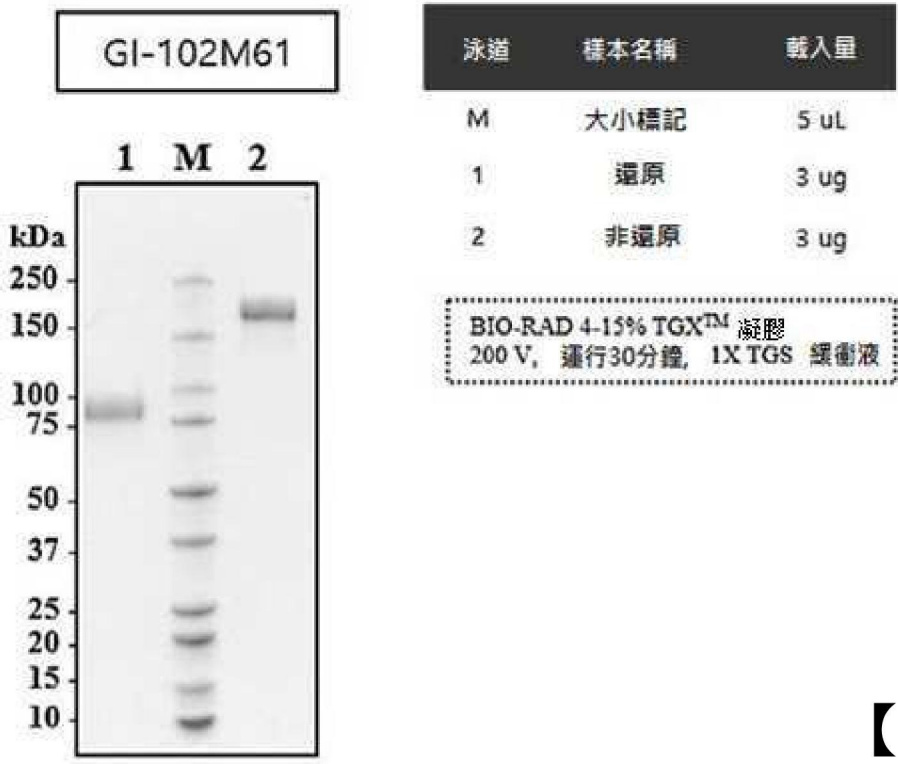
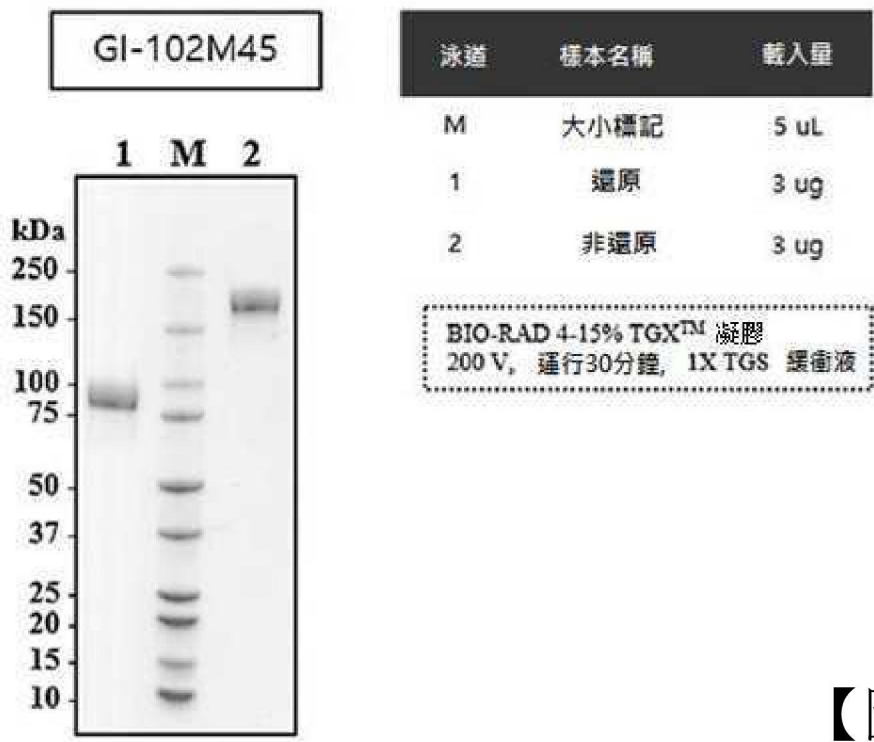
【圖10】

