



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202309074 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：111142999

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 11 月 27 日

(51)Int. Cl.：

C07K14/55 (2006.01)

C07K14/705 (2006.01)

C12N15/63 (2006.01)

C12N5/0783 (2010.01)

A61K38/00 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61K38/20 (2006.01)

A61K35/17 (2015.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/11/27 南韓

10-2019-0154631

2020/02/10 南韓

10-2020-0015802

(71)申請人：南韓商 G I 細胞股份有限公司 (南韓) GI CELL, INC. (KR)

南韓

(72)發明人：張明浩 JANG, MYOUNG HO (KR)；洪天杓 HONG, CHUN-PYO (KR)；梁禎允
YANG, ZUNG YOON (KR)；高榮峻 KOH, YOUNG JUN (KR)；李俊燮 LEE, JUN
SUB (KR)；崔榮周 CHOI, YOUNG JOO (KR)

(74)代理人：劉法正；尹重君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：35 共 126 頁

(54)名稱

包含含有 IL-2 蛋白及 CD80 蛋白之融合蛋白與自然殺手細胞的用於治療癌症的藥學組成物

(57)摘要

本文提供有一種抗癌劑，其包含作為活性成份之含有 IL-2 蛋白及 CD80 蛋白之融合蛋白與自然殺手細胞。在一實施例中，含有 CD80 片段、免疫球蛋白 Fc 結構域及 IL-2 變異體之融合蛋白能活化免疫細胞如自然殺手細胞。此外，當與自然殺手細胞結合投與時，該融合蛋白能有效地抑制癌症，且含有該融合蛋白之藥學組成物能活化體內的免疫活性。因此，該藥學組成物能有效地用於治療癌症且具有高產業應用性。

There is provided an anticancer agent including, as active ingredients, a fusion protein containing an IL-2 protein and a CD80 protein, and a natural killer cell. The fusion protein containing an CD80 fragment, an Fc domain of an immunoglobulin, and an IL-2 variant in an embodiment can activate immune cells such as natural killer cells. In addition, when administered in combination with natural killer cells, the fusion protein can inhibit effectively cancer, and a pharmaceutical composition containing the fusion protein can activate immune activity in vivo. Therefore, the pharmaceutical composition can be effectively applied to the treatment of cancer and has high industrial applicability.

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白與自然殺手細胞的用於治療癌症的藥學組成物

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING CANCER
COMPRISING FUSION PROTEIN COMPRISING IL-2 PROTEIN AND CD80
PROTEIN AND NATURAL KILLER CELL

【中文】

本文提供有一種抗癌劑，其包含作為活性成份之含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白與自然殺手細胞。在一實施例中，含有CD80片段、免疫球蛋白Fc結構域及IL-2變異體之融合蛋白能活化免疫細胞如自然殺手細胞。此外，當與自然殺手細胞結合投與時，該融合蛋白能有效地抑制癌症，且含有該融合蛋白之藥學組成物能活化體內的免疫活性。因此，該藥學組成物能有效地用於治療癌症且具有高產業應用性。

【英文】

There is provided an anticancer agent including, as active ingredients, a fusion protein containing an IL-2 protein and a CD80 protein, and a natural killer cell. The fusion protein containing an CD80 fragment, an Fc domain of an immunoglobulin, and an IL-2 variant in an embodiment can activate immune cells such as natural killer cells. In addition, when administered in combination with natural killer cells, the fusion protein can inhibit effectively cancer, and a pharmaceutical composition containing the fusion protein can activate immune activity in vivo. Therefore, the pharmaceutical composition can be effectively applied to the treatment of cancer and has high industrial applicability.

【指定代表圖】 (無)

【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】

包含含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白與自然殺手細胞的用於治療癌症的藥學組成物

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING CANCER
COMPRISING FUSION PROTEIN COMPRISING IL-2 PROTEIN AND
CD80 PROTEIN AND NATURAL KILLER CELL

【技術領域】

發明領域

【0001】 本發明係有關於一種用於治療癌症的藥學組成物，其包含作為活性成份之含有CD80蛋白及IL-2變異體之融合蛋白與NK細胞。

【先前技術】

發明背景

【0002】 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蛋白具有15.5kDa至16kDa之大小且由133個胺基酸構成。IL-2藉由與具有三個不同次單元之IL-2受體結合，介導各種免疫作用。此外，IL-2主要是由活化的T細胞合成，特別是由CD4+輔助型T細胞。IL-2會刺激T細胞的增殖與分化，及誘導細胞毒性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)。

【0003】 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是一種表現在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細胞之活性且涉及其之增殖、分化及存活。

【0004】此外，已知自然殺手細胞(之後稱NK細胞)會通過移除癌細胞而表現出抗癌活性(Loris Zamai *et.al.*, *J. Immunol.*, 178:4011-4016, 2007)。NK細胞活性之調節是通過各種活化性及抑制性受體傳訊的平衡。已知NK細胞還能透過表現在表面上的各種免疫受體來辨別癌細胞以達到抗癌活性。由於正常細胞中存在主要組織相容性複合體(MHC)第I類，所以正常細胞不會被NK細胞之抑制性受體辨識，從而不會遭受攻擊，但癌細胞或一些受感染的細胞因MHC第I類減少或具有NK細胞活化受體的配體而會被NK細胞清除。除了癌細胞外，NK細胞還可消除癌幹細胞，因此成為不僅可抑制癌的發展、增殖及轉移，且可降低完全康復後癌症的復發之備受關注的治療劑來源。