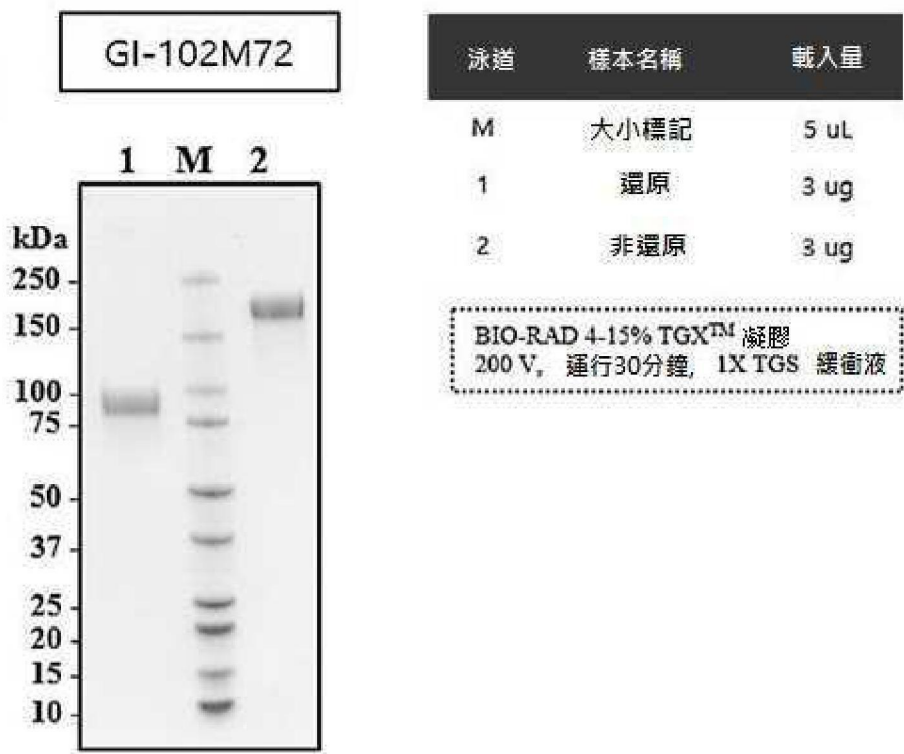


【圖11】

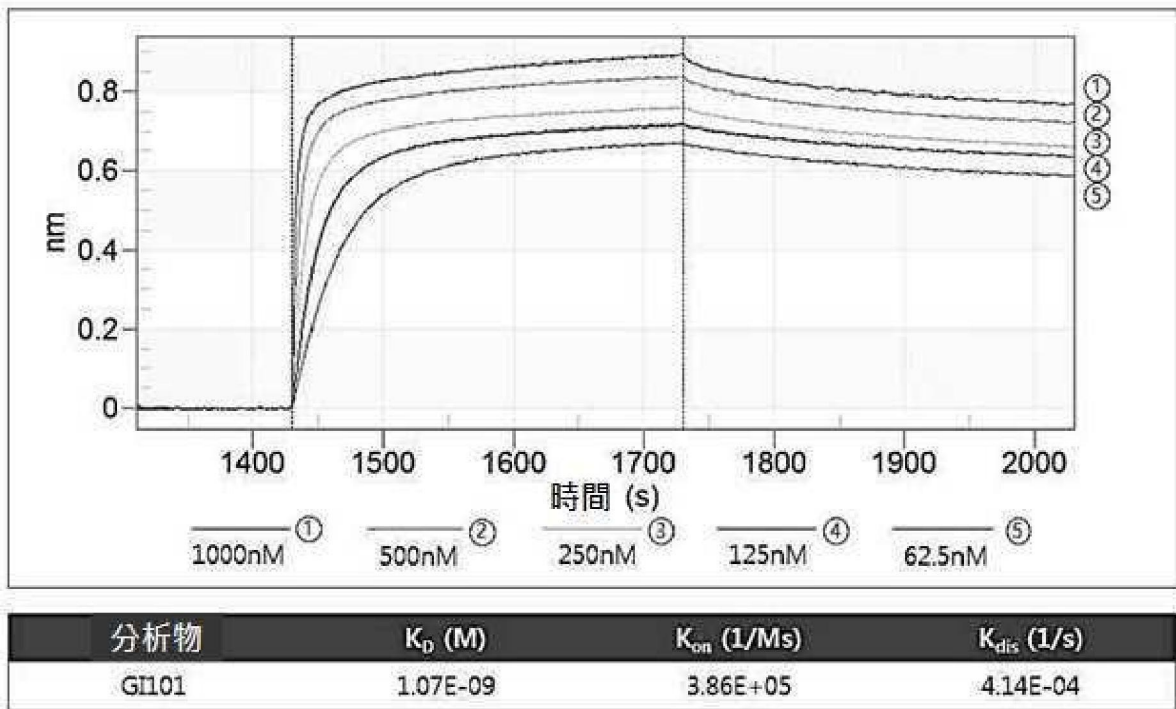


【圖12】

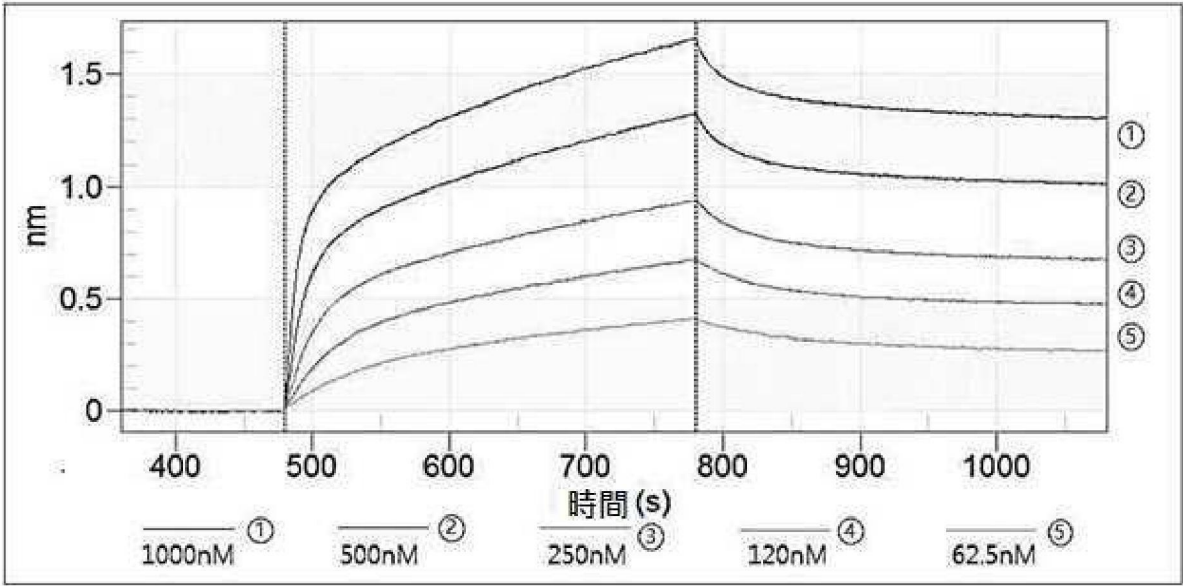




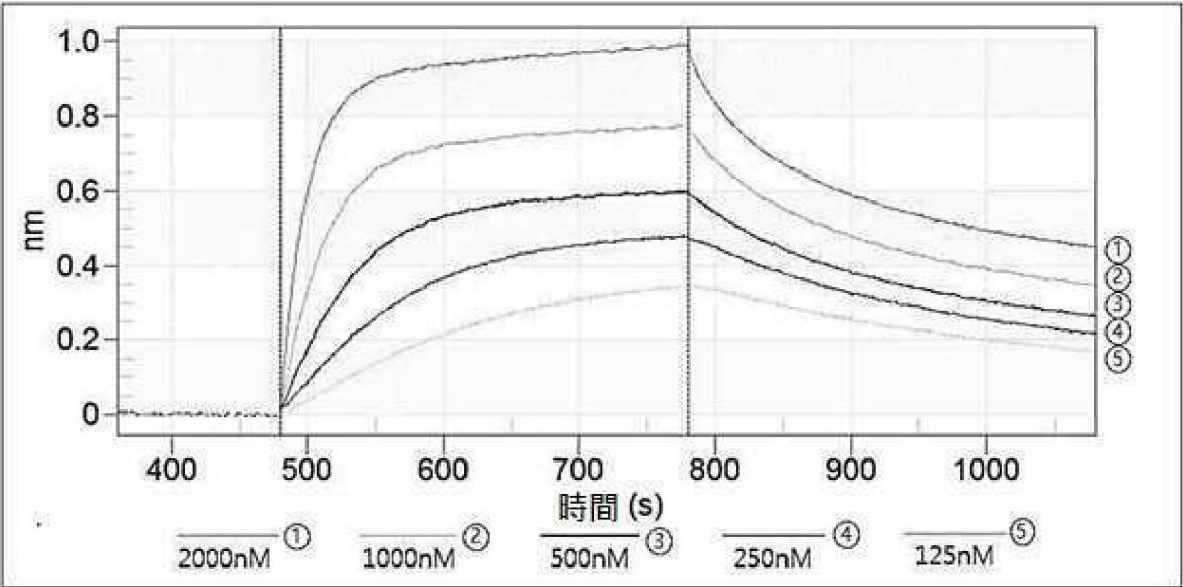
【圖15】



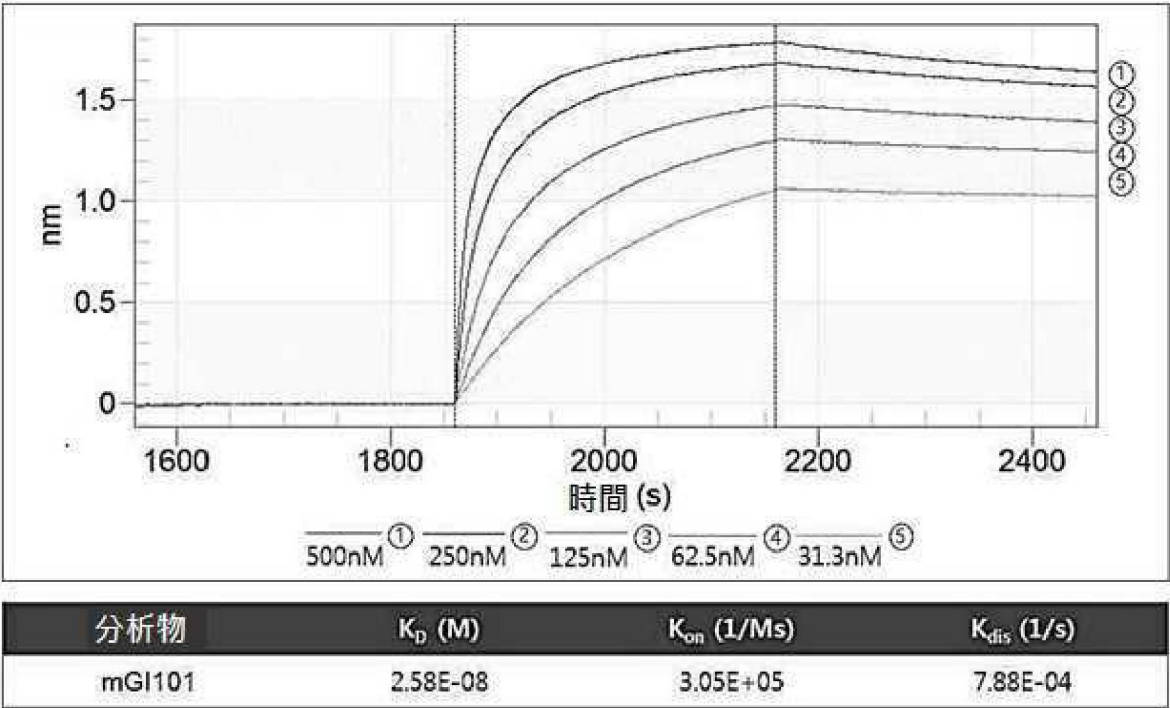
【圖16】



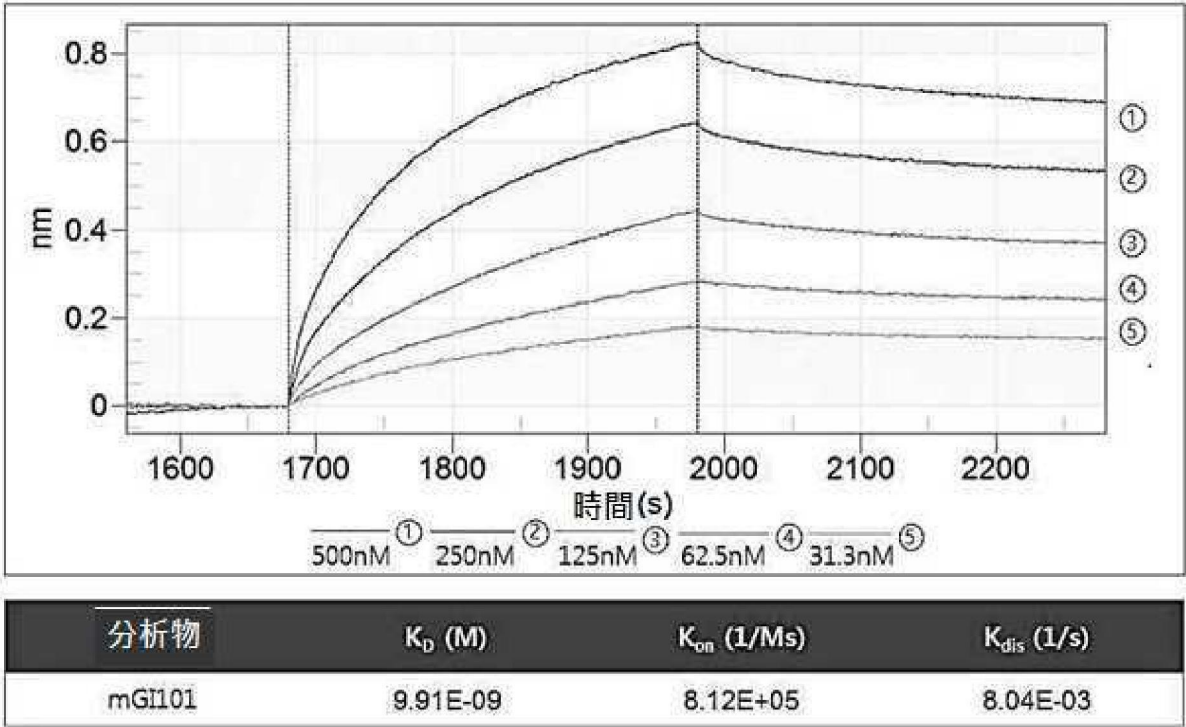
【圖17】



【圖18】

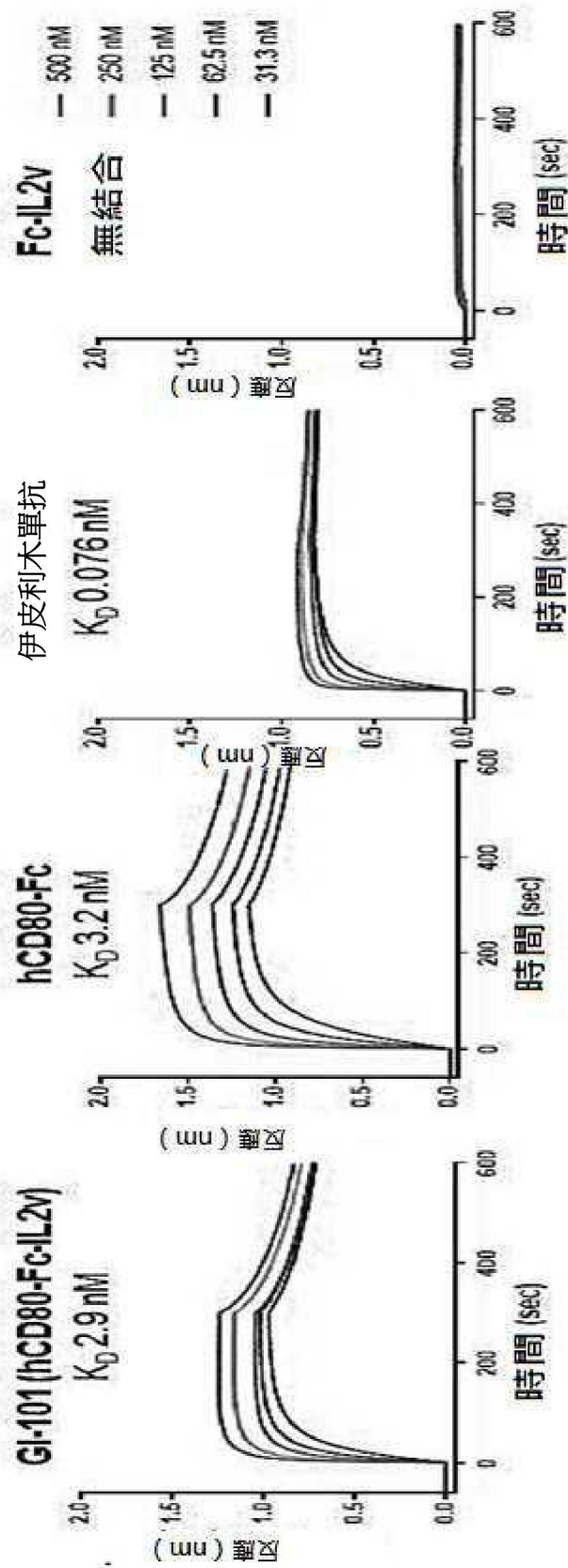


【圖19】



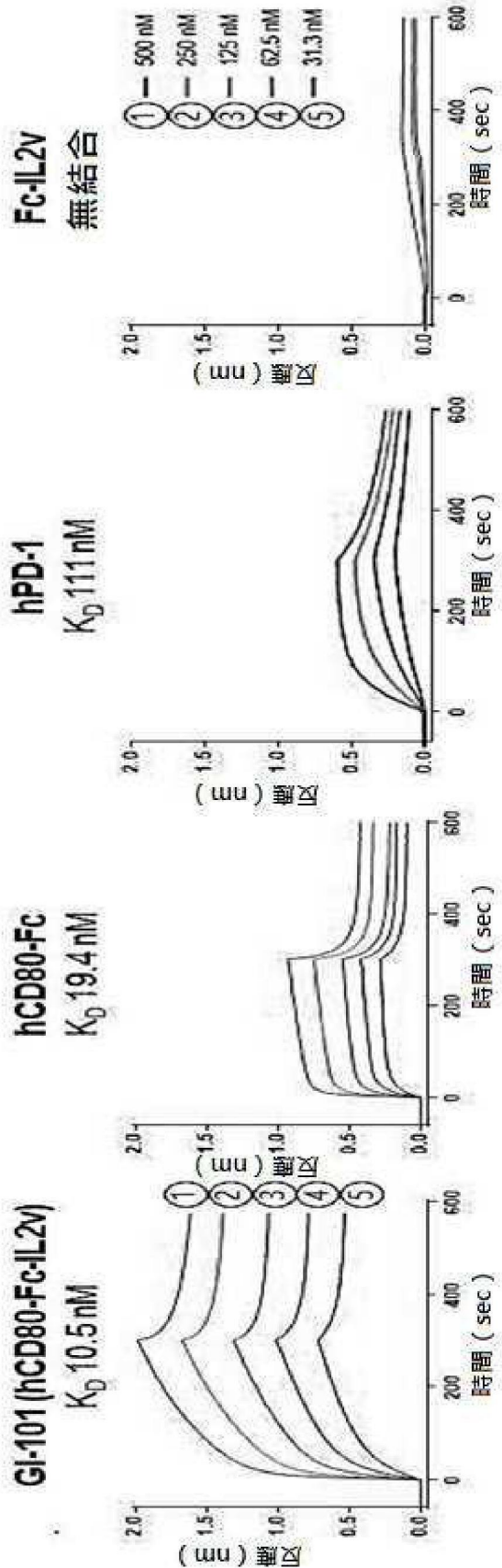
【圖20】

結合至hCTLA-4

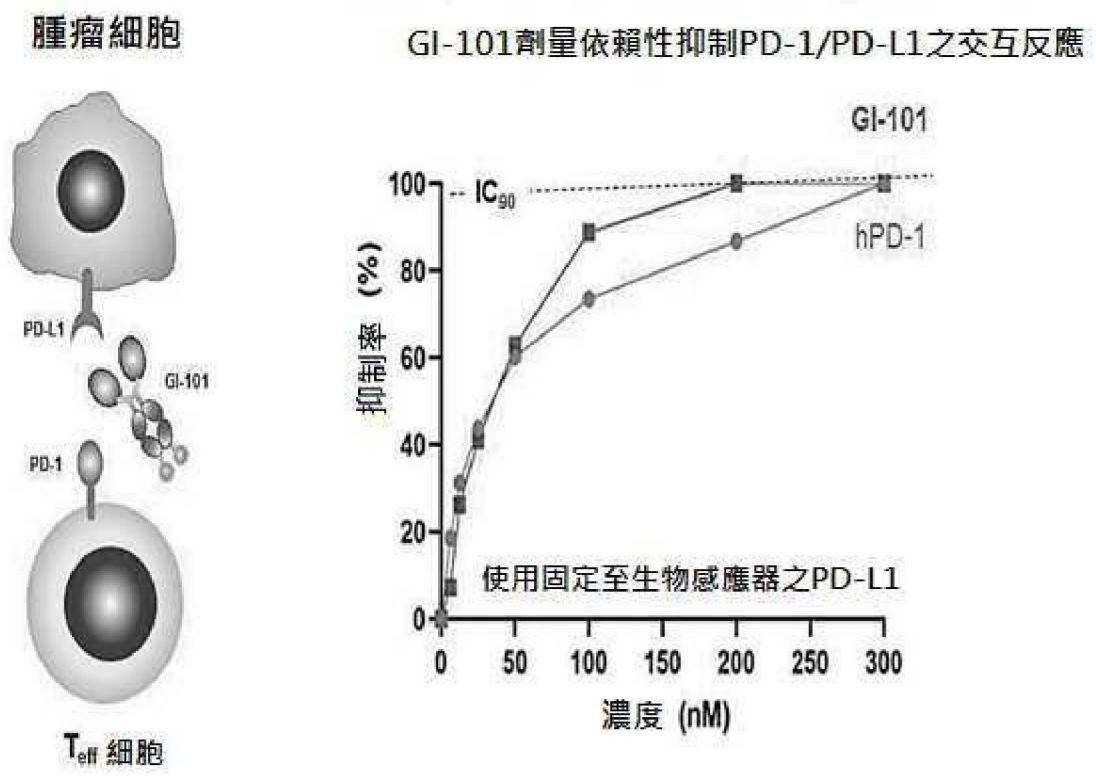


【圖21】

結合至hPD-L1

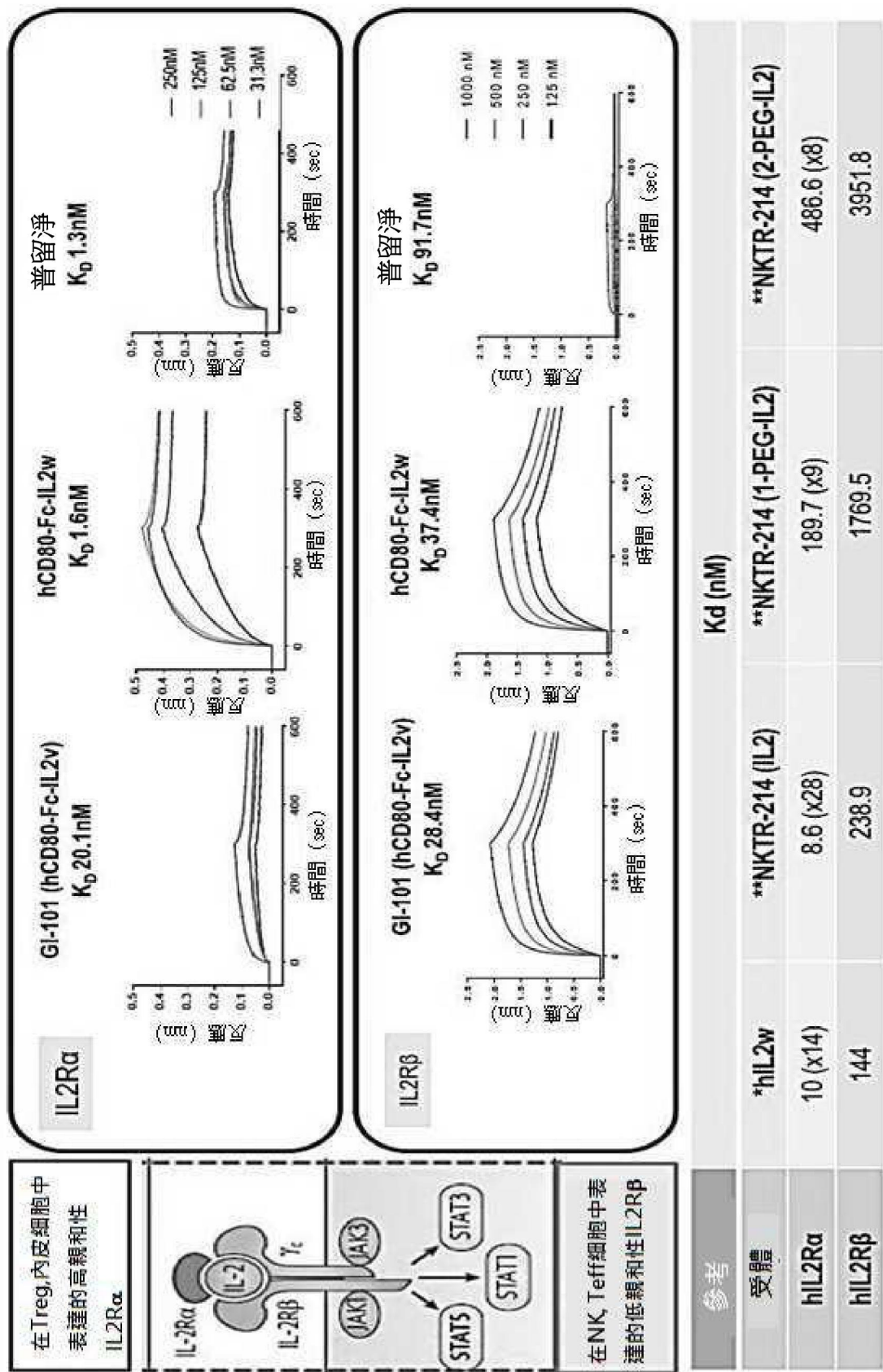


【圖22】



【圖23】

【圖24】

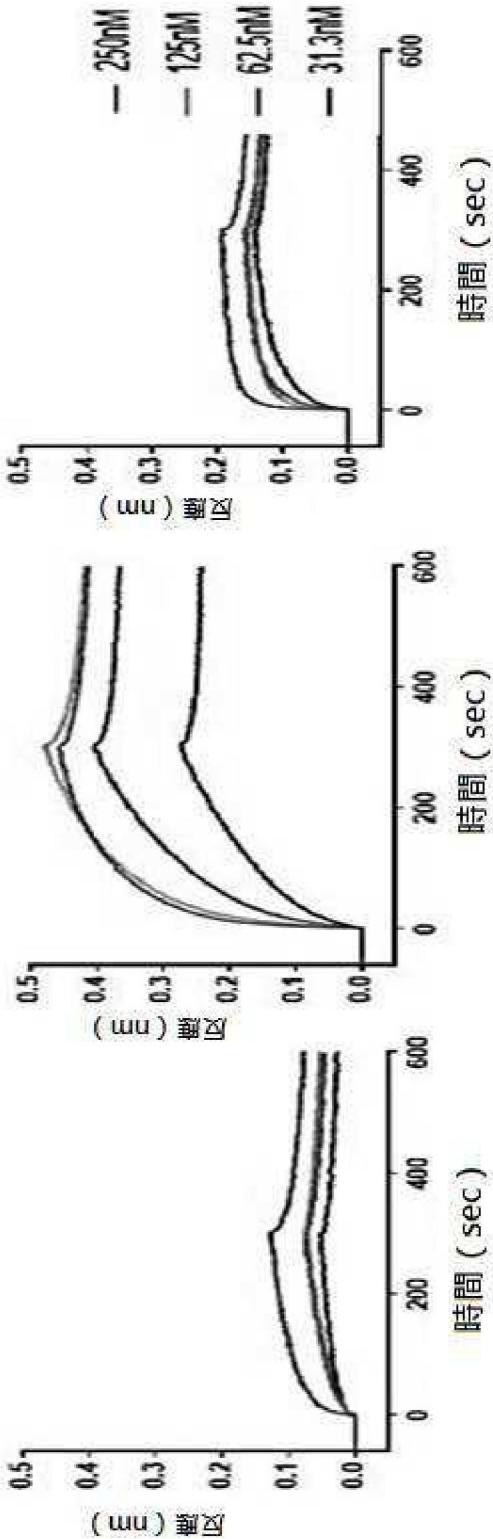


IL2Ra

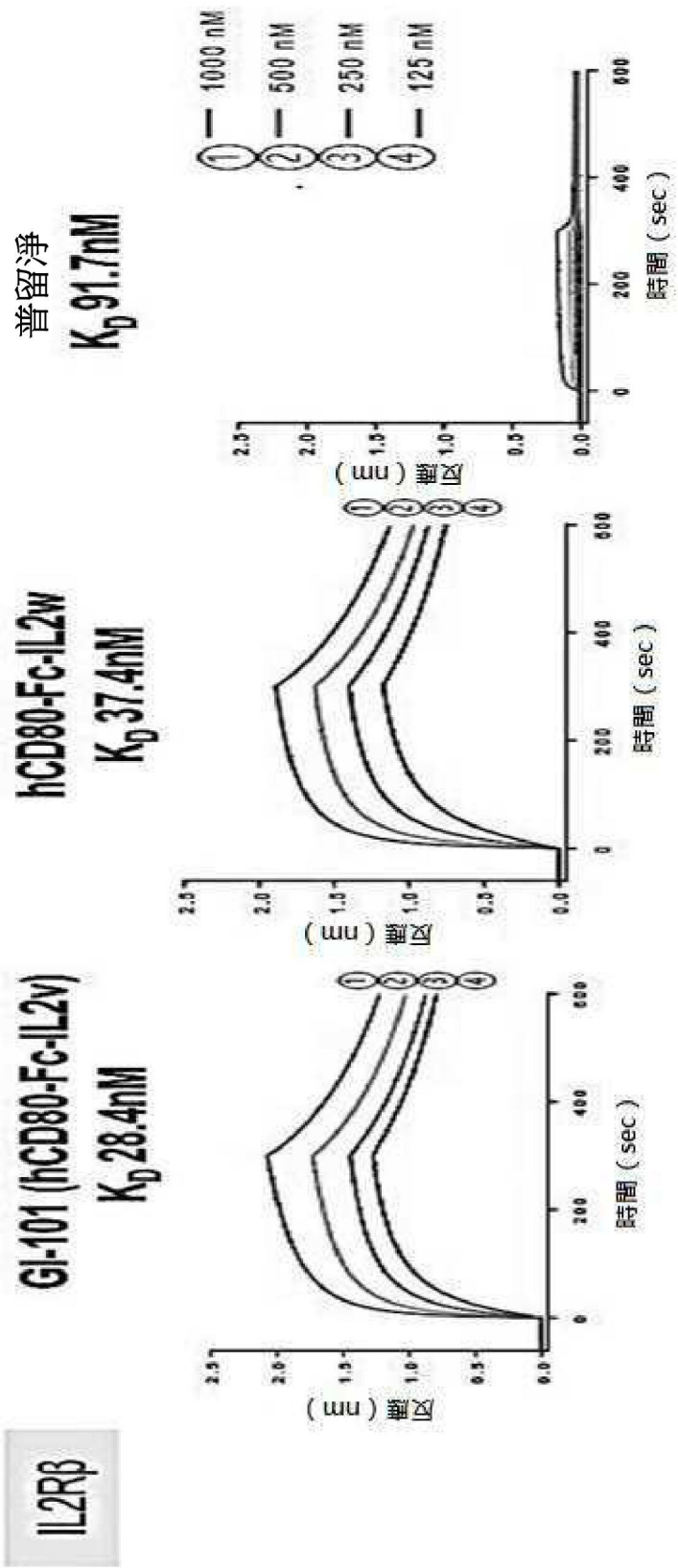
GI-101 (hCD80-Fc-IL2v)
 K_D 20.1nM

hCD80-Fc-IL2w
 K_D 1.6nM

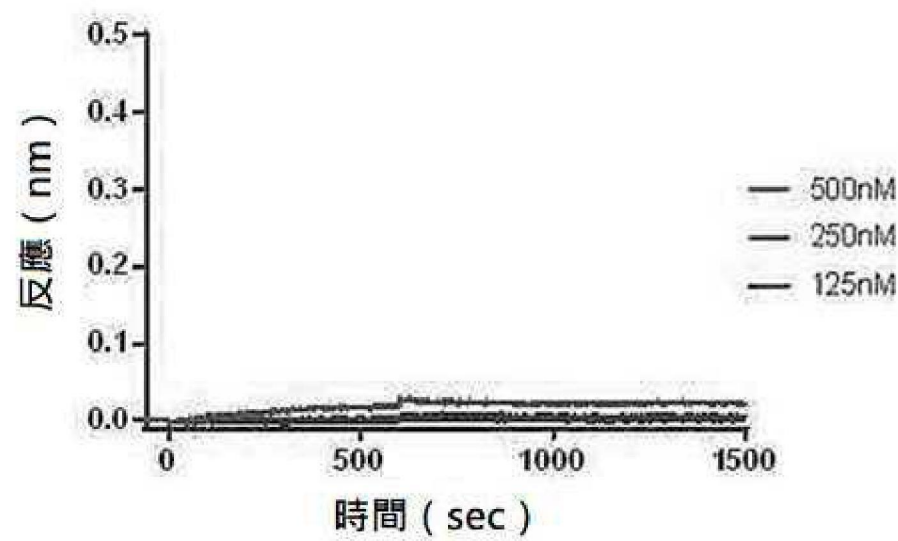
普留淨
 K_D 1.3nM



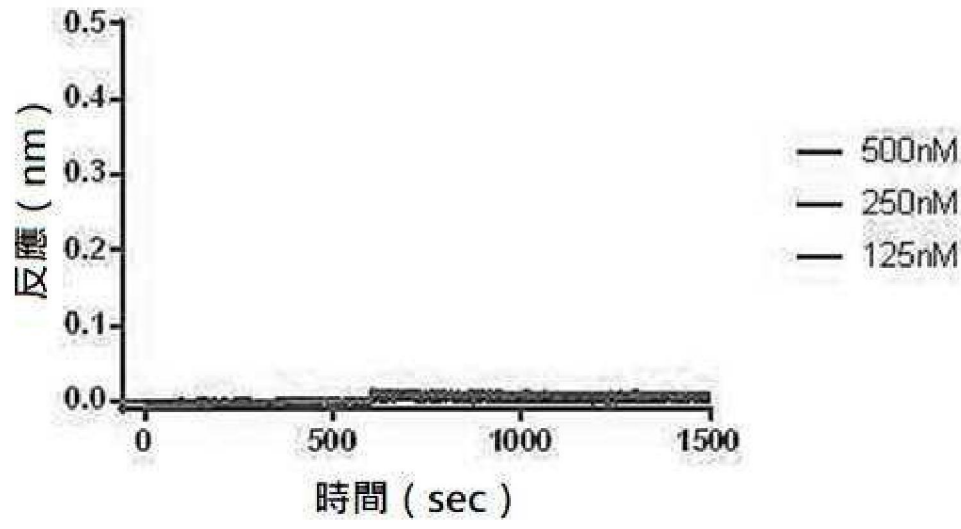
【圖25】



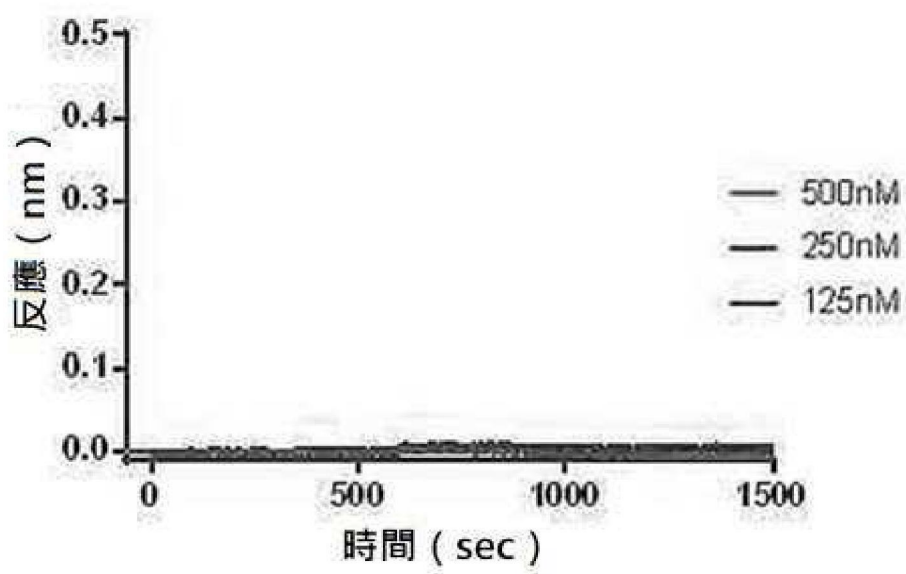
【圖26】



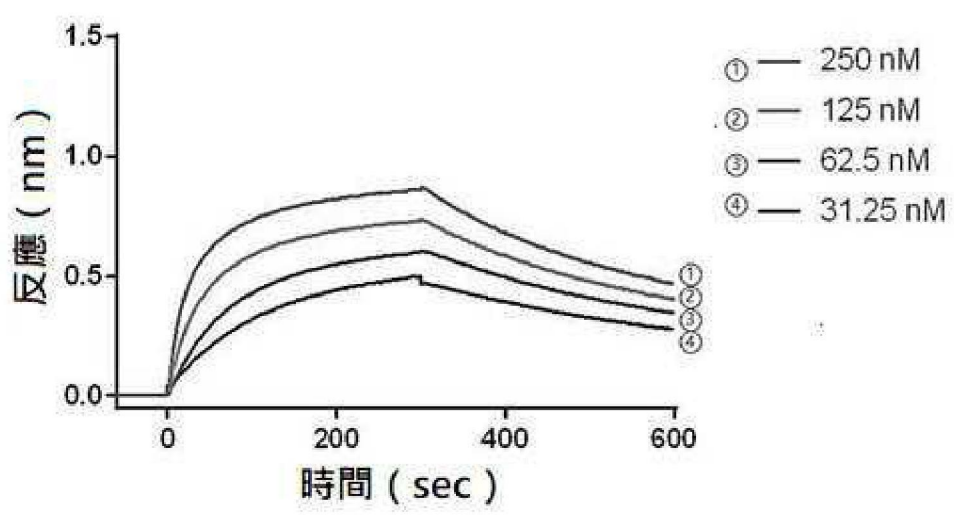
【圖27】



【圖28】

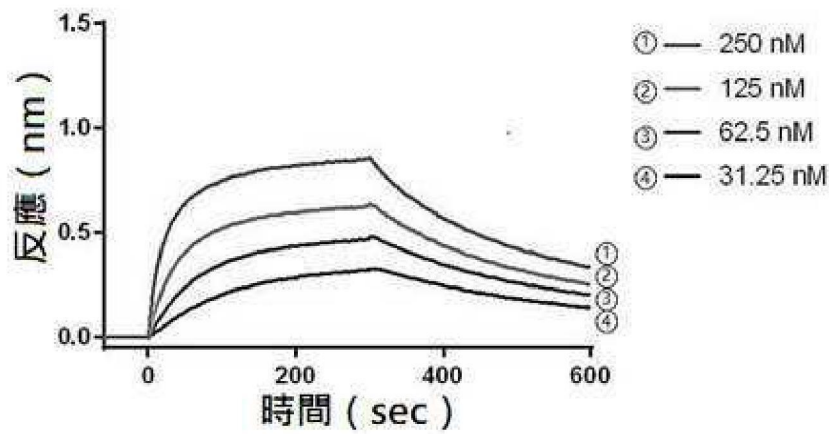


【圖29】



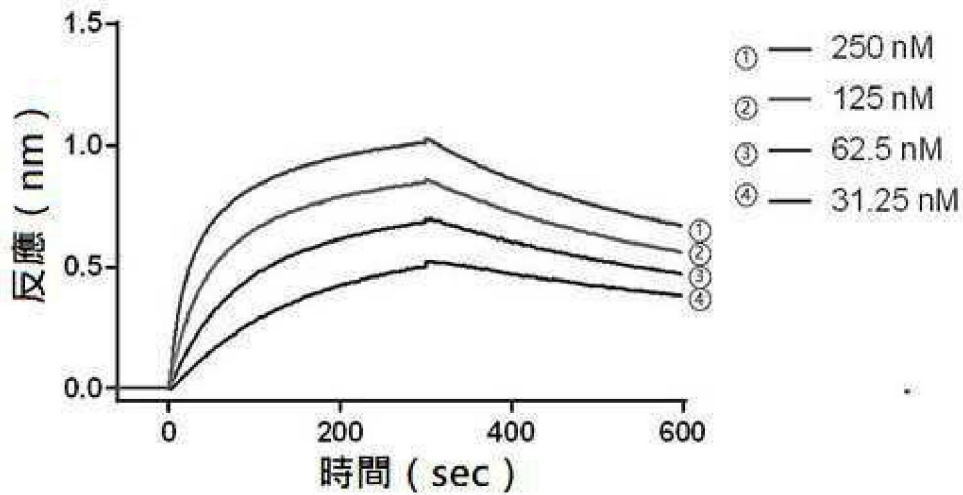
Kon	Koff	Kd
1.30X105.	2.01X10-3	1.55X10-8

【圖30】



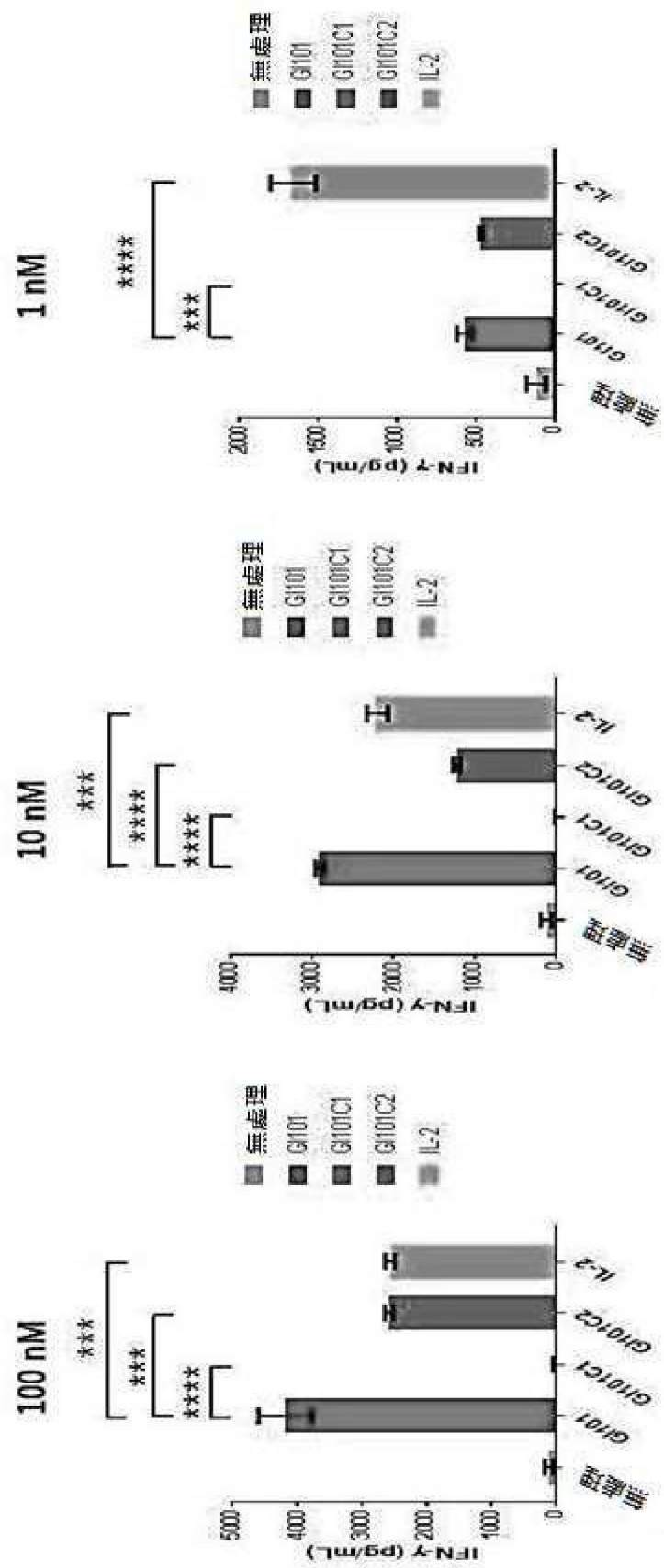
Kon	Koff	Kd
1.32X10 ⁵	3.11X10 ⁻³	2.36X10 ⁻⁸

【圖31】



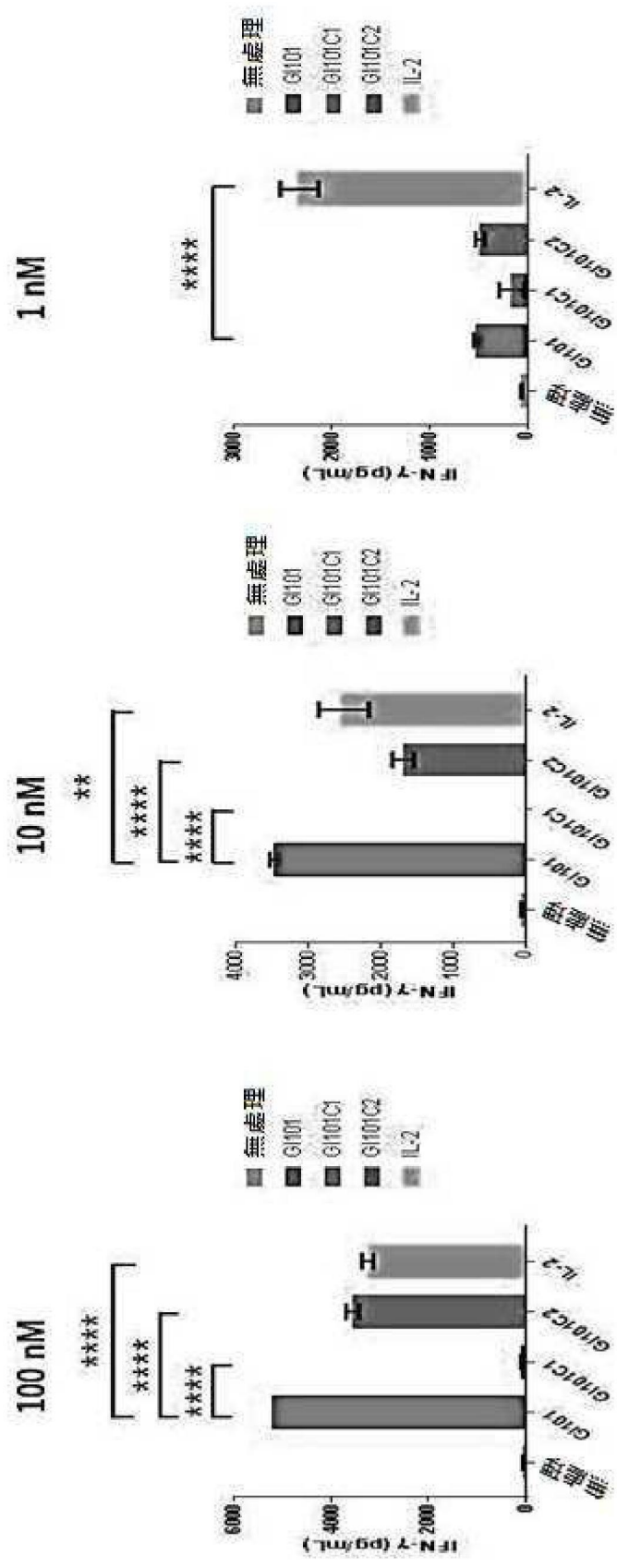
Kon	Koff	Kd
1.10X10 ⁵	1.27X10 ⁻³	1.15X10 ⁻⁸

【圖32】



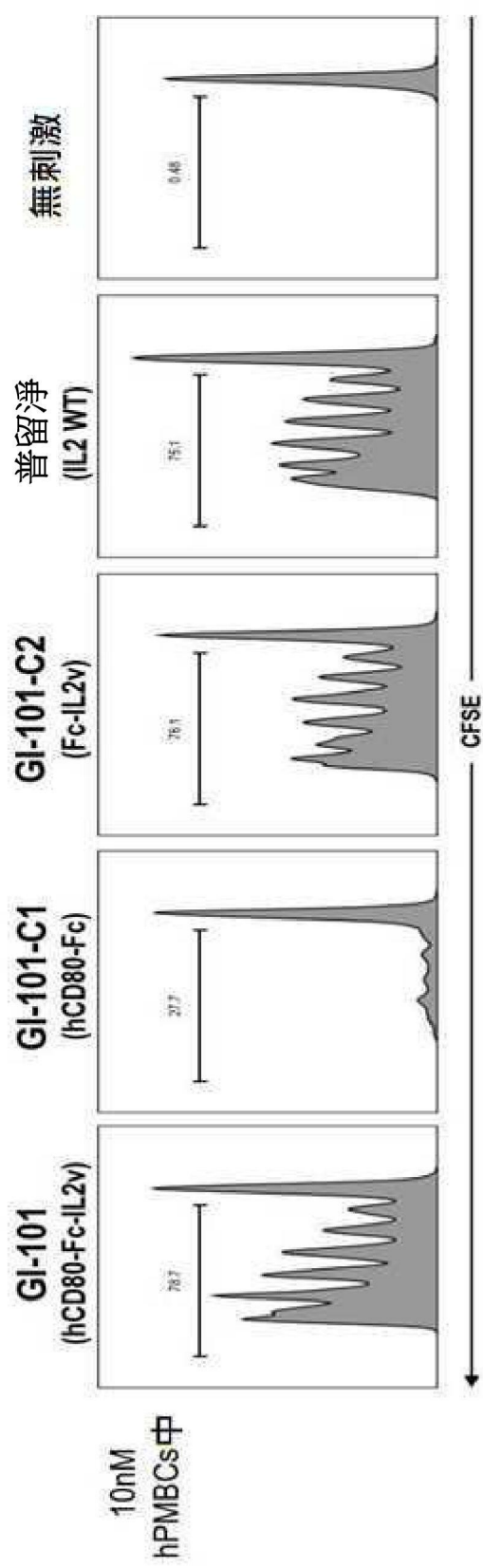
非成對t檢定, 雙尾
*** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

【圖33】

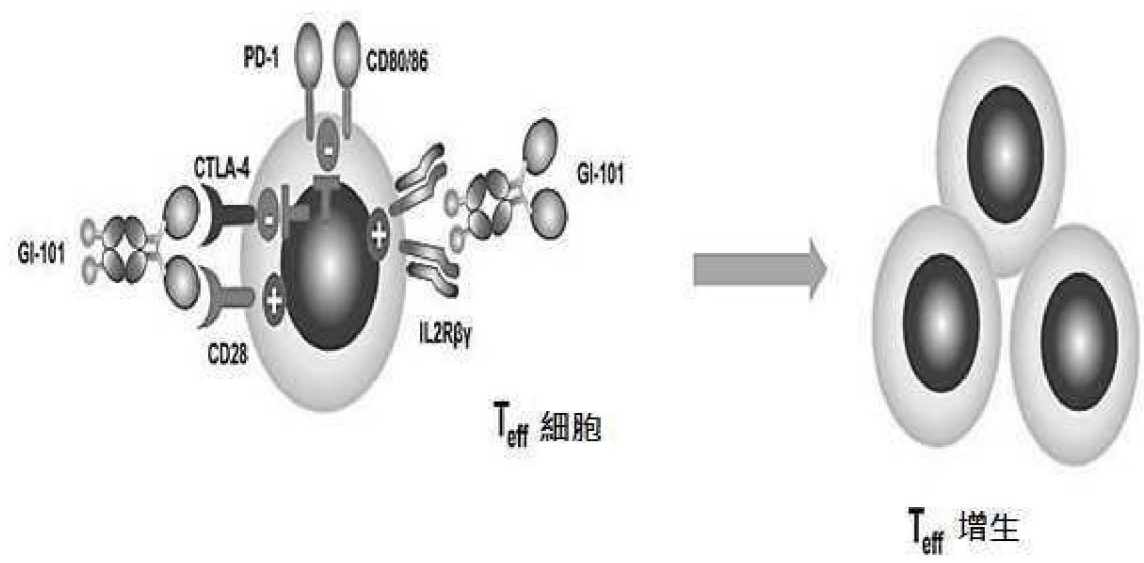


非成對t檢定, 雙尾
** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

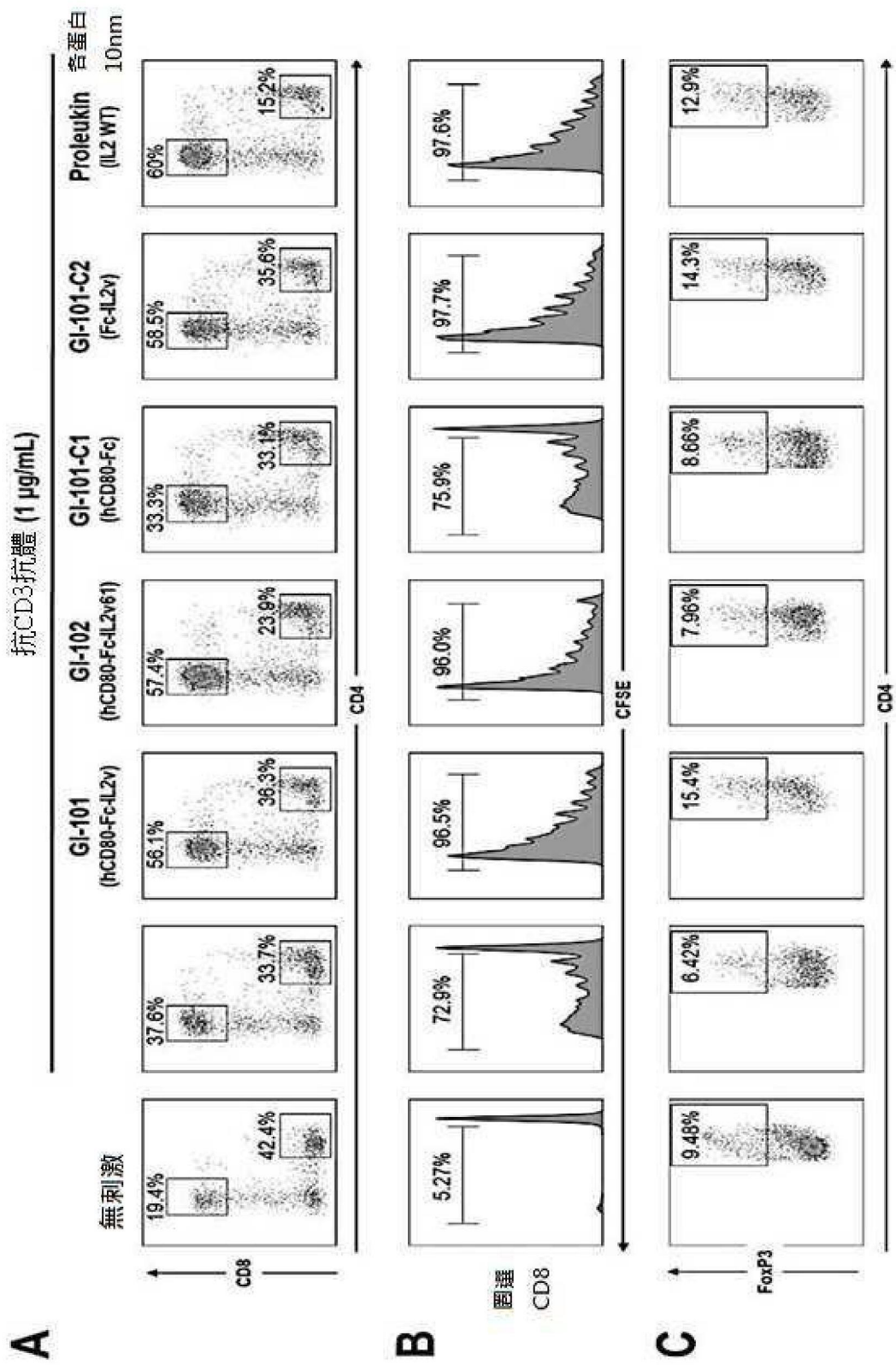
【圖34】



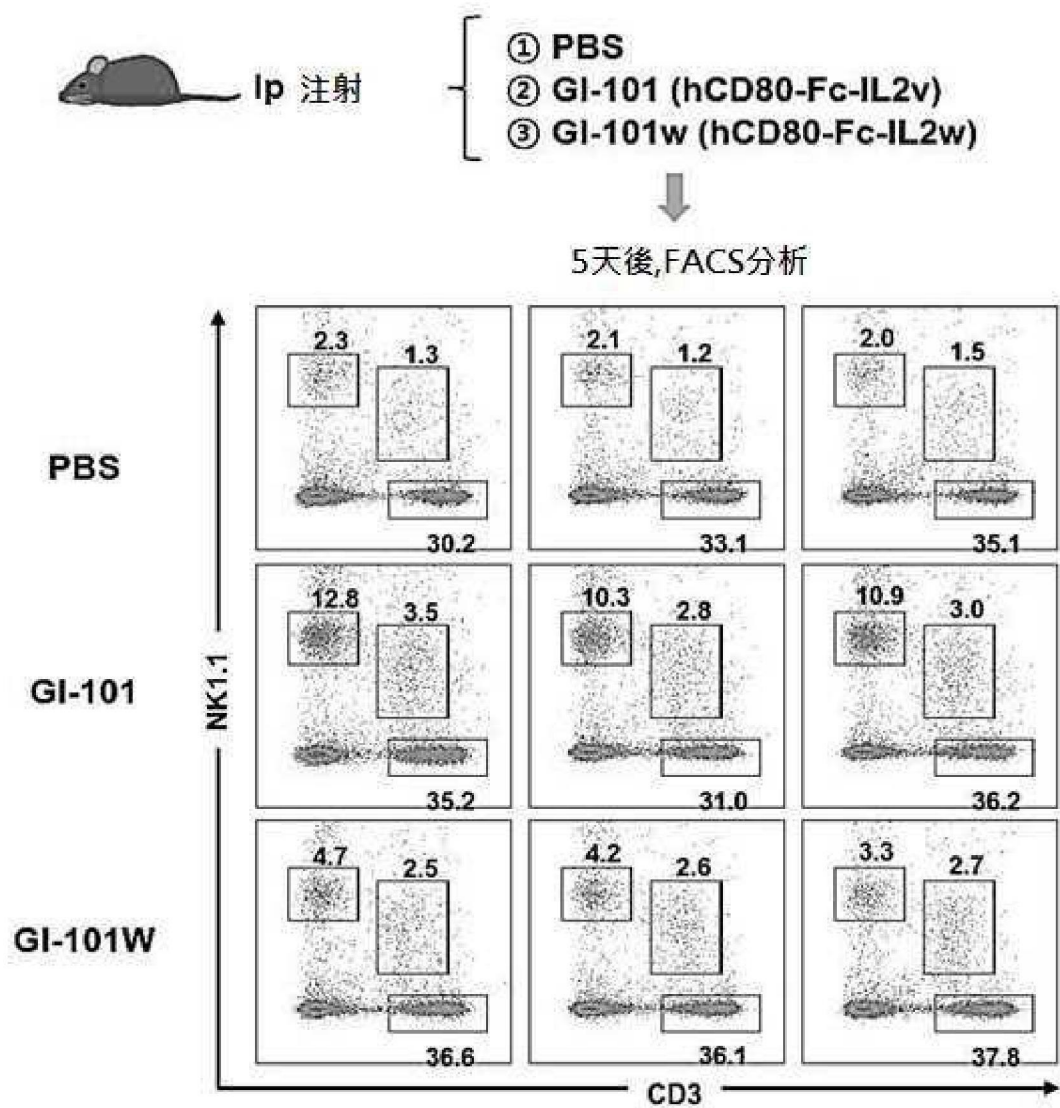
【圖35】



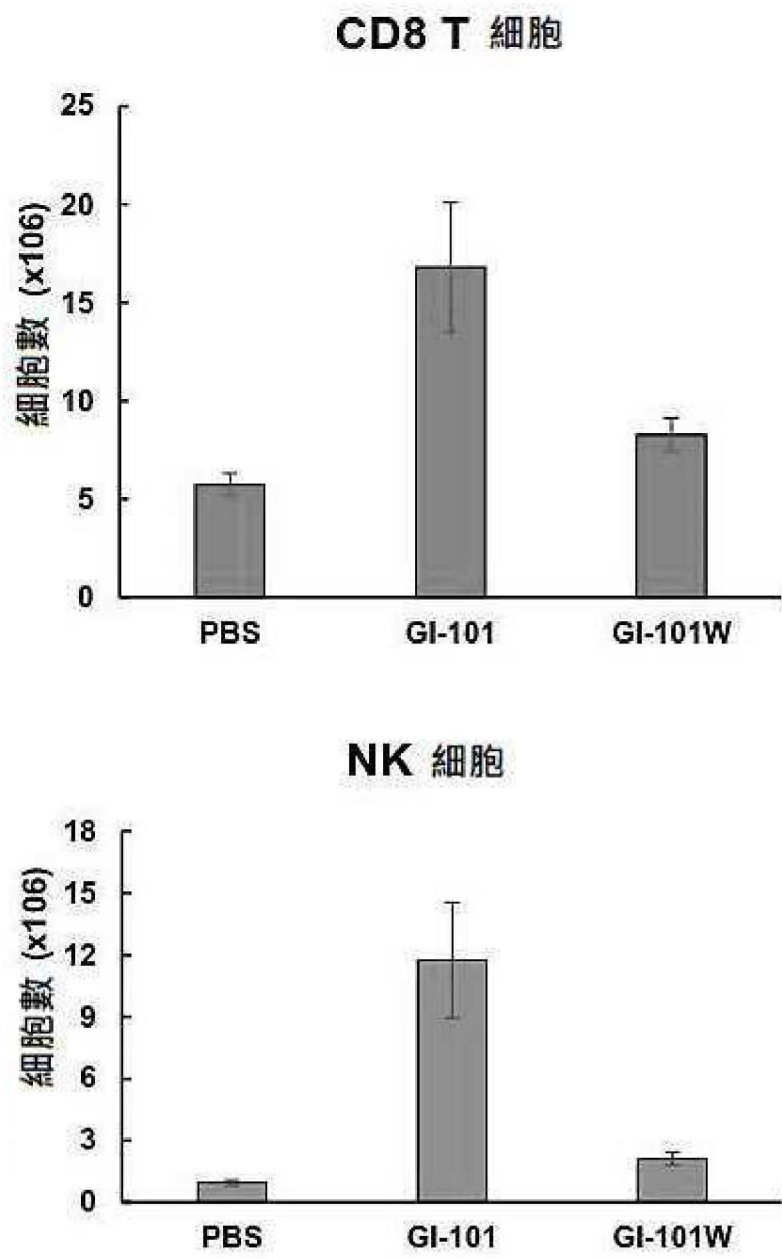
【圖36】



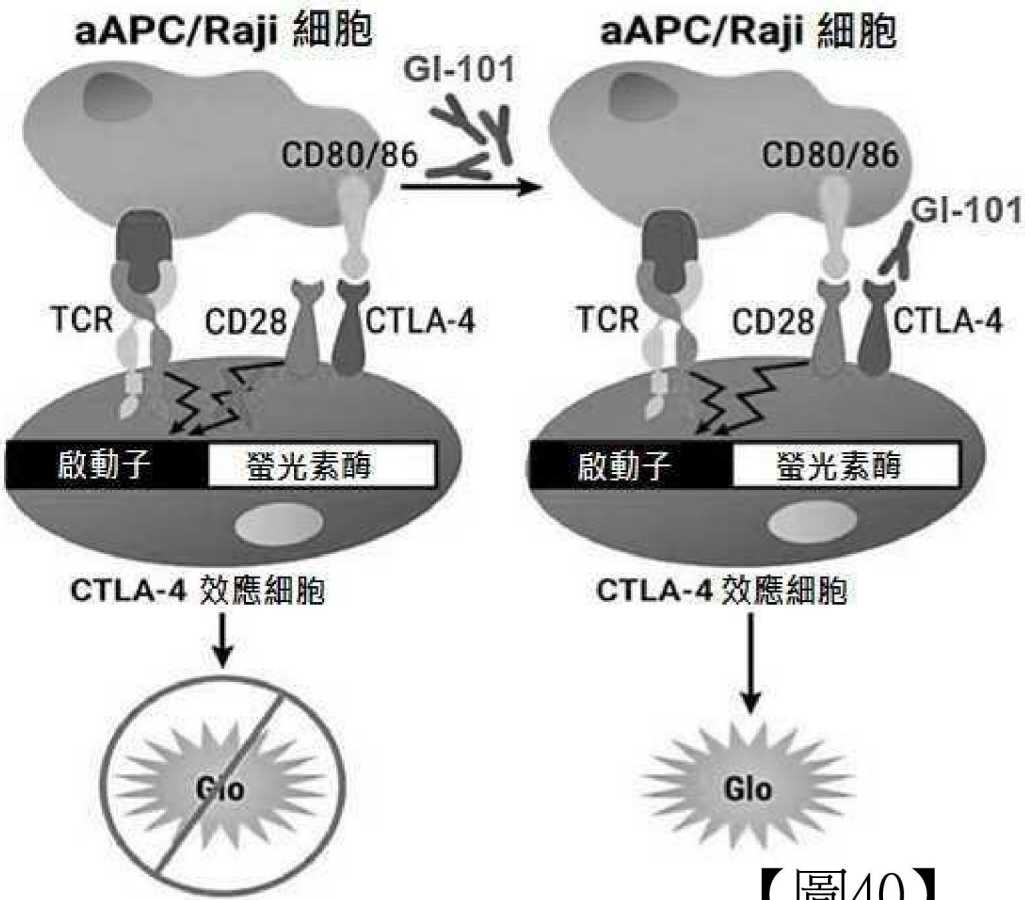
【圖37】



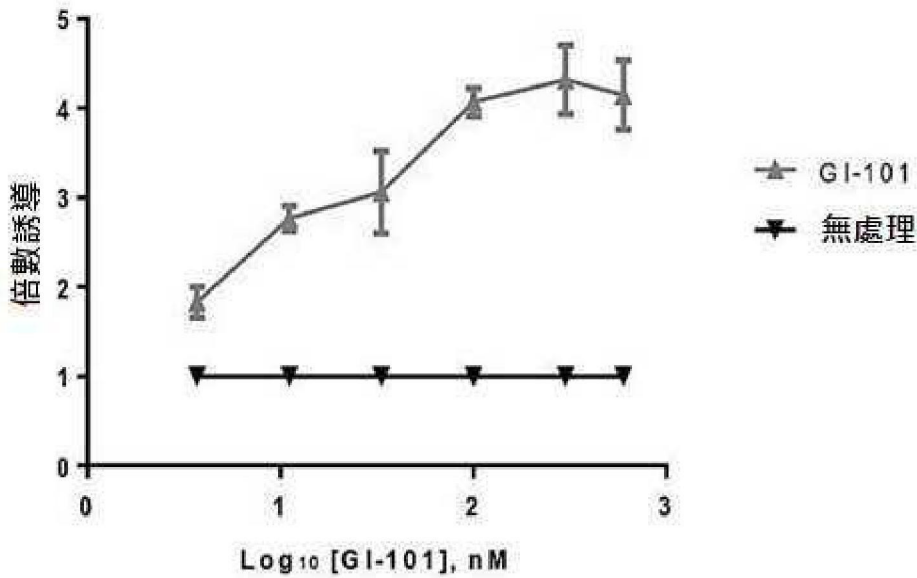
【圖38】



【圖39】

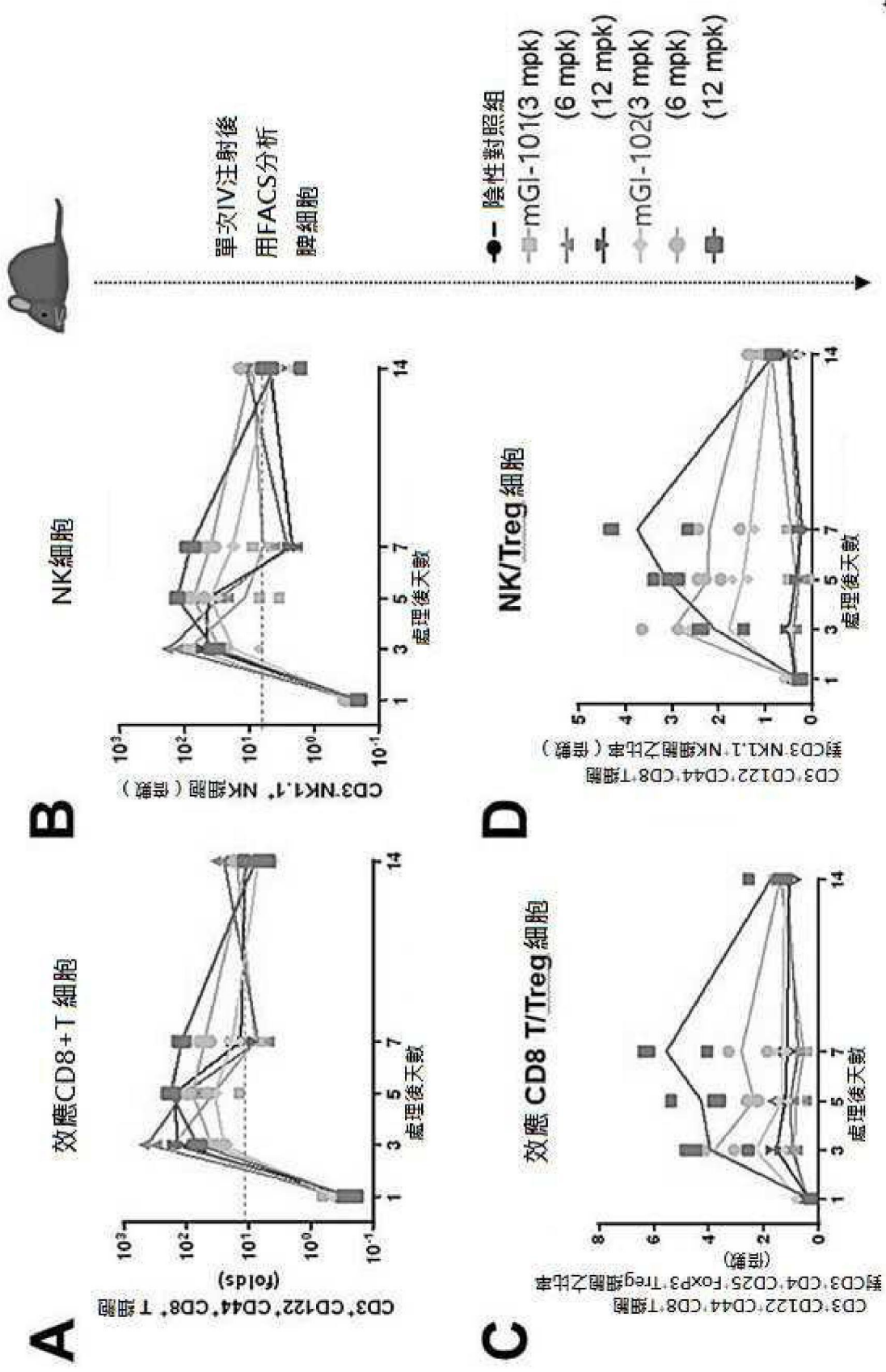


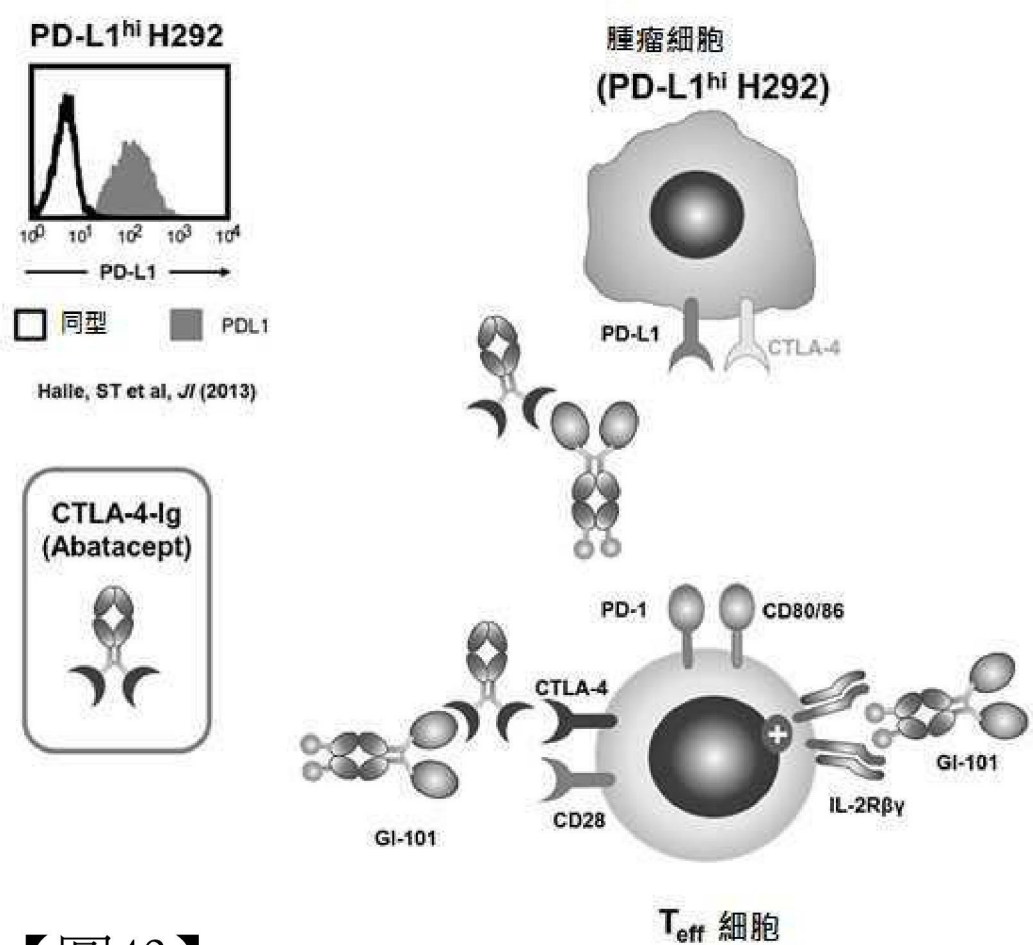
【圖40】



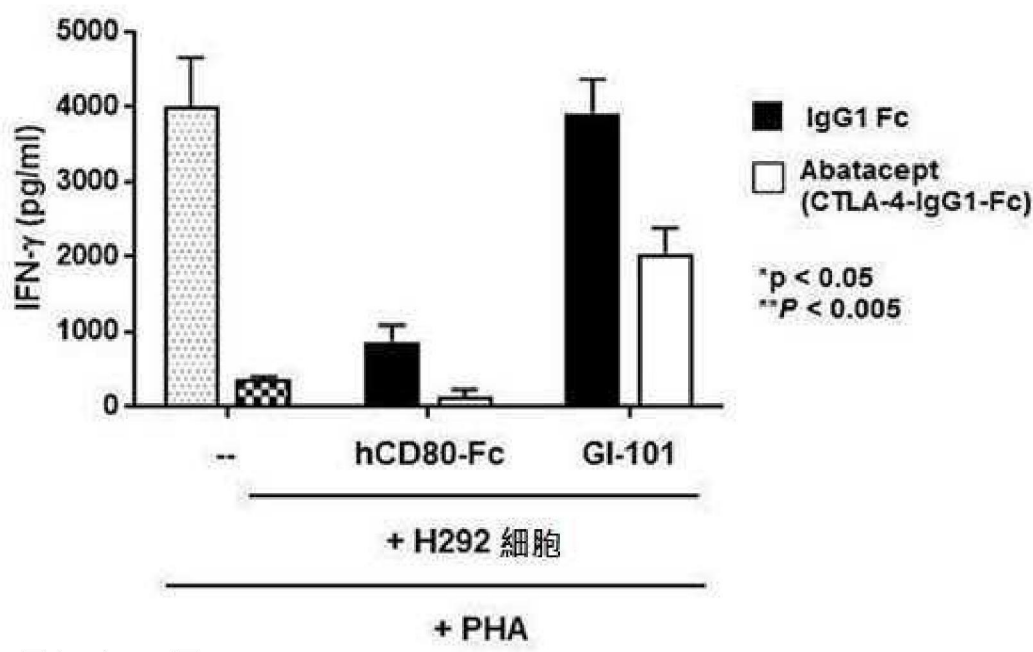
【圖41】

【圖42】

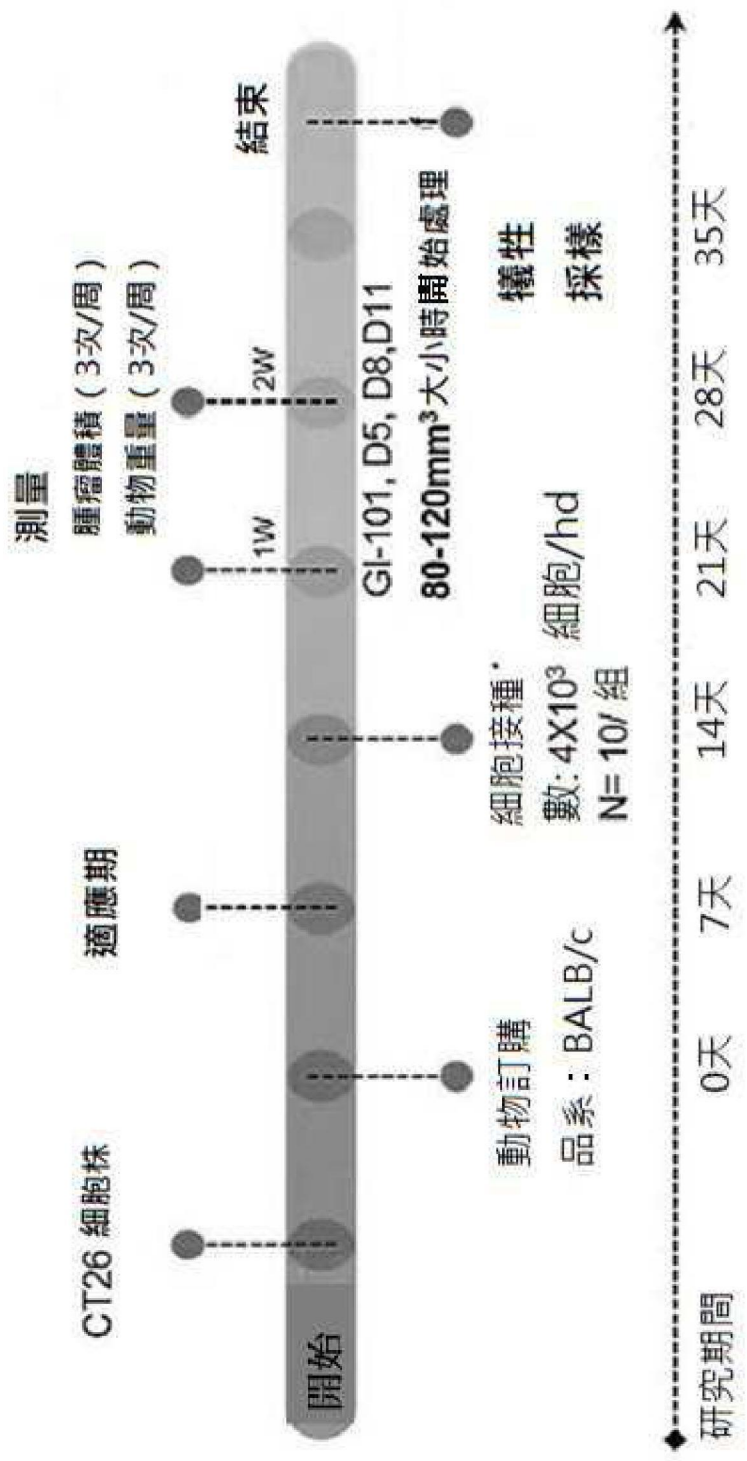




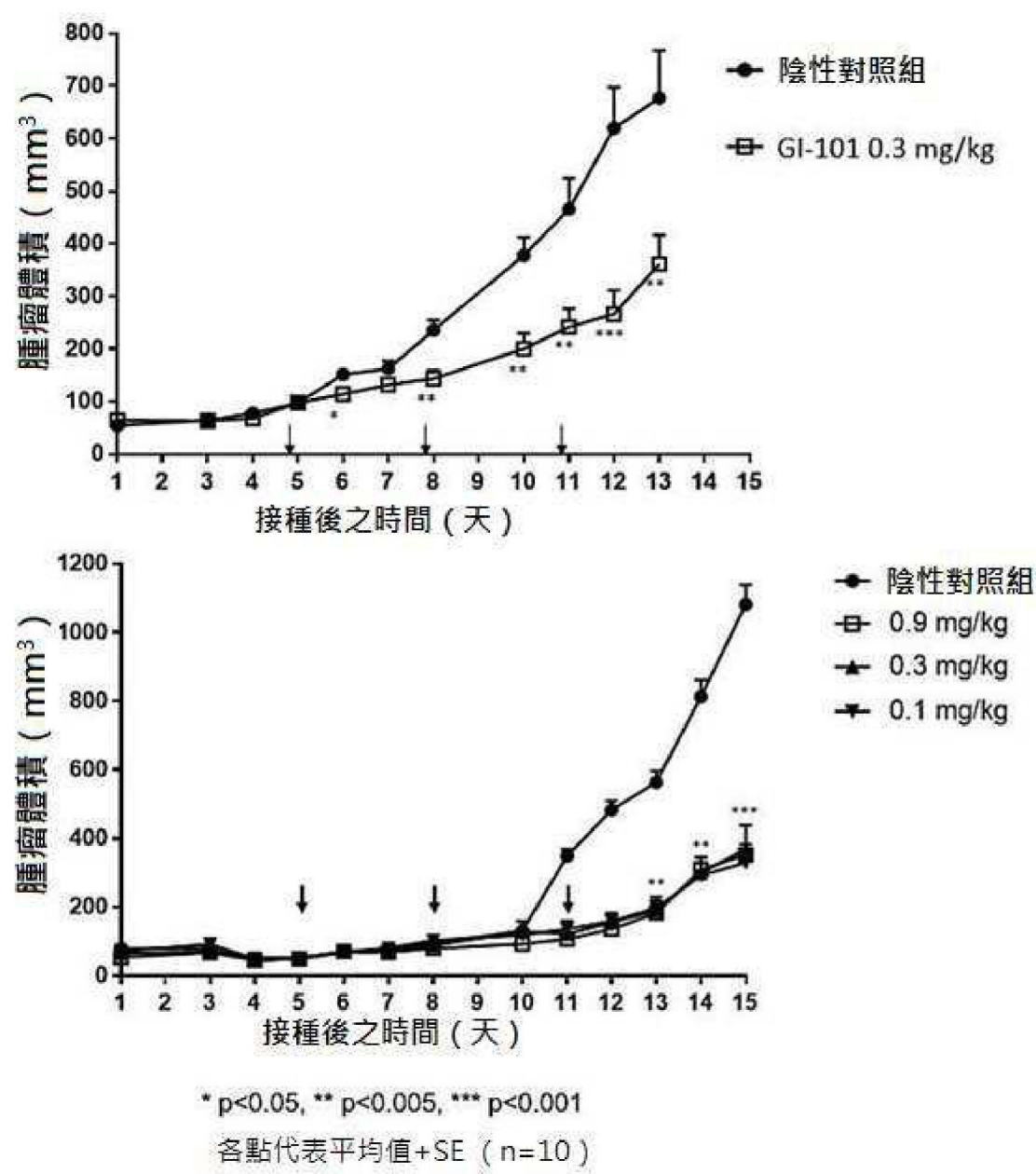
【圖43】



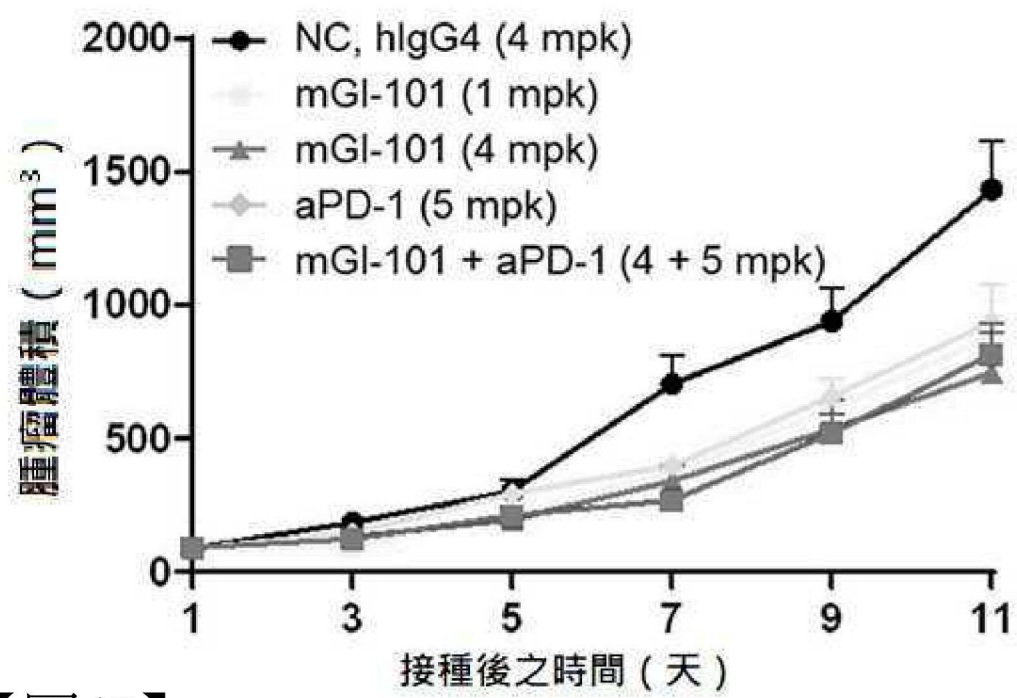
【圖44】



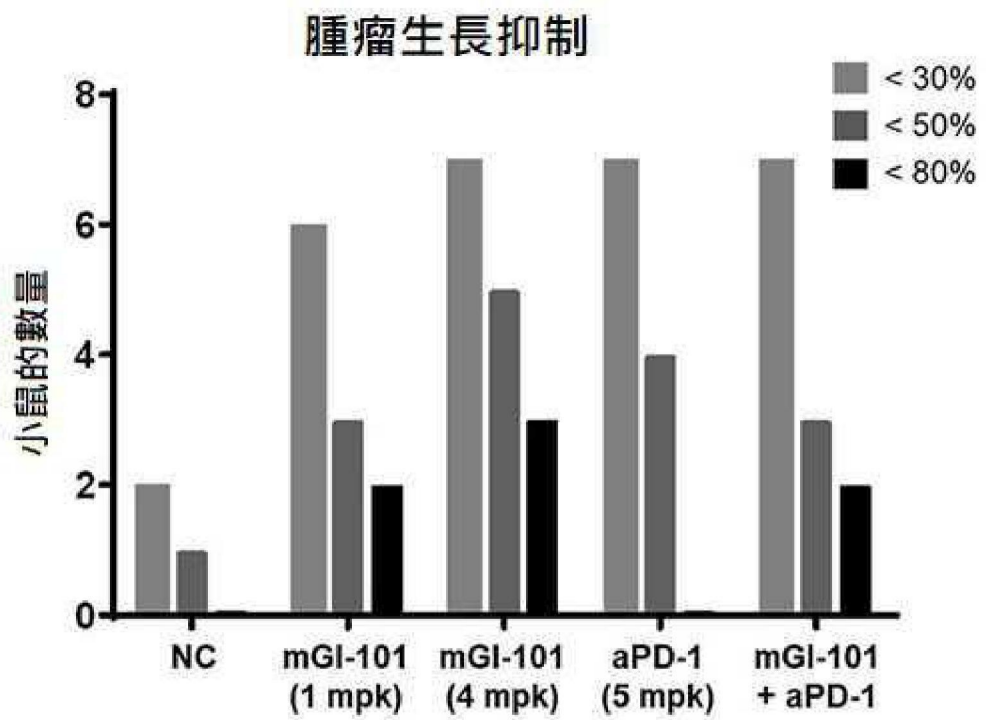
【圖45】



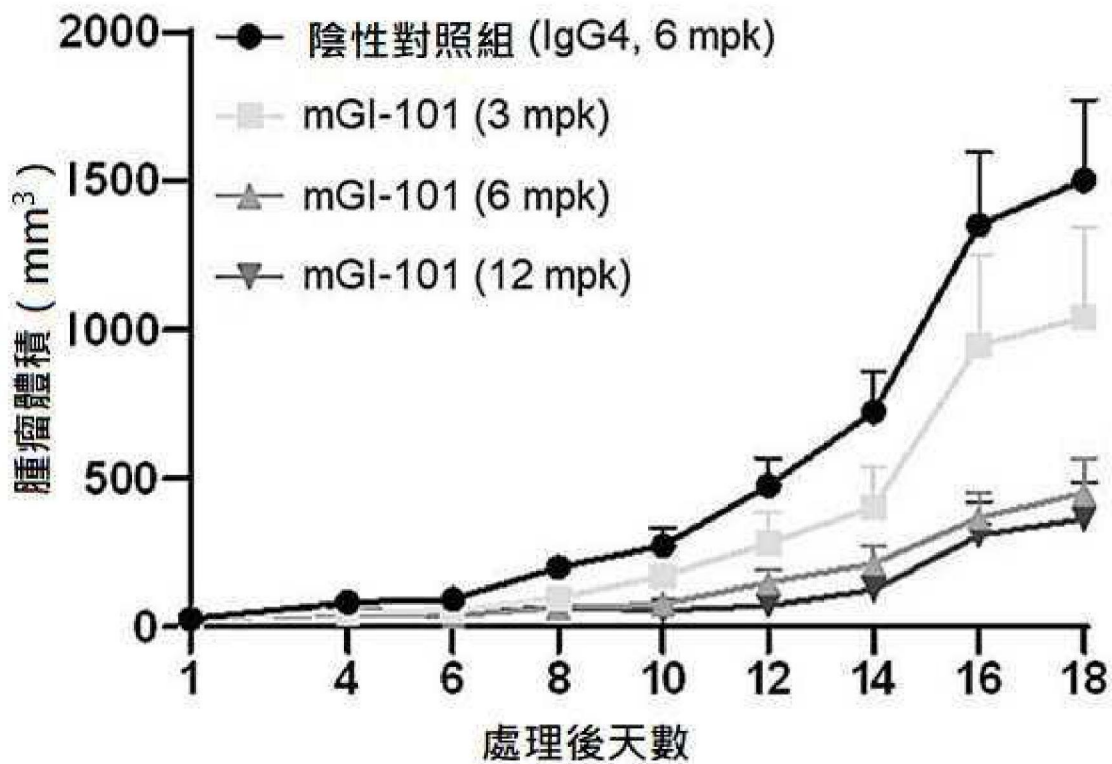
【圖46】



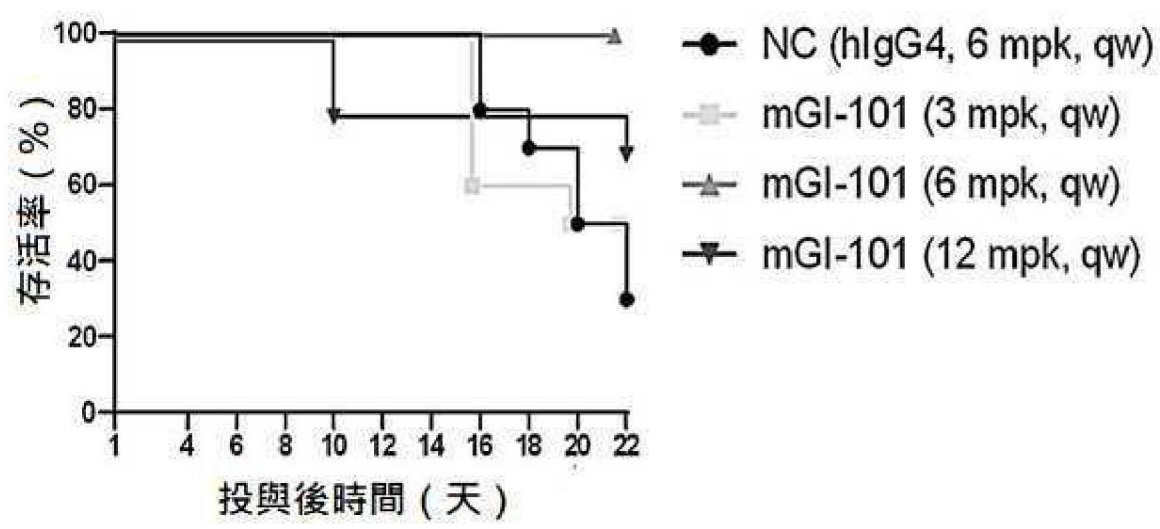
【圖47】



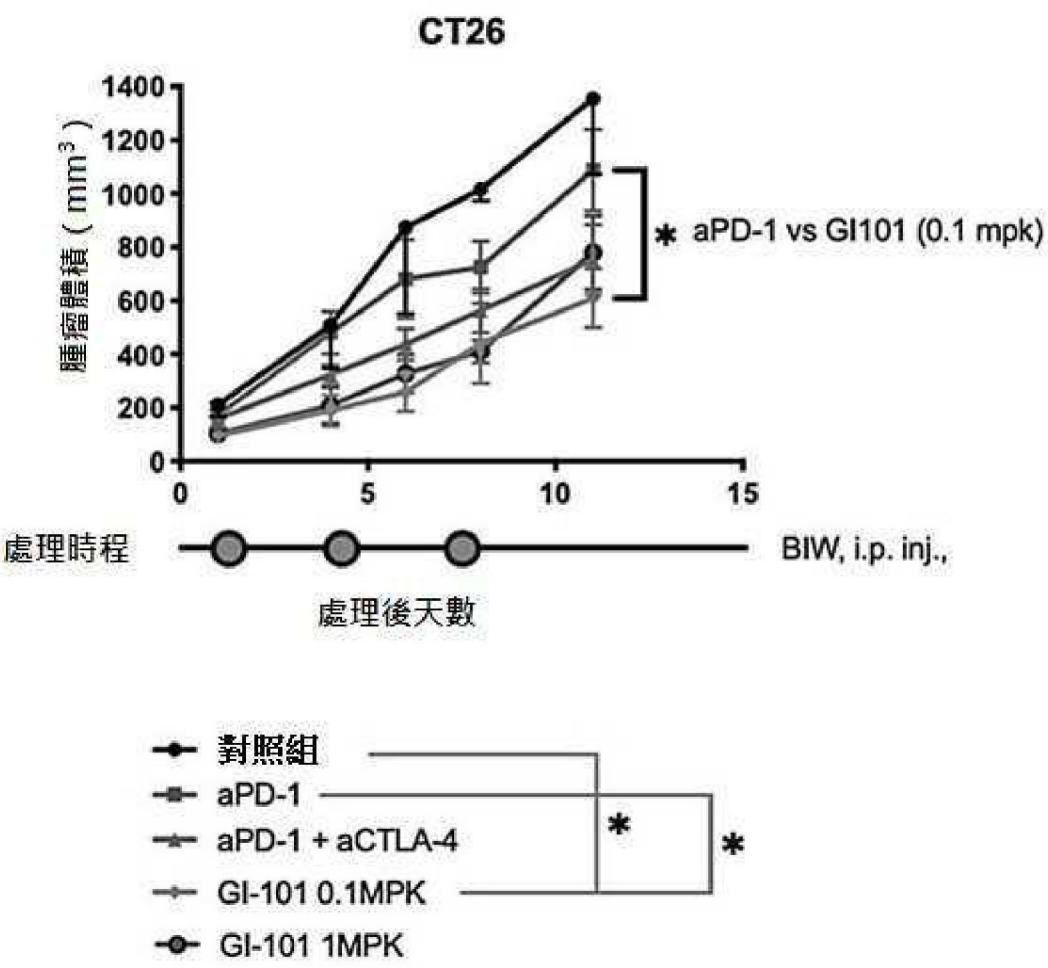
【圖48】



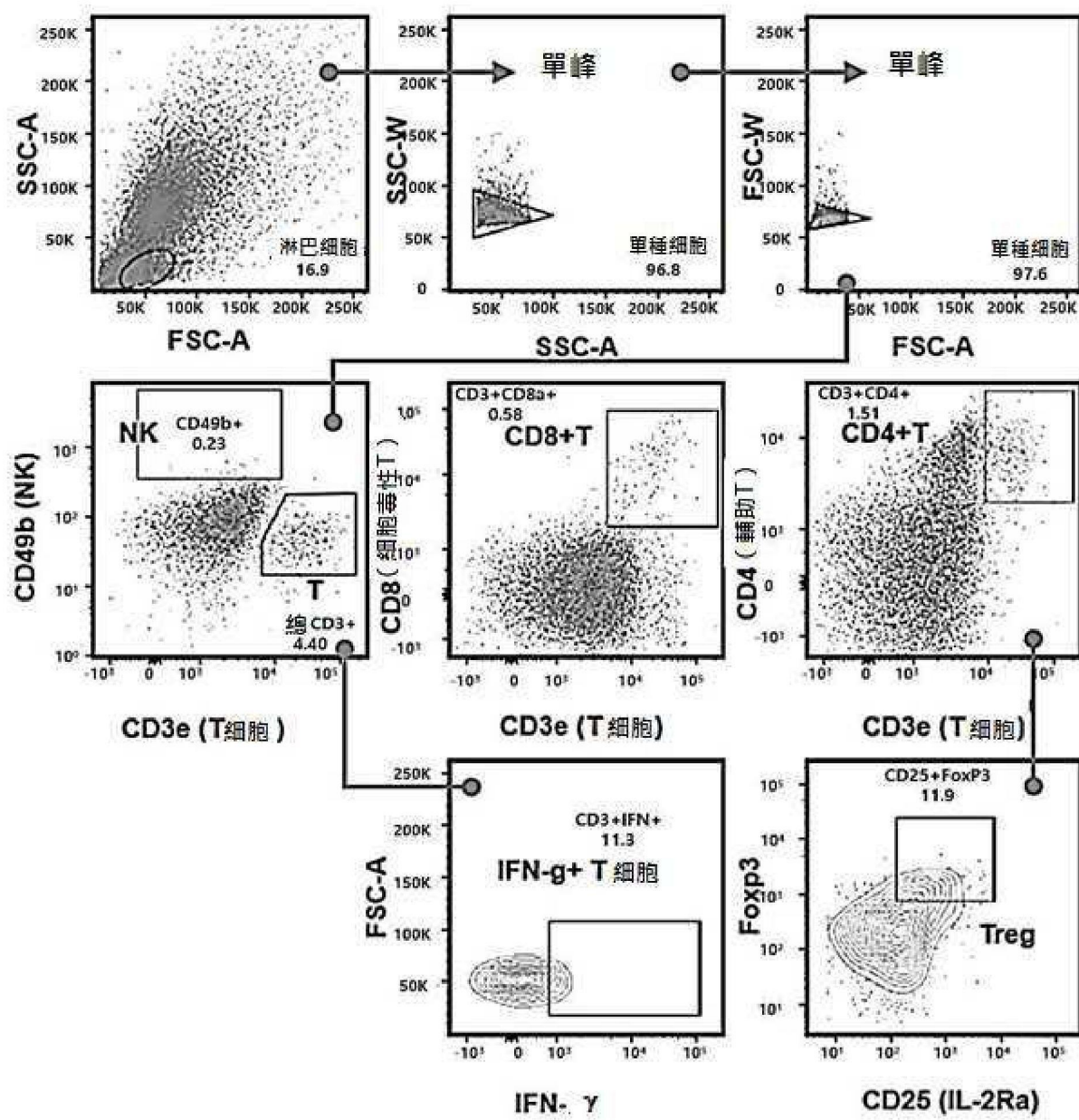
【圖49】



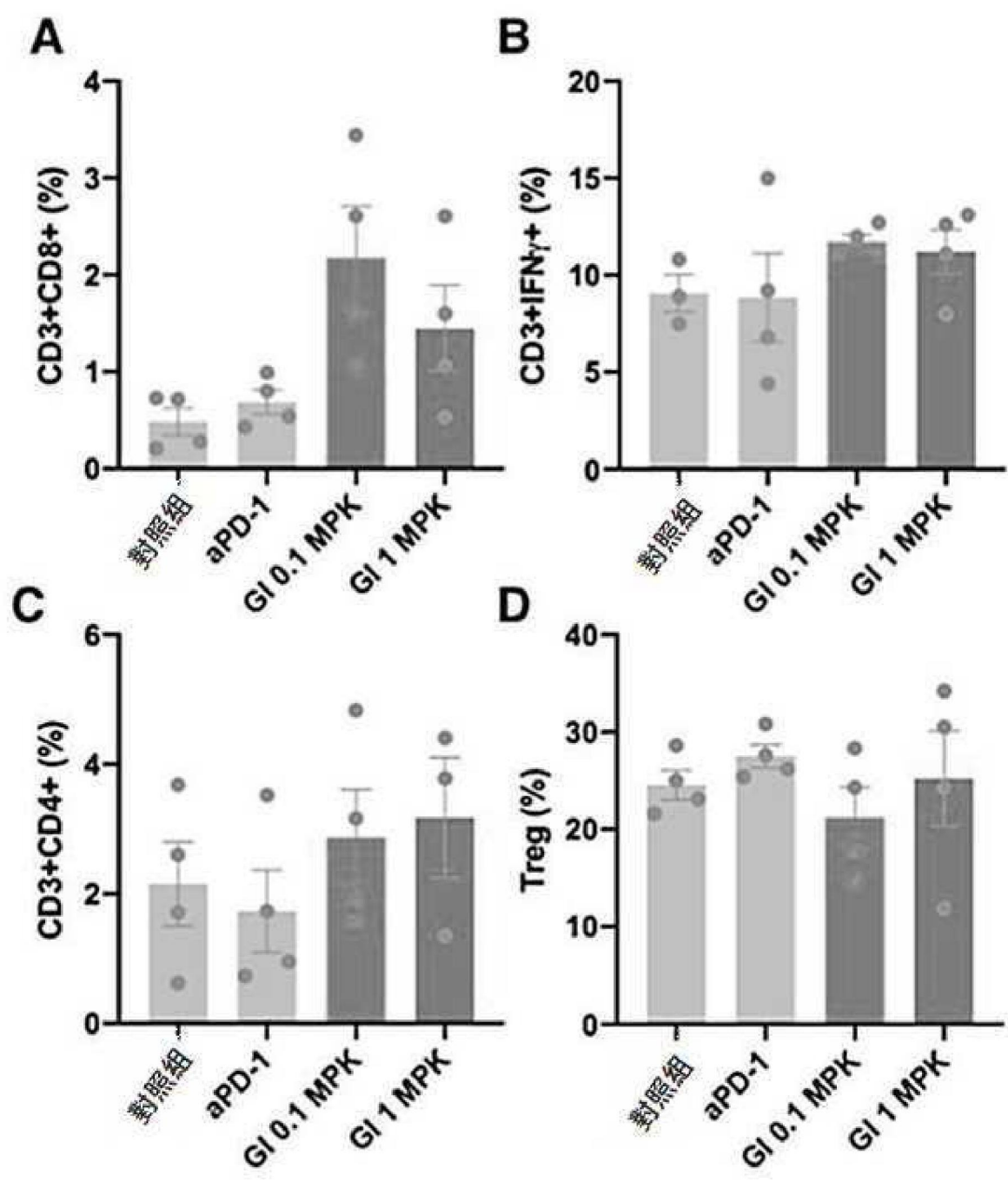
【圖50】



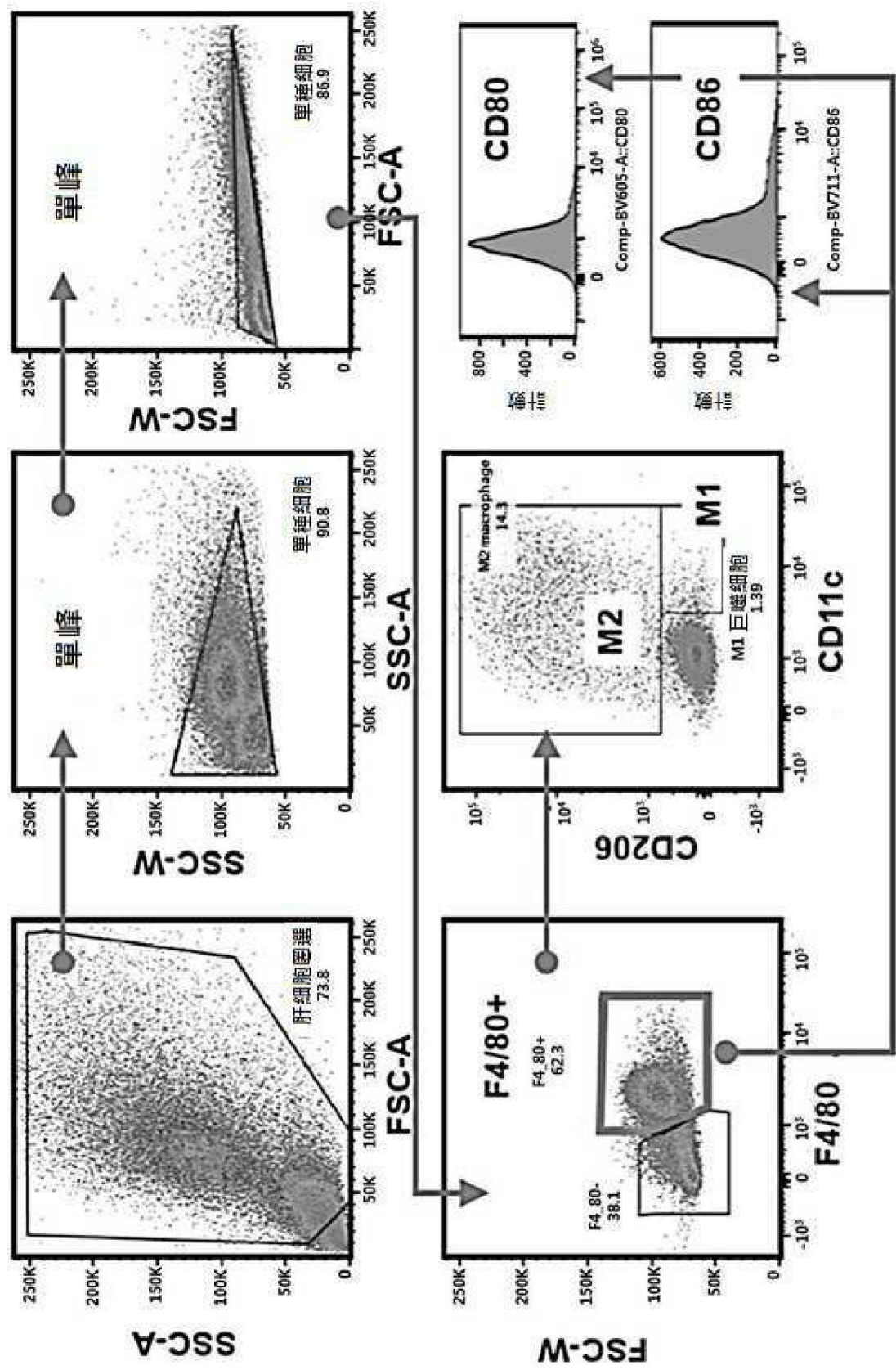
【圖51】



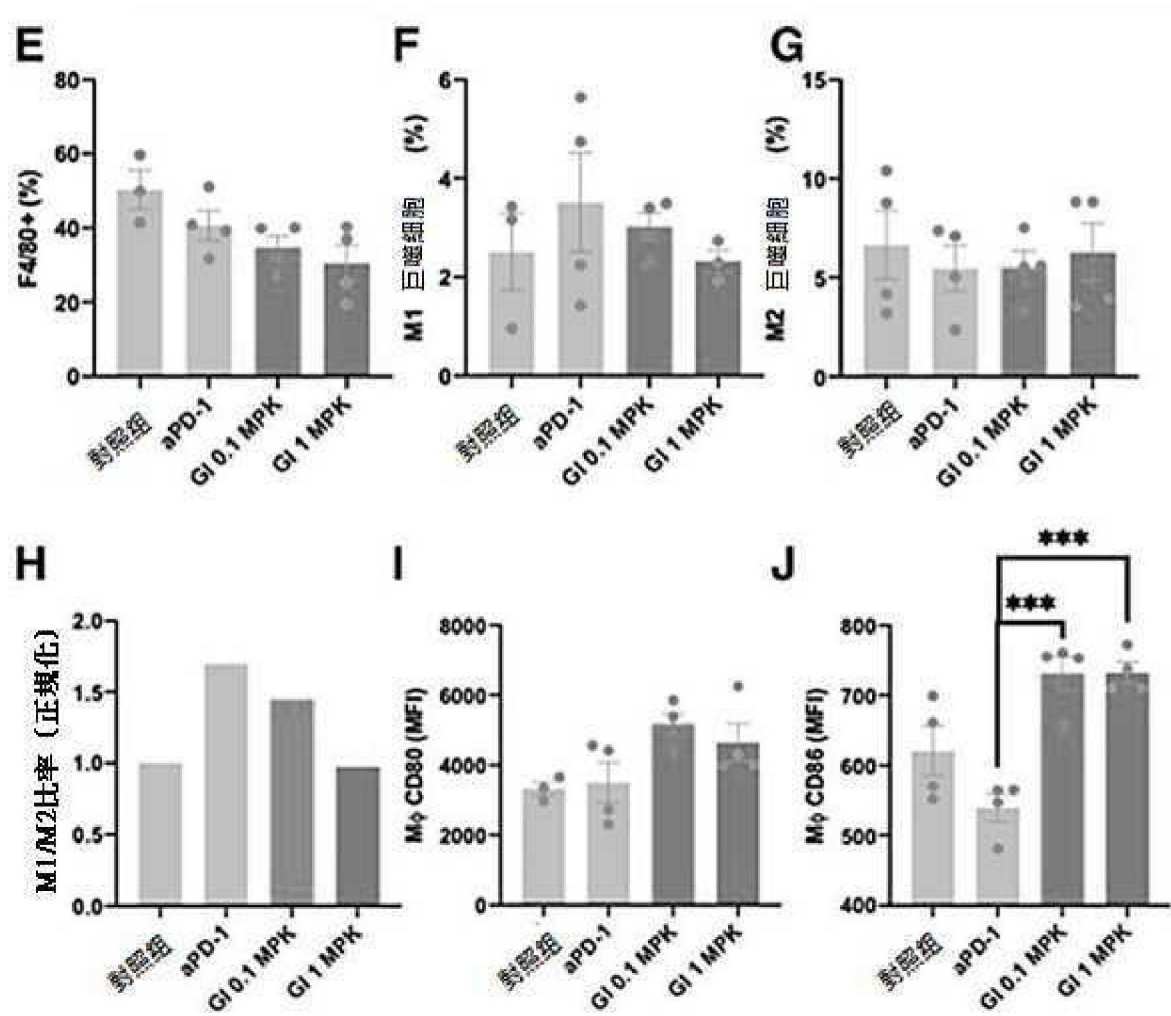
【圖52】



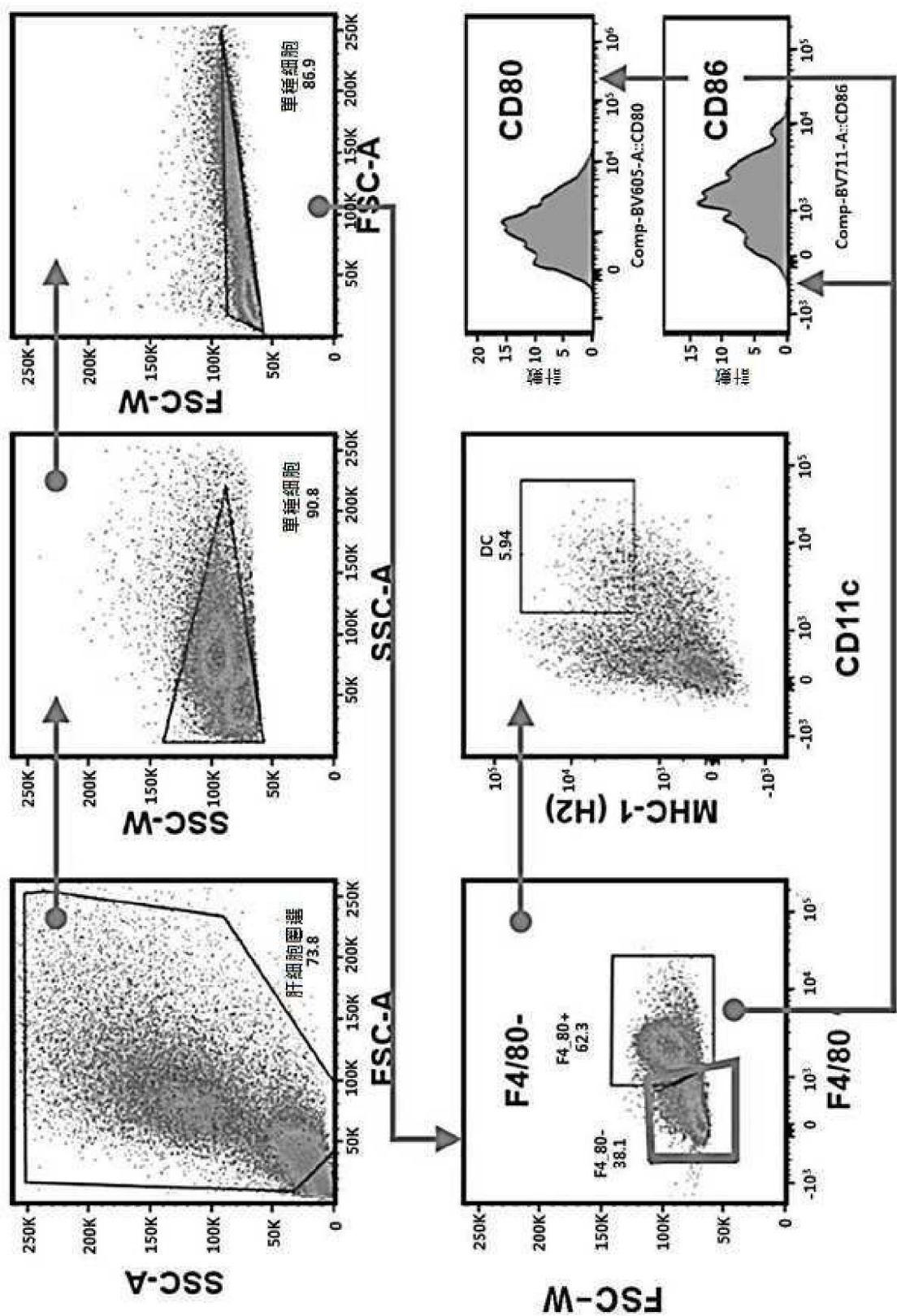
【圖53】



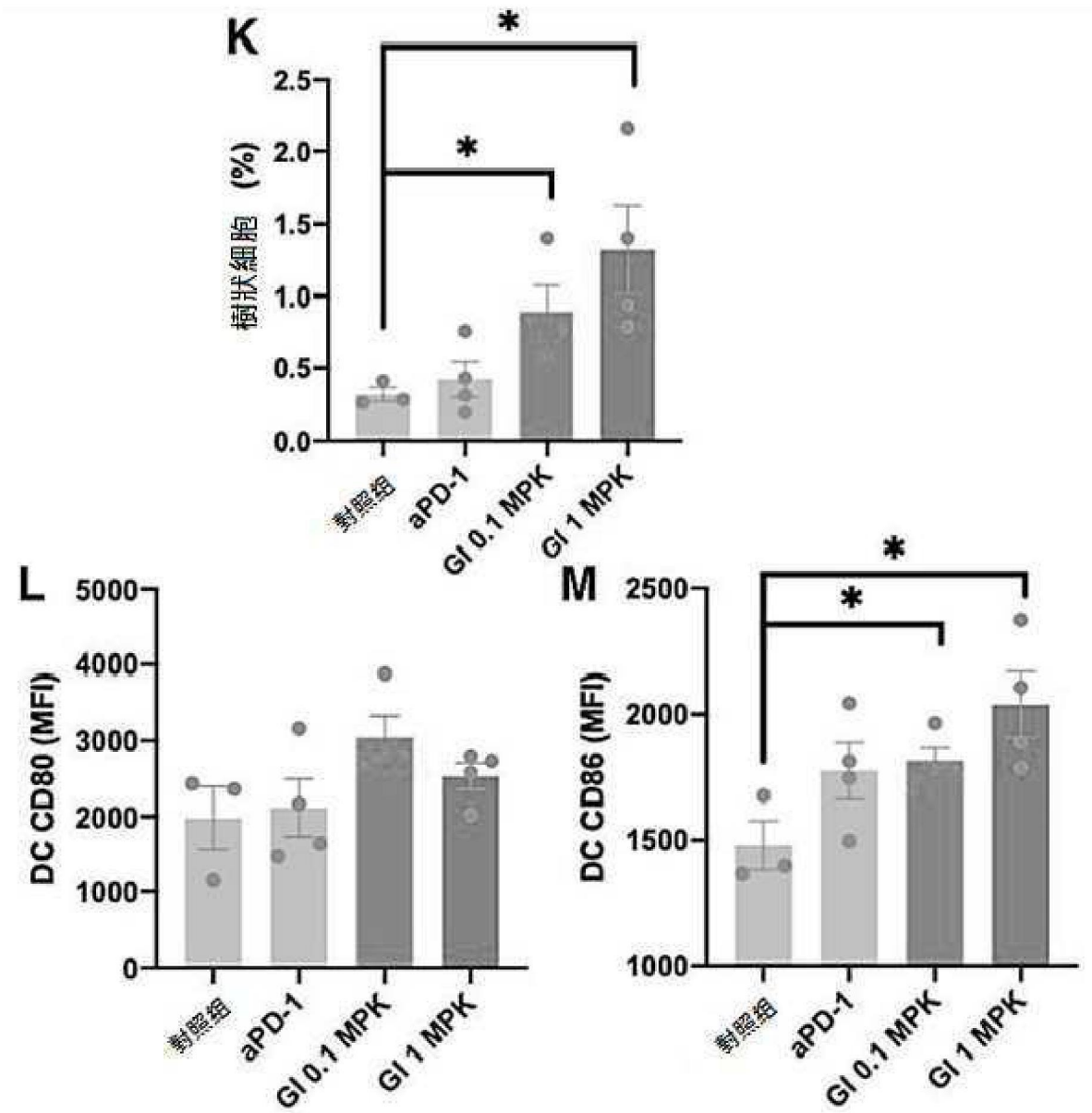
【圖54】



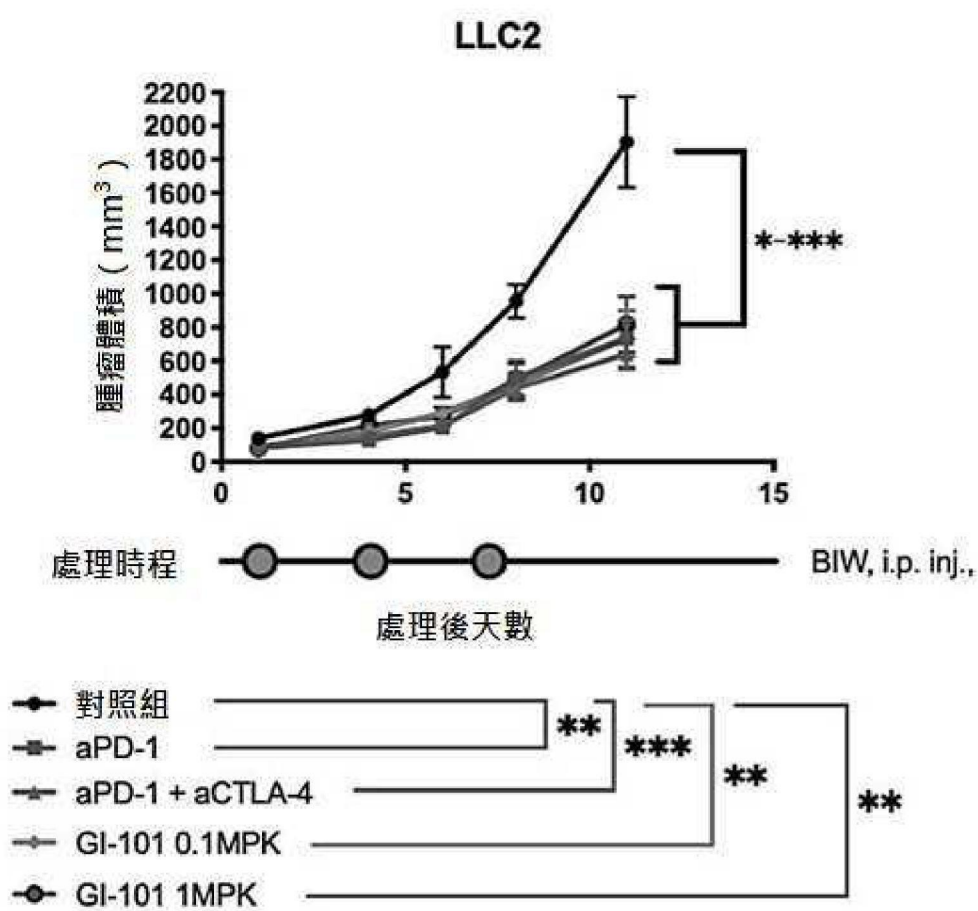
【圖55】



【圖56】

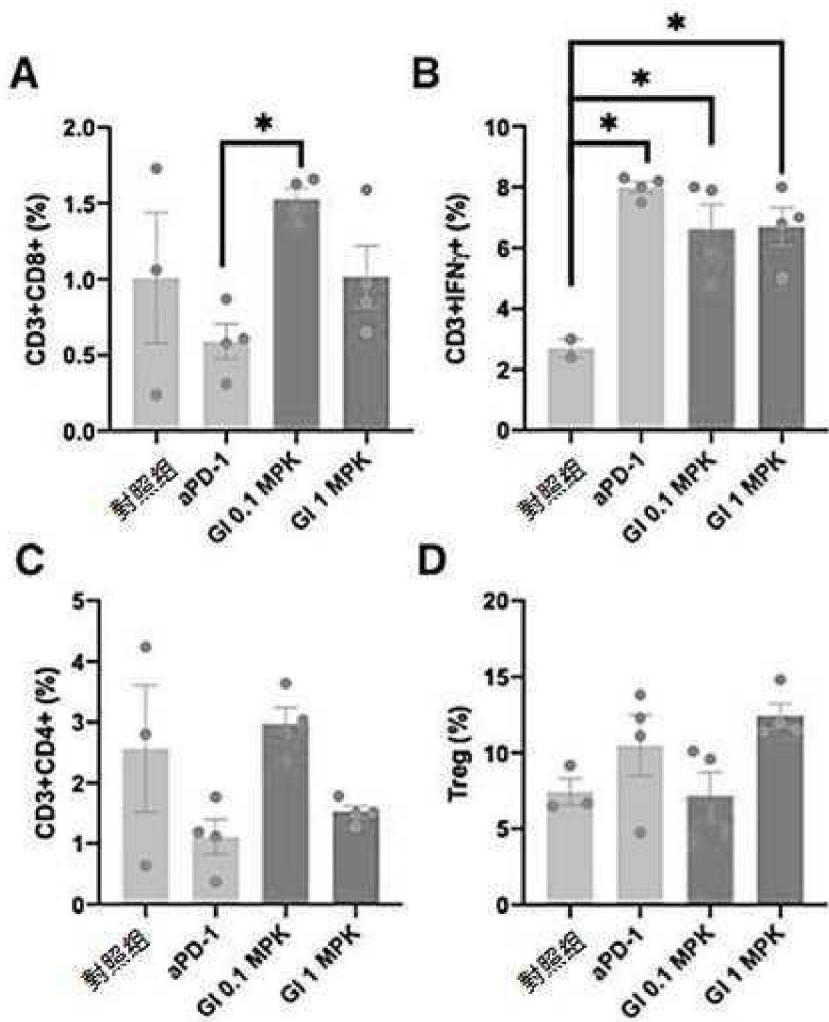


【圖57】

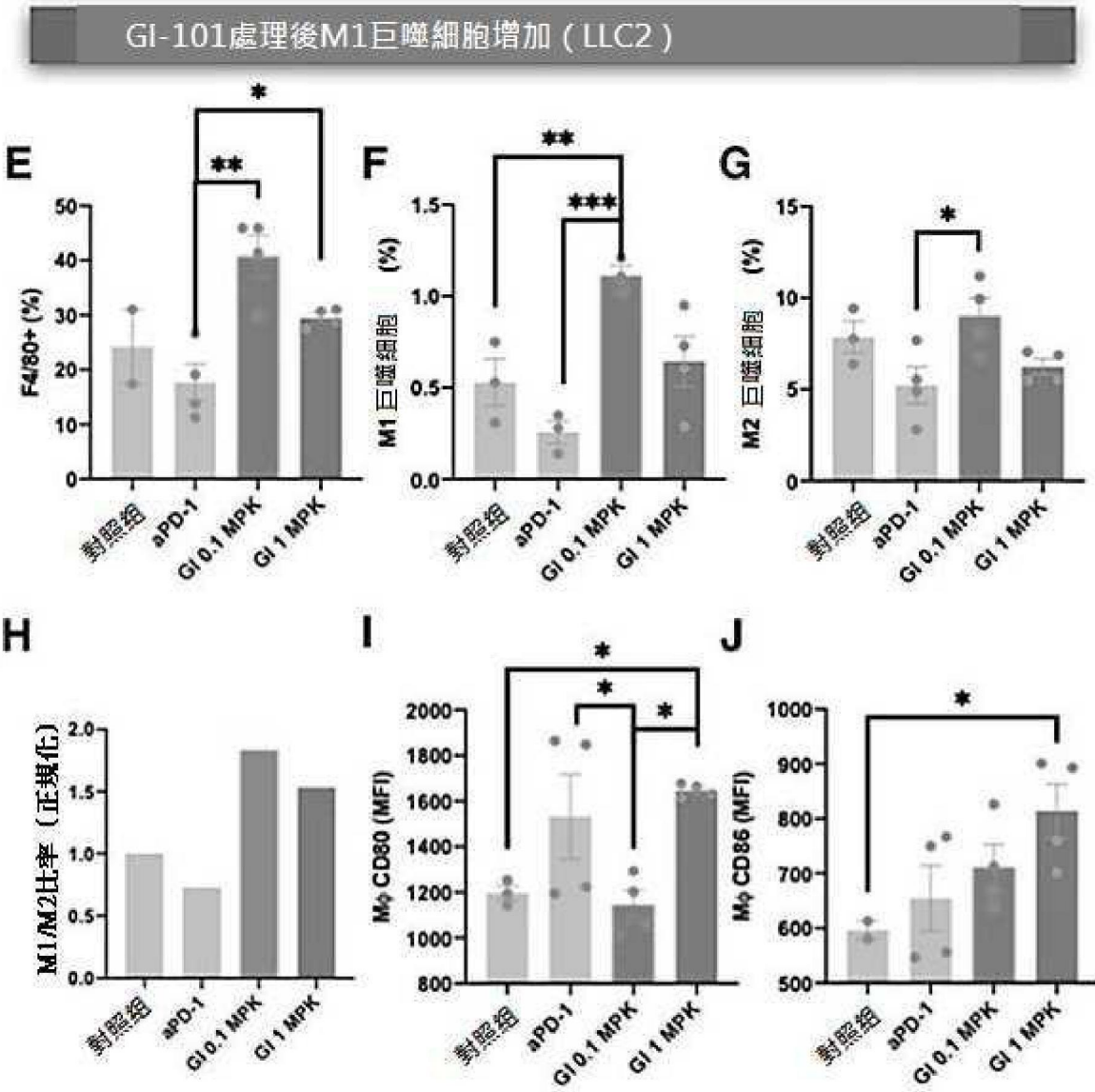


【圖58】

GI-101處理後腫瘤中之IFN- γ 表達T細胞增加,
但調節性T細胞群沒有增加

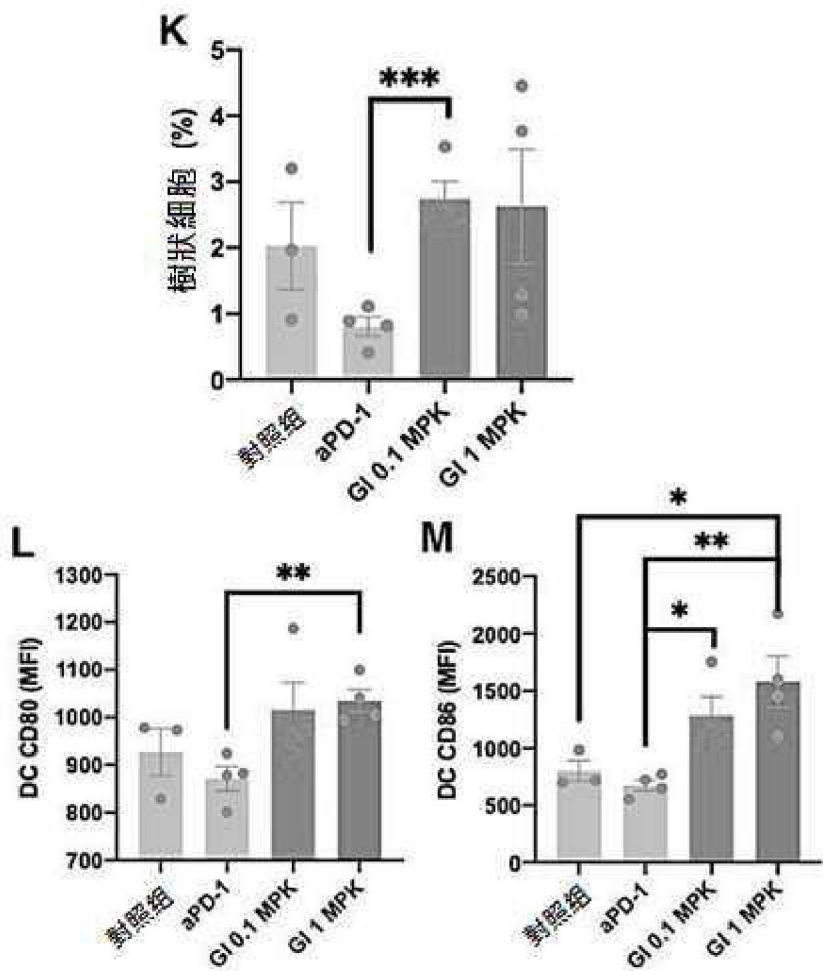


【圖59】

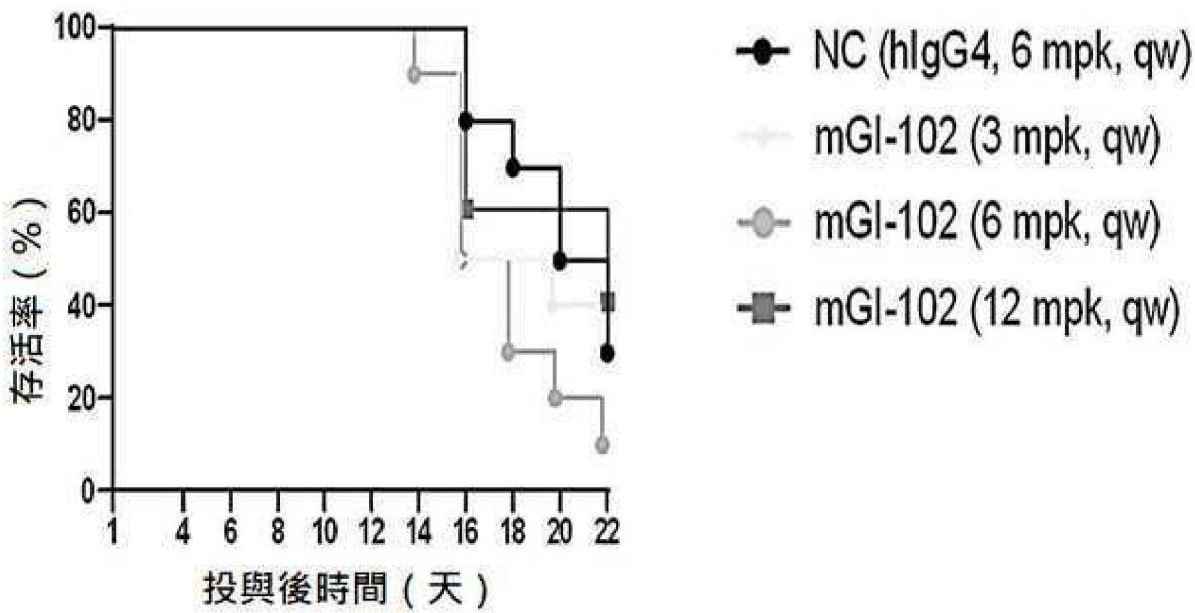
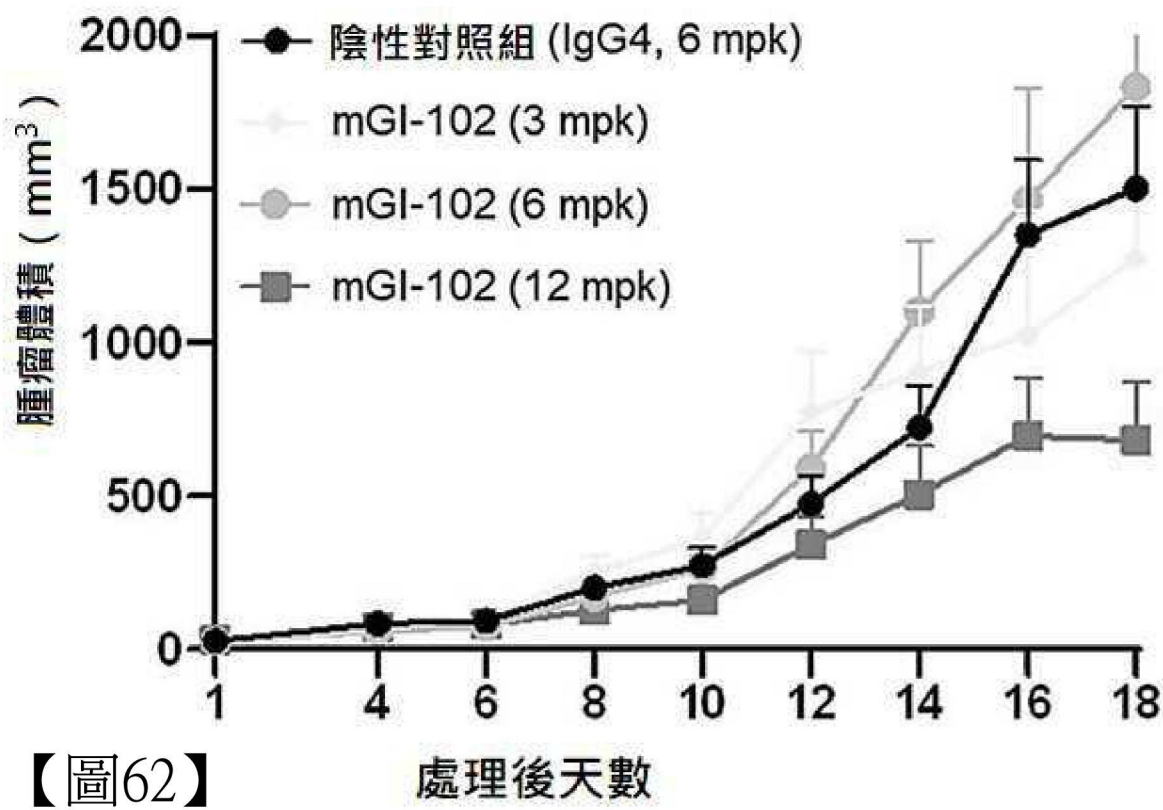


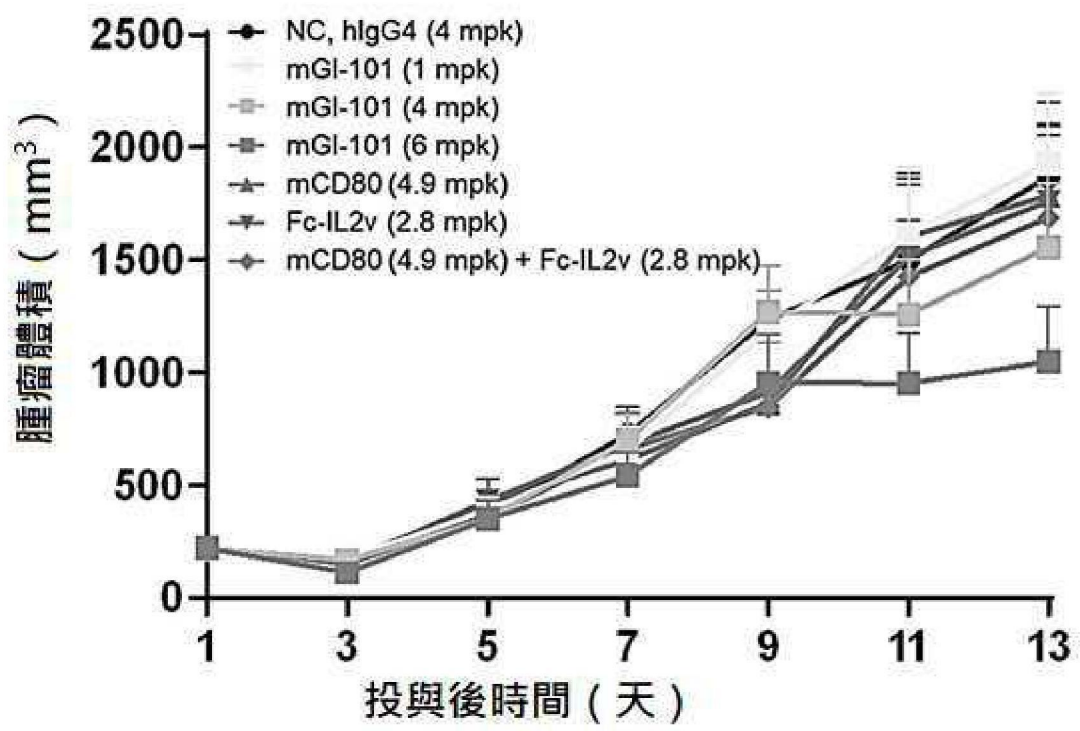
【圖60】

GI-101處理後樹狀細胞群及抗原呈現作用增加 (LLC2)

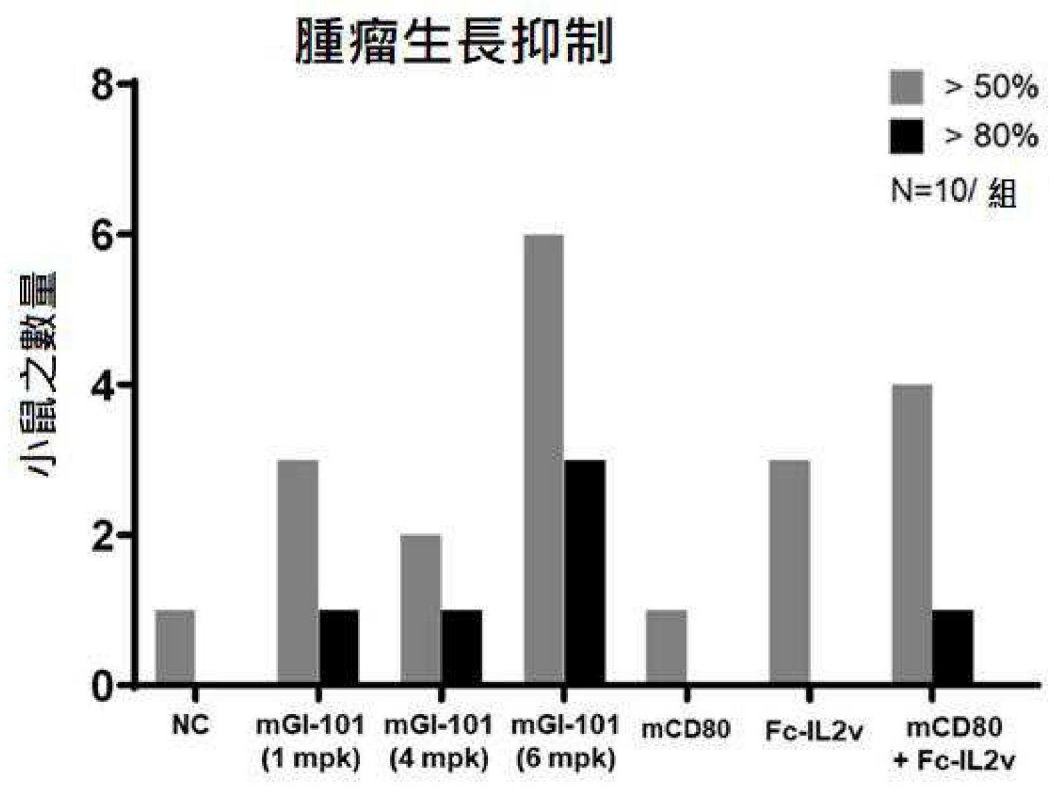


【圖61】





【圖64】



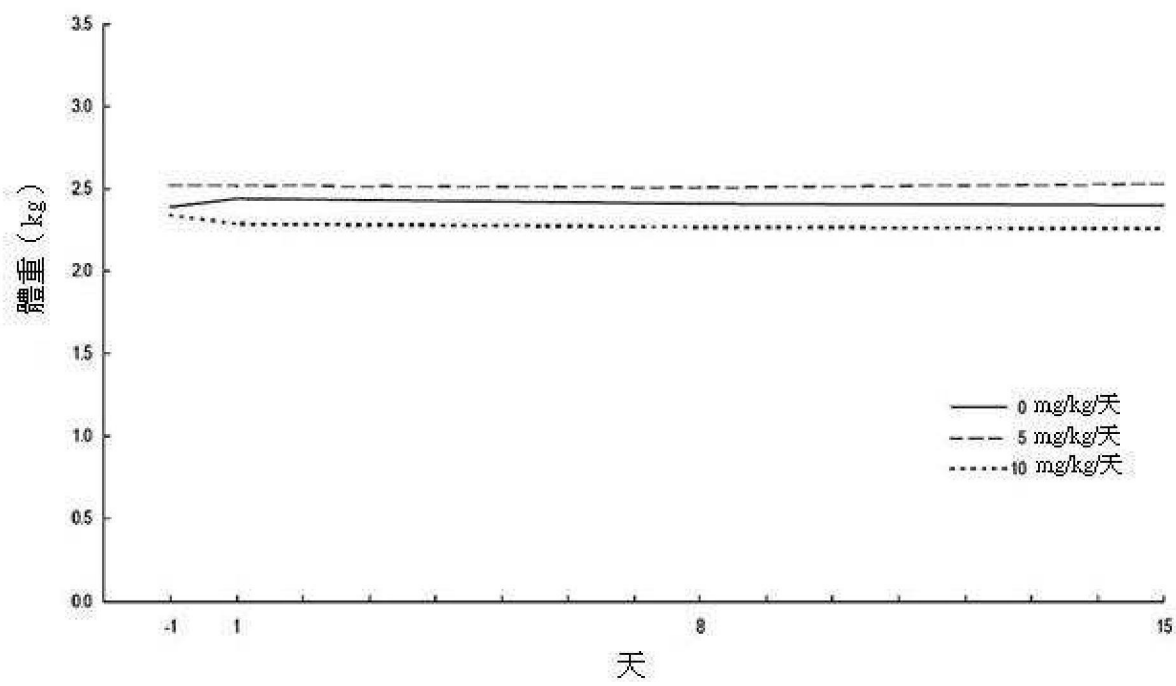
【圖65】

GI-101於食蟹猴中進行為期2周的靜脈投藥毒性研究

表1 臨床觀察

動物組		天																	屍體	
		1		2	3	4	5	6	7	8		9	10	11	12	13	14	剖檢日		
		am	Pre	0.5 h	am	am	am	am	am	Pre	0.5 h	am	am	am	am	am	am		am	
0	mg/kg/天	CJ1M01	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	am	
		CJ1M02	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
		CJ1M03	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
5	mg/kg/天	CJ2M01	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
		CJ2M02	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
		CJ2M03	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
10	mg/kg/天	CJ3M01	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
		CJ3M02	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
		CJ3M03	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	

一般註腳：Pre: 前測 0.5h: 投藥後0.5小時
NA：無臨床或糞便異常



【圖67】

體重 (kg)				
性別:雄性		0 mg/kg/天	5 mg/kg/天	10 mg/kg/天
相對於開始日之天數				
-1	平均值	2.39	2.52	2.34
	S.D.	0.10	0.31	0.16
	N	3	3	3
1	平均值	2.44	2.52	2.29
	S.D.	0.07	0.31	0.16
	N	3	3	3
8	平均值	2.41	2.51	2.27
	S.D.	0.12	0.34	0.08
	N	3	3	3
15	平均值	2.40	2.53	2.26
	S.D.	0.12	0.34	0.11
	N	3	3	3

統計檢定：廣義Anova/Ancova檢定 變換: 恆等（無變換）

【圖68】

GI-101於食蟹猴中進行為期2周的靜脈投藥毒性研究

表3 食物消耗量

性別:雄性		動物														單位 (g/天)
組	編號	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0 mg/kg/天	CJ1M01	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	CJ1M02	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	CJ1M03	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	平均值	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	S.D.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 mg/kg/天	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	CJ2M01	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	CJ2M02	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	CJ2M03	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	平均值	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
10 mg/kg/天	S.D.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	CJ3M01	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	CJ3M02	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	CJ3M03	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
10 mg/kg/天	平均值	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	S.D.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

性別:雄性			0	5	10
			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
相對於開始日之天數					
%Retic. (%)	-2	平均值	0.75	1.40	0.93
		S.D.	0.07	0.52	0.30
		N	3	3	3
	15	平均值	1.67	3.10 d ^a	3.14 d ^a
		S.D.	0.61	0.55	0.32
		N	3	3	3
#Retic (10 ⁹ /L)	-2	平均值	44.0	81.9	55.1
		S.D.	7.0	28.4	19.7
		N	3	3	3
	15	平均值	91.5	171.6 d ^a	161.5 d ^a
		S.D.	33.6	32.3	17.2
		N	3	3	3
PLT (10 ³ /μL)	-2	平均值	404	380	380
		S.D.	25	90	28
		N	3	3	3
	15	平均值	501	522	601
		S.D.	29	135	85
		N	3	3	3

【圖70】

性別:雄性			0	5	10
			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
相對於開始日之天數					
WBC (10 ³ /μL)	-2	平均值	10.59	8.18	8.29
		S.D.	1.63	1.43	2.11
		N	3	3	3
	15	平均值	8.09	12.08	16.52
		S.D.	0.25	0.74	6.81
		N	3	3	3
%Neut (%)	-2	平均值	38.1	23.1	23.6
		S.D.	23.2	3.2	13.1
		N	3	3	3
	15	平均值	35.9	14.5	22.4
		S.D.	14.3	2.1	14.2
		N	3	3	3
%Lymph (%)	-2	平均值	57.7	71.6	69.8
		S.D.	21.7	2.8	13.7
		N	3	3	3
	15	平均值	59.6	81.2	69.5
		S.D.	13.1	1.4	15.0
		N	3	3	3

【圖71】

性別：雄性			0	5	10
			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
相對於開始日之天數					
#Neut (10 ³ /μL)	-2	平均值	4.24	1.86	1.77
		S.D.	3.09	0.22	0.52
		N	3	3	3
	15	平均值	2.93	1.76	3.11
		S.D.	1.26	0.35	0.63
		N	3	3	3
#Lymph (10 ³ /μL)	-2	平均值	5.92	5.87	5.98
		S.D.	1.78	1.24	2.54
		N	3	3	3
	15	平均值	4.80	9.80	12.05
		S.D.	0.94	0.48	6.47
		N	3	3	3
#Mono (10 ³ /μL)	-2	平均值	0.36	0.37	0.45
		S.D.	0.10	0.09	0.08
		N	3	3	3
	15	平均值	0.32	0.33	0.77 d'
		S.D.	0.11	0.06	0.26
		N	3	3	3

【圖72】

性別：雄性			0	5	10
			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
相對於開始日之天數					
AST (U/L)	-2	平均值	36	45	30
		S.D.	19	21	7
		N	3	3	3
	15	平均值	24	34	33
		S.D.	5	5	8
		N	3	3	3
ALT (U/L)	-2	平均值	58	72	34
		S.D.	51	71	8
		N	3	3	3
	15	平均值	34	52	36
		S.D.	6	44	5
		N	3	3	3
ALP (U/L)	-2	平均值	1511	1658	1972
		S.D.	542	258	357
		N	3	3	3
	15	平均值	1395	1444	1565
		S.D.	365	346	235
		N	3	3	3

【圖73】

性別：雄性			0	5	10
相對於開始日之天數			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
LD (U/L)	-2	平均值	255	289	292
		S.D.	6	57	47
		N	3	3	3
	15	平均值	236	304	361 dd'
		S.D.	15	47	38
		N	3	3	3
CK (U/L)	-2	平均值	132	140	182
		S.D.	23	4	61
		N	3	3	3
	15	平均值	120	128	140
		S.D.	31	19	23
		N	3	3	3
GLU (mg/dL)	-2	平均值	98	91	112
		S.D.	17	4	15
		N	3	3	3
	15	平均值	87	88	104
		S.D.	9	17	5
		N	3	3	3

【圖74】

性別：雄性			0	5	10
相對於開始日之天數			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
BIL (mg/dL)	-2	平均值	0.10	0.15 d'	0.10
		S.D.	0.02	0.03	0.01
		N	3	3	3
	15	平均值	0.11	0.15	0.10
		S.D.	0.04	0.03	0.03
		N	3	3	3
UN (mg/dL)	-2	平均值	19.1	15.4	18.8
		S.D.	7.2	2.3	4.5
		N	3	3	3
	15	平均值	16.2	13.9	14.2
		S.D.	5.6	0.7	2.4
		N	3	3	3
CRE (mg/dL)	-2	平均值	0.73	0.69	0.73
		S.D.	0.07	0.17	0.10
		N	3	3	3
	15	平均值	0.72	0.66	0.65
		S.D.	0.06	0.13	0.11
		N	3	3	3

【圖75】

性別：雄性			0 mg/kg/天	5 mg/kg/天	10 mg/kg/天
相對於開始日之天數					
CHO (mg/dL)	-2	平均值	109	162	147
		S.D.	23	59	47
		N	3	3	3
	15	平均值	108	159	143
		S.D.	24	46	34
		N	3	3	3
TG (mg/dL)	-2	平均值	44	27	40
		S.D.	24	12	2
		N	3	3	3
	15	平均值	35	29	34
		S.D.	2	14	14
		N	3	3	3
PL (mg/dL)	-2	平均值	180	236	220
		S.D.	48	43	65
		N	3	3	3
	15	平均值	164	216	195
		S.D.	31	52	40
		N	3	3	3

【圖76】

性別：雄性			0 mg/kg/天	5 mg/kg/天	10 mg/kg/天
相對於開始日之天數					
IP (mg/dL)	-2	平均值	5.16	5.14	5.00
		S.D.	1.16	0.91	0.90
		N	3	3	3
	15	平均值	5.52	5.94	5.66
		S.D.	0.61	0.61	0.94
		N	3	3	3
CA (mg/dL)	-2	平均值	9.63	9.82	9.79
		S.D.	0.59	0.55	0.19
		N	3	3	3
	15	平均值	9.45	9.48	9.31
		S.D.	0.57	0.25	0.03
		N	3	3	3
NA (mEq/L)	-2	平均值	152.8	154.5	153.9
		S.D.	2.4	4.2	2.5
		N	3	3	3
	15	平均值	151.8	153.5	153.4
		S.D.	3.3	2.0	3.3
		N	3	3	3

【圖77】

性別：雄性			0	5	10
			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
相對於開始日之天數					
K (mEq/L)	-2	平均值	4.28	4.17	3.90
		S.D.	0.69	0.29	0.40
		N	3	3	3
	15	平均值	3.99	4.09	3.85
		S.D.	0.50	0.18	0.14
		N	3	3	3
CL (mEq/L)	-2	平均值	112.3	111.1	110.7
		S.D.	2.2	3.9	2.6
		N	3	3	3
	15	平均值	111.5	109.6	110.2
		S.D.	0.7	3.7	2.8
		N	3	3	3
TP (g/dL)	-2	平均值	7.20	7.36	7.53
		S.D.	0.59	0.42	0.22
		N	3	3	3
	15	平均值	6.99	7.22	7.30
		S.D.	0.62	0.37	0.11
		N	3	3	3

【圖78】

性別：雄性			0	5	10
			mg/kg/天	mg/kg/天	mg/kg/天
相對於開始日之天數					
ALB (g/dL)	-2	平均值	4.18	4.11	4.14
		S.D.	0.34	0.46	0.19
		N	3	3	3
	15	平均值	4.09	3.98	3.88
		S.D.	0.36	0.47	0.17
		N	3	3	3
A/G	-2	平均值	1.39	1.27	1.22
		S.D.	0.06	0.19	0.04
		N	3	3	3
	15	平均值	1.41	1.24	1.13
		S.D.	0.04	0.22	0.07
		N	3	3	3

【圖79】

【圖80】

性別:雄性

動物		腫瘤壞死因子- α (pg/mL)			干擾素- γ (pg/mL)			介白素-1 β (pg/mL)			介白素-2 (pg/mL)			介白素-4 (pg/mL)			
組	編號	測試前	第3天	第8天	第15天	測試前	第3天	第8天	第15天	測試前	第3天	第8天	第15天	測試前	第3天	第8天	第15天
0 mg/kg/天	CJ1M01	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ1M02	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ1M03	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Mean	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	S.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 mg/kg/天	CJ2M01	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ2M02	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ2M03	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Mean	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	S.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 mg/kg/天	CJ3M01	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	5.51	4.60	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ3M02	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ3M03	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Mean	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	9.13	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	S.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

一般註腳: 第8天: 投藥前

BLQ : 低於定量下限 (介白素-4 4.9 pg/mL 其它 2.4pg/mL)

當3隻動物中有1隻的血漿濃度為BLQ時, 計算 剩下2隻動物的平均值

當3隻動物中有2隻的血漿濃度為BLQ時, 平均值視為N.C.

N.C.: 不計算

性別:雄性		第8天											
組	動物 編號	介白素-6 (pg/mL)				介白素-8 (pg/mL)				介白素-10 (pg/mL)			
		測試前	第3天	第8天	第15天	測試前	第3天	第8天	第15天	測試前	第3天	第8天	第15天
0 mg/kg/天	CJ1W01	BLQ	2.95	BLQ	3.34	4047.41	4861.65	7894.37	6783.89	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ1W02	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	3418.18	1382.07	6035.41	4096.95	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ1W03	BLQ	2.78	BLQ	BLQ	809.60	905.96	972.78	981.31	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	平均值	N.C.	2.87	N.C.	N.C.	2758.40	2383.23	4967.52	3954.05	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
5 mg/kg/天	CJ2W01	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	4800.40	3355.74	5986.48	5511.93	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ2W02	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	2633.61	2388.95	4778.15	5266.00	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	CJ2W03	BLQ	2.91	BLQ	BLQ	7482.97	6571.61	9663.74	8892.13	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	平均值	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	4972.33	4105.43	6809.46	6556.69	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
10 mg/kg/天	CJ3W01	BLQ	5.26	BLQ	BLQ	8312.98	2753.66	7101.75	8973.45	BLQ	19.41	BLQ	BLQ
	CJ3W02	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	7136.73	2722.78	9985.51	9298.79	BLQ	108.34	BLQ	BLQ
	CJ3W03	BLQ	2.41	BLQ	BLQ	5832.12	4900.91	8873.95	9812.62	BLQ	39.40	BLQ	BLQ
	平均值	N.C.	3.84	N.C.	N.C.	7093.94	3459.12	8653.74	9361.62	N.C.	55.72	N.C.	N.C.
一般註腳: 第8天: 投藥前	S.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	1240.98	1248.73	1454.44	423.10	N.C.	46.66	N.C.	N.C.
	N	0	2	0	0	3	3	3	3	0	3	0	1

BLQ : 低於定量下限 (介白素-10 12.2pg/mL 其它 2.4pg/mL)
當3隻動物中有1隻的血漿濃度為BLQ時,計算剩下2隻動物的平均值
當3隻動物中有2隻的血漿濃度為BLQ時,平均值視為N.C.
N.C.: 不計算
1[d-檢定: Dunnett 2端 p<0.05]

性別: 雄性

組		動物編號	淋巴細胞之比率(%)																										
			T 細胞					CD4 T 細胞					CD8 T 細胞					調節性T細胞					NK 細胞						
			Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15			
0	mg/kg/天	CJ1M01	49.2	57.1	57.0	53.3	28.0	34.9	34.6	32.9	15.1	15.3	16.0	13.5	1.3	1.5	1.5	1.6	38.4	33.5	34.4	37.1							
		CJ1M02	69.4	68.5	67.3	55.2	27.3	29.6	25.4	19.0	35.7	31.7	35.6	30.4	0.8	0.9	0.3	0.7	18.3	10.9	20.3	30.5							
		CJ1M03	55.4	70.8	61.2	51.5	27.5	38.7	29.9	22.3	22.5	26.9	26.3	24.8	1.3	1.7	1.3	1.5	31.7	16.6	29.0	35.5							
		平均值	58.0	65.5	61.8	53.4	27.6	34.4	30.0	24.7	24.4	24.6	26.0	22.9	1.1	1.4	1.2	1.3	29.5	20.3	27.9	34.4							
5	mg/kg/天	S.D.	10.3	7.3	5.2	1.8	0.4	4.6	4.6	7.3	10.4	8.4	9.8	8.6	0.3	0.4	0.4	0.5	10.2	11.8	7.1	3.4							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
		CJ2M01	62.6	86.7	60.8	59.7	25.0	55.3	22.7	17.1	32.2	25.1	32.2	35.4	1.0	4.4	2.0	2.0	26.0	4.4	28.2	29.6							
		CJ2M02	52.7	75.9	55.3	51.9	22.7	41.0	24.3	19.4	24.8	28.2	25.6	25.6	0.8	3.6	2.5	1.6	27.2	6.3	28.9	34.4							
10	mg/kg/天	CJ2M03	61.0	78.0	62.9	59.3	17.2	31.0	16.2	17.2	38.0	39.4	40.8	36.4	0.8	3.5	2.5	2.6	19.0	6.9	17.8	21.3							
		平均值	58.8	80.2	59.7	57.0	21.6	42.4	21.1	17.9	31.7	30.9	32.9	32.5	0.9	3.8	2.4	2.1	24.1	5.9	25.0	28.4							
		S.D.	5.3	5.7	3.9	4.4	4.0	12.2	4.3	1.3	6.6	7.5	7.6	6.0	0.1	0.5	0.3	0.5	4.4	1.3	6.2	6.6							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
10	mg/kg/天	CJ3M01	69.3	80.8	73.6	69.8	15.2	32.7	18.3	18.0	43.8	34.8	45.4	44.1	0.8	4.1	3.0	2.5	17.1	6.5	14.1	15.1							
		CJ3M02	65.2	86.4	65.4	66.0	18.4	28.4	13.7	16.6	39.0	48.8	42.1	37.3	0.6	2.8	1.5	1.9	16.0	3.8	14.8	15.3							
		CJ3M03	70.2	89.7	76.8	74.0	19.2	46.7	23.8	28.2	44.9	33.8	44.9	37.5	1.0	7.6	4.5	5.9	17.5	3.0	10.6	16.5							
		平均值	68.2	85.6	71.9	69.9	17.6	35.9	18.5	20.9	42.6	39.1	44.1	39.6	0.8	4.8	3.1	3.4	16.9	4.4	13.2	15.6							
10	mg/kg/天	S.D.	2.7	4.5	5.9	4.0	2.1	9.6	5.1	6.3	3.1	8.4	1.8	3.9	0.2	2.5	1.5	2.2	0.8	1.8	2.3	0.8							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
		動物編號	Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15
		CJ4M01	49.2	57.1	57.0	53.3	28.0	34.9	34.6	32.9	15.1	15.3	16.0	13.5	1.3	1.5	1.5	1.6	38.4	33.5	34.4	37.1							
10	mg/kg/天	CJ4M02	69.4	68.5	67.3	55.2	27.3	29.6	25.4	19.0	35.7	31.7	35.6	30.4	0.8	0.9	0.3	0.7	18.3	10.9	20.3	30.5							
		CJ4M03	55.4	70.8	61.2	51.5	27.5	38.7	29.9	22.3	22.5	26.9	26.3	24.8	1.3	1.7	1.3	1.5	31.7	16.6	29.0	35.5							
		平均值	58.0	65.5	61.8	53.4	27.6	34.4	30.0	24.7	24.4	24.6	26.0	22.9	1.1	1.4	1.2	1.3	29.5	20.3	27.9	34.4							
		S.D.	10.3	7.3	5.2	1.8	0.4	4.6	4.6	7.3	10.4	8.4	9.8	8.6	0.3	0.4	0.4	0.5	10.2	11.8	7.1	3.4							
10	mg/kg/天	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
		CJ5M01	62.6	86.7	60.8	59.7	25.0	55.3	22.7	17.1	32.2	25.1	32.2	35.4	1.0	4.4	2.0	2.0	26.0	4.4	28.2	29.6							
		CJ5M02	52.7	75.9	55.3	51.9	22.7	41.0	24.3	19.4	24.8	28.2	25.6	25.6	0.8	3.6	2.5	1.6	27.2	6.3	28.9	34.4							
		CJ5M03	61.0	78.0	62.9	59.3	17.2	31.0	16.2	17.2	38.0	39.4	40.8	36.4	0.8	3.5	2.5	2.6	19.0	6.9	17.8	21.3							
10	mg/kg/天	平均值	58.8	80.2	59.7	57.0	21.6	42.4	21.1	17.9	31.7	30.9	32.9	32.5	0.9	3.8	2.4	2.1	24.1	5.9	25.0	28.4							
		S.D.	5.3	5.7	3.9	4.4	4.0	12.2	4.3	1.3	6.6	7.5	7.6	6.0	0.1	0.5	0.3	0.5	4.4	1.3	6.2	6.6							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
		CJ6M01	69.3	80.8	73.6	69.8	15.2	32.7	18.3	18.0	43.8	34.8	45.4	44.1	0.8	4.1	3.0	2.5	17.1	6.5	14.1	15.1							
10	mg/kg/天	CJ6M02	65.2	86.4	65.4	66.0	18.4	28.4	13.7	16.6	39.0	48.8	42.1	37.3	0.6	2.8	1.5	1.9	16.0	3.8	14.8	15.3							
		CJ6M03	70.2	89.7	76.8	74.0	19.2	46.7	23.8	28.2	44.9	33.8	44.9	37.5	1.0	7.6	4.5	5.9	17.5	3.0	10.6	16.5							
		平均值	68.2	85.6	71.9	69.9	17.6	35.9	18.5	20.9	42.6	39.1	44.1	39.6	0.8	4.8	3.1	3.4	16.9	4.4	13.2	15.6							
		S.D.	2.7	4.5	5.9	4.0	2.1	9.6	5.1	6.3	3.1	8.4	1.8	3.9	0.2	2.5	1.5	2.2	0.8	1.8	2.3	0.8							
10	mg/kg/天	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
		動物編號	Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15
		CJ7M01	49.2	57.1	57.0	53.3	28.0	34.9	34.6	32.9	15.1	15.3	16.0	13.5	1.3	1.5	1.5	1.6	38.4	33.5	34.4	37.1							
		CJ7M02	69.4	68.5	67.3	55.2	27.3	29.6	25.4	19.0	35.7	31.7	35.6	30.4	0.8	0.9	0.3	0.7	18.3	10.9	20.3	30.5							
10	mg/kg/天	CJ7M03	55.4	70.8	61.2	51.5	27.5	38.7	29.9	22.3	22.5	26.9	26.3	24.8	1.3	1.7	1.3	1.5	31.7	16.6	29.0	35.5							
		平均值	58.0	65.5	61.8	53.4	27.6	34.4	30.0	24.7	24.4	24.6	26.0	22.9	1.1	1.4	1.2	1.3	29.5	20.3	27.9	34.4							
		S.D.	10.3	7.3	5.2	1.8	0.4	4.6	4.6	7.3	10.4	8.4	9.8	8.6	0.3	0.4	0.4	0.5	10.2	11.8	7.1	3.4							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
10	mg/kg/天	CJ8M01	62.6	86.7	60.8	59.7	25.0	55.3	22.7	17.1	32.2	25.1	32.2	35.4	1.0	4.4	2.0	2.0	26.0	4.4	28.2	29.6							
		CJ8M02	52.7	75.9	55.3	51.9	22.7	41.0	24.3	19.4	24.8	28.2	25.6	25.6	0.8	3.6	2.5	1.6	27.2	6.3	28.9	34.4							
		CJ8M03	61.0	78.0	62.9	59.3	17.2	31.0	16.2	17.2	38.0	39.4	40.8	36.4	0.8	3.5	2.5	2.6	19.0	6.9	17.8	21.3							
		平均值	58.8	80.2	59.7	57.0	21.6	42.4	21.1	17.9	31.7	30.9	32.9	32.5	0.9	3.8	2.4	2.1	24.1	5.9	25.0	28.4							
10	mg/kg/天	S.D.	5.3	5.7	3.9	4.4	4.0	12.2	4.3	1.3	6.6	7.5	7.6	6.0	0.1	0.5	0.3	0.5	4.4	1.3	6.2	6.6							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3				
		CJ9M01	69.3	80.8	73.6	69.8	15.2	32.7	18.3	18.0	43.8	34.8	45.4	44.1	0.8	4.1	3.0	2.5	17.1	6.5	14.1	15.1							
		CJ9M02	65.2	86.4	65.4	66.0	18.4	28.4	13.7	16.6	39.0	48.8	42.1	37.3	0.6	2.8	1.5	1.9	16.0	3.8	14.8	15.3							
10	mg/kg/天	CJ9M03	70.2	89.7	76.8	74.0	19.2	46.7	23.8	28.2	44.9	33.8	44.9	37.5	1.0	7.6	4.5	5.9	17.5	3.0	10.6	16.5							
		平均值	68.2	85.6	71.9	69.9	17.6	35.9	18.5	20.9	42.6	39.1	44.1	39.6	0.8	4.8	3.1	3.4	16.9	4.4	13.2	15.6							
		S.D.	2.7	4.5	5.9	4.0	2.1	9.6	5.1	6.3	3.1	8.4	1.8	3.9	0.2	2.5	1.5	2.2	0.8	1.8	2.3	0.8							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
10	mg/kg/天	動物編號	Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15		Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15
		CJ10M01	49.2	57.1	57.0	53.3	28.0	34.9	34.6	32.9	15.1	15.3	16.0	13.5	1.3	1.5	1.5	1.6	38.4	33.5	34.4	37.1							
		CJ10M02	69.4	68.5	67.3	55.2	27.3	29.6	25.4	19.0	35.7	31.7	35.6	30.4	0.8	0.9	0.3	0.7	18.3	10.9	20.3	30.5							
		CJ10M03	55.4																										

性別:雄性

組	動物 編號	絕對數 (10 ³ /μL)											
		淋巴細胞 (10 ³ /μL)		T 細胞		CD4 T 細胞		CD8 T 細胞		調節性T細胞		NK 細胞	
		Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15
0 mg/kg/天	CJ1M01	7.40	5.60	3.64	2.98	2.07	1.84	1.12	0.76	0.10	0.09	2.84	2.08
	CJ1M02	6.42	5.03	4.46	2.78	1.75	0.96	2.29	1.53	0.05	0.04	1.17	1.53
	CJ1M03	3.94	3.77	2.18	1.95	1.08	0.84	0.89	0.93	0.05	0.06	1.25	1.34
	平均值	5.92	4.80	3.43	2.57	1.63	1.21	1.43	1.07	0.07	0.06	1.75	1.65
	S.D.	1.78	0.94	1.15	0.55	0.51	0.55	0.75	0.40	0.03	0.03	0.94	0.38
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
5 mg/kg/天	CJ2M01	5.01	9.42	3.14	5.62	1.25	1.61	1.61	3.33	0.05	0.19	1.30	2.79
	CJ2M02	7.29	10.34	3.84	5.37	1.65	2.01	1.81	2.65	0.06	0.17	1.98	3.56
	CJ2M03	5.32	9.63	3.25	5.71	0.92	1.66	2.02	3.51	0.04	0.25	1.01	2.05
	平均值	5.87	9.80	3.41	5.57	1.27	1.76	1.81	3.16	0.05	0.20	1.43	2.80
	S.D.	1.24	0.48	0.38	0.18	0.37	0.22	0.21	0.45	0.01	0.04	0.50	0.76
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
10 mg/kg/天	CJ3M01	8.38	13.41	5.81	9.36	1.27	2.41	3.67	5.91	0.07	0.34	1.43	2.02
	CJ3M02	6.25	17.73	4.08	11.70	1.15	2.94	2.44	6.61	0.04	0.34	1.00	2.71
	CJ3M03	3.32	5.01	2.33	3.71	0.64	1.41	1.49	1.88	0.03	0.30	0.58	0.83
	平均值	5.98	12.05	4.07	8.26	1.02	2.25	2.53	4.80	0.05	0.33	1.00	1.85
	S.D.	2.54	6.47	1.74	4.11	0.33	0.78	1.09	2.55	0.02	0.02	0.43	0.95
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
一般註腳: Pre: 前測 D15: 第15天													
1[d-檢定: Dunnett 2端 p<0.05]							2[dd-檢定: Dunnett 2端 p<0.01]						

【圖83】

性別:雄性

組	動物 編號	對基礎線之比率(前測, %)															
		T 細胞				CD4 T 細胞				CD8 T 細胞				調節性T細胞			
		Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15
0 mg/kg/天	CJ1M01	1.00	1.16	1.16	1.08	1.00	1.25	1.24	1.18	1.00	1.01	1.06	0.89	1.00	1.15	1.15	1.23
	CJ1M02	1.00	0.99	0.97	0.80	1.00	1.08	0.93	0.70	1.00	0.89	1.00	0.85	1.00	1.13	1.00	0.88
	CJ1M03	1.00	1.28	1.10	0.93	1.00	1.41	1.09	0.81	1.00	1.20	1.17	1.10	1.00	1.31	1.00	1.15
	平均值	1.00	1.14	1.08	0.94	1.00	1.25	1.09	0.90	1.00	1.03	1.08	0.95	1.00	1.20	1.05	1.09
	S.D.	0.00	0.15	0.10	0.14	0.00	0.17	0.16	0.25	0.00	0.16	0.09	0.13	0.00	0.10	0.09	0.18
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
5 mg/kg/天	CJ2M01	1.00	1.38	0.97	0.95	1.00	2.21	0.91	0.68	1.00	0.78	1.00	1.10	1.00	4.40	2.00	2.00
	CJ2M02	1.00	1.44	1.05	0.98	1.00	1.81	1.07	0.85	1.00	1.14	1.03	1.03	1.00	4.50	3.25	2.00
	CJ2M03	1.00	1.28	1.03	0.97	1.00	1.80	0.94	1.00	1.00	1.04	1.07	0.96	1.00	4.38	3.13	3.25
	平均值	1.00	1.37	1.02	0.97	1.00	1.94	0.97	0.84	1.00	0.99	1.03	1.03	1.00	4.43	2.79	2.42
	S.D.	0.00	0.08	0.04	0.02	0.00	0.23	0.09	0.16	0.00	0.19	0.04	0.07	0.00	0.06	0.69	0.72
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
10 mg/kg/天	CJ3M01	1.00	1.17	1.06	1.01	1.00	2.15	1.20	1.18	1.00	0.79	1.04	1.01	1.00	5.13	3.75	3.13
	CJ3M02	1.00	1.33	1.00	1.01	1.00	1.54	0.74	0.90	1.00	1.25	1.08	0.96	1.00	4.67	2.67	3.17
	CJ3M03	1.00	1.28	1.09	1.05	1.00	2.43	1.24	1.47	1.00	0.75	1.00	0.84	1.00	7.60	4.60	5.90
	平均值	1.00	1.26	1.05	1.02	1.00	2.04	1.06	1.18	1.00	0.93	1.04	0.94	1.00	5.80	3.67	4.07
	S.D.	0.00	0.08	0.05	0.02	0.00	0.46	0.28	0.29	0.00	0.28	0.04	0.09	0.00	1.58	0.97	1.59
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
一般註腳: Pre: 前測 D3, D8及D15: 第3天, 第8天 (投藥前) 及第15天																	
1[d-檢定: Dunnett 2端 p<0.05]										2[dd-檢定: Dunnett 2端 p<0.01]							

【圖84】

性別: 雄性

組		各細胞類型之比率 (%)																							
		K67+T 細胞						K67+CD4 T 細胞						K67+CD8 T 細胞						K67+ICOS+Treg					
		Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15
0	動物編號																								
	CJIN01	96	76	91	103	93	58	77	79	63	58	72	92	30.6	23.4	23.9	23.2	28.5	20.7	20.3	21.1	54.9	40.6	37.5	38.2
	CJIN02	109	82	76	100	75	71	73	107	117	73	65	75	14.7	16.8	28.0	24.4	13.8	13.6	24.7	20.3	23.3	17.6	32.9	25.4
	CJIN03	101	72	126	168	75	53	72	151	123	82	172	166	34.5	24.1	28.7	46.8	29.4	20.1	25.5	38.2	40.8	29.5	32.1	46.2
5	動物編號																								
	平均値	102	77	98	124	81	61	74	112	101	71	103	111	26.6	21.4	26.9	31.5	23.9	18.1	23.5	26.5	39.7	29.2	34.2	36.6
	S.D.	07	05	26	38	10	09	03	36	33	12	60	48	10.5	40	26	13.3	8.8	3.9	28	10.1	15.8	11.5	29	10.5
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
5	動物編號																								
	CJ2N01	104	169	405	305	96	133	162	152	102	215	53.3	34.4	40.4	41.9	68.9	62.0	35.5	33.4	51.5	45.2	49.5	42.4	57.0	52.0
	CJ2N02	66	146	369	246	54	137	227	115	52	133	46.4	28.4	29.2	39.2	65.0	43.4	25.0	32.0	55.4	30.8	41.7	39.4	65.1	42.0
	CJ2N03	99	134	489	316	117	117	286	172	81	134	54.6	36.3	39.4	28.2	61.7	49.8	32.3	22.8	40.4	25.3	39.4	28.4	45.6	28.1
10	動物編號																								
	平均値	90	150	421	289	89	129	225	146	78	161	51.4	33.0	36.3	36.4	65.2	51.7	30.9	29.4	49.1	33.8	43.5	36.7	55.9	40.7
	S.D.	21	18	62	38	32	11	62	29	25	47	44	4.1	6.2	7.3	3.6	9.4	5.4	5.8	7.8	10.3	5.3	7.4	9.8	12.0
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
10	動物編號																								
	CJ3N01	114	208	510	329	123	168	328	184	96	237	56.5	36.9	41.9	39.2	68.8	54.5	37.6	28.7	51.3	22.0	52.6	33.4	58.0	27.9
	CJ3N02	91	217	572	295	89	231	357	133	75	179	63.2	32.5	36.3	51.8	68.3	47.4	32.4	38.3	54.5	31.2	48.8	47.4	67.9	44.2
	CJ3N03	98	230	546	323	106	236	280	204	83	194	65.3	37.1	38.7	45.3	66.5	61.4	35.5	29.2	42.5	36.6	53.7	36.0	49.1	48.4
10	動物編號																								
	平均値	101	218	543	316	106	212	322	174	85	203	61.7	35.5	38.6	45.4	67.9	54.4	35.2	32.1	49.4	29.9	51.7	38.9	58.3	40.2
	S.D.	12	11	31	18	17	38	39	37	11	30	4.6	2.6	3.3	6.3	12	7.0	2.6	5.4	6.2	7.4	2.6	7.4	9.4	10.8
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

一般註脚: Pre: 前測 D3, D8及D15: 第3天, 第8天 (投藥前) 及第15天 Treg: 調節性T細胞
1[dd-檢定: Dunnett 2端 p<0.05] 2[d-檢定: Dunnett 2端 p<0.01]

【圖86】

性別: 雄性

各細胞類型之絕對數 (10 ³ /μl)															
組	動物編號	K67 + T 細胞		K67 + CD4 T 細胞		K67 + CD8 T 細胞		K67 + Treg		K67 + ICOS + Treg		ICOS + Treg		K67 + NK 細胞	
		Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15	Pre	D15
0 mg/kg 天	CJ1M01	0.35	0.31	0.19	0.15	0.07	0.07	0.03	0.02	0.03	0.02	0.05	0.03	0.20	0.20
	CJ1M02	0.49	0.28	0.13	0.10	0.27	0.11	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.24	0.13
	CJ1M03	0.22	0.33	0.08	0.13	0.11	0.15	0.02	0.03	0.01	0.02	0.02	0.03	0.19	0.34
	平均值	0.35	0.31	0.13	0.13	0.15	0.11	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.21	0.22
	S.D.	0.14	0.03	0.06	0.03	0.11	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.03	0.11
5 mg/kg 天	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	CJ2M01	0.33	1.71	0.12	0.24	0.16	1.15	0.02	0.12	0.02	0.09	0.02	0.10	0.11	1.26
	CJ2M02	0.25	1.32	0.09	0.23	0.09	0.75	0.02	0.07	0.02	0.05	0.03	0.07	0.23	1.86
	CJ2M03	0.32	1.80	0.11	0.29	0.16	1.27	0.02	0.12	0.01	0.06	0.02	0.07	0.08	0.93
	平均值	0.30	1.61	0.11	0.25	0.14	1.06	0.02	0.10	0.02	0.07	0.02	0.08	0.14	1.35
10 mg/kg 天	S.D.	0.04	0.26	0.02	0.03	0.04	0.27	0.00	0.03	0.01	0.02	0.01	0.02	0.08	0.47
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	CJ3M01	0.66	3.08	0.16	0.44	0.35	2.18	0.03	0.19	0.03	0.07	0.04	0.09	0.09	0.48
	CJ3M02	0.37	3.45	0.10	0.39	0.18	2.15	0.01	0.16	0.01	0.11	0.02	0.15	0.13	1.19
	CJ3M03	0.23	1.20	0.07	0.29	0.12	0.70	0.01	0.18	0.01	0.11	0.02	0.15	0.06	0.42
	平均值	0.42	2.58	0.11	0.37	0.22	1.68	0.02	0.18	0.02	0.10	0.03	0.13	0.09	0.70
	S.D.	0.22	1.21	0.05	0.08	0.12	0.85	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.03	0.04	0.43
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	一般註釋: Pre: 前測	D15: 第15天										Treg: 調節性T細胞			
	[d:檢定: Dunnett 2端 p<0.05]											2[d:檢定: Dunnett 2端 p<0.01]			

【圖 87】

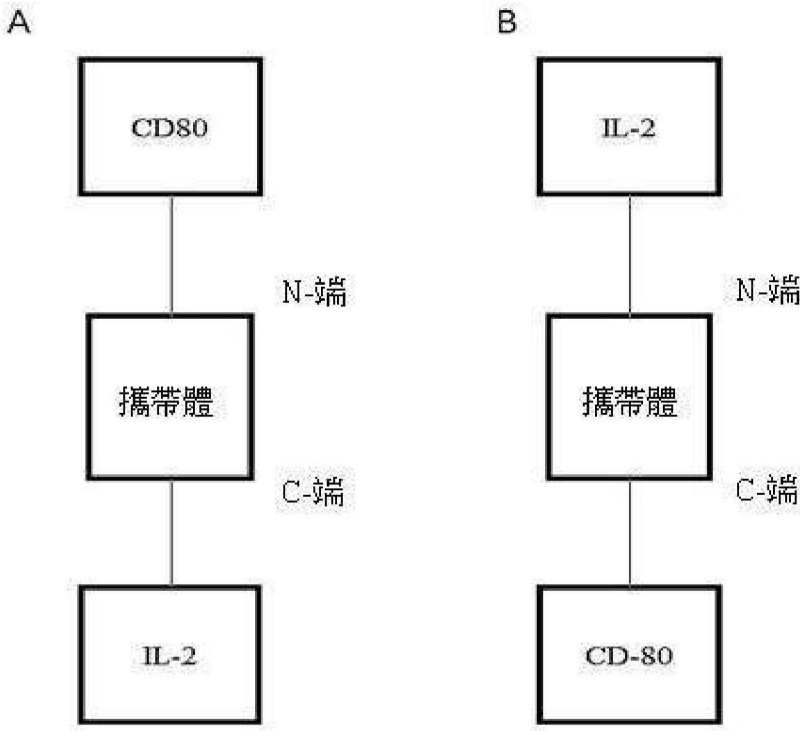
性別: 雌性

組	動物編號	相對於基礎線之比率 (前測, %)																												
		K67 + T 細胞				K67 + CD4 T 細胞				K67 + CD8 T 細胞				K67 + Treg				K67 + ICOS + Treg				ICOS + Treg				K67 + NK 細胞				
		Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	Pre	D3	D8	D15	
0	mg/kg/天	CJ1M01	100	0.79	0.95	1.07	100	0.62	0.83	0.85	100	0.92	1.14	1.46	100	0.76	0.78	0.76	100	0.73	0.71	0.74	100	0.74	0.68	0.70	100	2.71	2.33	1.37
		CJ1M02	100	0.75	0.70	0.92	100	0.95	0.97	1.43	100	0.62	0.56	0.64	100	1.14	1.90	1.66	100	0.99	1.79	1.47	100	0.76	1.41	1.09	100	0.47	0.54	0.41
		CJ1M03	100	0.71	1.25	1.66	100	0.71	0.96	2.01	100	0.67	1.40	1.35	100	0.70	0.83	1.36	100	0.68	0.87	1.30	100	0.72	0.79	1.13	100	1.02	2.59	1.65
		平均值	100	0.75	0.97	1.22	100	0.76	0.92	1.43	100	0.74	1.03	1.15	100	0.87	1.17	1.26	100	0.80	1.12	1.17	100	0.74	0.96	0.97	100	1.40	1.82	1.14
		S.D.	0.00	0.04	0.28	0.39	0.00	0.17	0.08	0.58	0.00	0.16	0.43	0.45	0.00	0.24	0.63	0.46	0.00	0.17	0.58	0.38	0.00	0.02	0.39	0.24	0.00	1.17	1.12	0.65
N		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
5	mg/kg/天	CJ2M01	100	1.63	3.89	2.93	100	1.39	1.69	1.58	100	2.11	5.23	3.37	100	1.04	1.71	1.53	100	0.94	1.45	1.27	100	0.86	1.15	1.05	100	3.23	6.29	5.27
		CJ2M02	100	2.21	5.59	3.73	100	2.54	4.20	2.13	100	2.56	8.92	5.46	100	1.34	2.23	1.49	100	1.28	2.22	1.23	100	0.94	1.56	1.01	100	3.46	5.10	4.55
		CJ2M03	100	1.35	4.94	3.19	100	1.00	2.44	1.47	100	1.65	6.74	4.48	100	0.72	1.57	1.26	100	0.71	1.25	0.78	100	0.72	1.16	0.71	100	1.56	6.80	5.42
		平均值	100	1.73	4.81	3.28	100	1.64	2.78	1.73	100	2.11	6.96	4.44	100	1.03	1.84	1.43	100	0.98	1.64	1.09	100	0.84	1.29	0.92	100	2.75	6.06	5.08
		S.D.	0.00	0.44	0.86	0.41	0.00	0.80	1.29	0.35	0.00	0.46	1.86	1.05	0.00	0.31	0.35	0.15	0.00	0.29	0.51	0.27	0.00	0.11	0.23	0.19	0.00	1.04	0.87	0.47
N		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
10	mg/kg/天	CJ3M01	100	1.82	4.47	2.89	100	1.37	2.67	1.50	100	2.47	5.89	3.84	100	0.94	1.64	1.30	100	0.76	1.36	0.59	100	0.63	1.10	0.53	100	2.10	7.03	4.00
		CJ3M02	100	2.38	6.29	3.24	100	2.60	4.01	1.49	100	2.39	8.43	4.33	100	1.47	1.93	1.34	100	1.18	1.68	0.96	100	0.97	1.39	0.91	100	2.69	4.55	3.46
		CJ3M03	100	2.35	5.57	3.30	100	2.23	2.64	1.92	100	2.34	7.87	4.47	100	1.17	1.72	1.59	100	0.82	1.20	1.03	100	0.67	0.91	0.90	100	3.02	7.18	4.74
		平均值	100	2.18	5.44	3.14	100	2.07	3.11	1.64	100	2.40	7.40	4.21	100	1.19	1.76	1.41	100	0.92	1.41	0.86	100	0.76	1.13	0.78	100	2.60	6.25	4.07
		S.D.	0.00	0.32	0.92	0.22	0.00	0.63	0.78	0.25	0.00	0.07	1.33	0.33	0.00	0.27	0.15	0.16	0.00	0.23	0.24	0.24	0.00	0.19	0.24	0.22	0.00	0.47	1.48	0.64
N		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
一般註腳: Pre: 前測		D3, D8及D15: 第3天, 第8天 (投藥前) 及第15天												Treg: 調節性T細胞																
1[dd-檢定: Dunnett 2端 p<0.05]		2[dd-檢定: Dunnett 2端 p<0.01]																												

天數:相對於開始日15天

性別:雄性		0 mg/kg/天	5 mg/kg/天	10 mg/kg/天
肝 (g)	平均值	41.5	42.7	42.1
	S.D.	0.9	7.1	5.6
	N	3	3	3
肝 (%)	平均值	1.73	1.68	1.86
	S.D.	0.09	0.10	0.18
	N	3	3	3
脾 (g)	平均值	1.727	3.358	3.886 d'
	S.D.	0.520	0.758	1.087
	N	3	3	3
脾 (%)	平均值	0.072	0.132	0.171 d'
	S.D.	0.023	0.025	0.040
	N	3	3	3
胰 (g)	平均值	4.27	4.27	3.24
	S.D.	0.54	1.20	0.38
	N	3	3	3

【圖88】



【圖89】