【發明內容】

本發明之詳細說明

技術問題

【0005】據此，研究開發安定且有效的IL-2之結果，本發明人發現共投與在一分子中含有IL-2蛋白及CD80蛋白之新穎的融合蛋白二聚體與自然殺手細胞的組合，表現出優異的抗癌作用，並完成本發明。

解決問題之方法

【0006】為達成上述目的，根據本發明之一個態樣，提供一種抗癌劑，其包含作為活性成份之含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白二聚體與自然殺手細胞。

本發明之效果

【0007】已確認含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白二聚體不僅可活化免疫細胞，且當與自然殺手細胞結合投與時，可表現出協同作用。因此，此組合

療法可用於治療癌症。

【圖式簡單說明】

【0008】 圖1是本發明中所使用的融合蛋白二聚體之實施例的示意圖。

【0009】 圖2顯示確認所獲得的融合蛋白二聚體(GI-101)之SDS-PAGE影像。

【0010】 圖3顯示所獲得的融合蛋白二聚體(GI-101)之粒徑篩析層析法(SEC)的分析。

【0011】 圖4顯示確認所獲得的Fc-IL2v2融合蛋白之SDS-PAGE影像。

【0012】 圖5顯示所獲得的Fc-IL2v2融合蛋白之粒徑篩析層析法(SEC)的分析。

【0013】 圖6顯示確認所獲得的hCD80-Fc融合蛋白之SDS-PAGE影像。

【0014】 圖7顯示所獲得的hCD80-Fc融合蛋白之粒徑篩析層析法(SEC)的分析。

【0015】 圖8顯示在無自然殺手細胞之情況下單獨培養K562細胞株(E/T比=0/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2處理之癌細胞生存力結果。在此情況下，E表示作為效應細胞之NK細胞，T表示作為標靶細胞之K562癌細胞株。

【0016】 圖9顯示在無自然殺手細胞之情況下單獨培養MDA-MB-231細胞株(E/T比=0/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2處理之癌細胞生存力結果。在此情況下中，E表示作為效應細胞之NK細胞，T表示作為標靶細胞之MDA-MB-231癌細胞株。

【0017】 圖10顯示在無自然殺手細胞之情況下單獨培養HCT-116細胞株(E/T比=0/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2處理之癌細胞生存力結果。在此情況下，E表示作為效應細胞之NK細胞，T表示作為標靶細胞之HCT-116癌細胞株。

【0018】 圖11顯示在無自然殺手細胞之情況下單獨培養A549細胞株(E/T比

=0/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2處理之癌細胞生存力結果。在此情況下，E表示作為效應細胞之NK細胞，T表示作為標靶細胞之A549癌細胞株。

【0019】圖12顯示在共培養K562細胞株(標靶細胞)與自然殺手細胞(效應細胞)，E/T比=1/3時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0020】在此，Y軸=0表示在起始接種時癌細胞之生存力訊號(紅色訊號)範圍設為0。Y軸>0是接種後發現癌細胞生存力訊號範圍增加之情況，表示細胞增殖率快於細胞死亡率(細胞增殖率>細胞死亡率)。即，可視為癌細胞數增加。然而，一般認為增加的值越低，則越能抑制癌細胞的增殖。同時，假如測得的存活癌細胞面積小於起始接種時測得的存活癌細胞面積，則表示為負值，其表示細胞增殖率低於細胞死亡率(細胞增殖率<細胞死亡率)。即，與在起始接種時測得的面積相比，面積減少表示為負值。因此，提示負值越大可能不僅與癌細胞增殖的抑制有關，而且與癌細胞死亡有關。

【0021】圖13顯示在共培養K562細胞株與自然殺手細胞(E/T比=1/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0022】圖14顯示在共培養K562細胞株與自然殺手細胞(E/T比=3/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0023】圖15顯示在共培養K562細胞株與自然殺手細胞(E/T比=10/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0024】圖16顯示在共培養MDA-MB231細胞株與自然殺手細胞(E/T比=1/3)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0025】圖17顯示在共培養MDA-MB231細胞株與自然殺手細胞(E/T比=1/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0026】圖18顯示在共培養MDA-MB231細胞株與自然殺手細胞(E/T比

=3/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0027】圖19顯示在共培養MDA-MB231細胞株與自然殺手細胞(E/T比=10/1)時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0028】圖20顯示在共培養HCT-116細胞株(標靶細胞)與自然殺手細胞(效應細胞)，E/T比=1/3時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0029】圖21顯示在共培養HCT-116細胞株與自然殺手細胞，E/T比=1/1時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0030】圖22顯示在共培養HCT-116細胞株與自然殺手細胞，E/T比=3/1時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0031】圖23顯示在共培養HCT-116細胞株與自然殺手細胞，E/T比=10/1時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0032】圖24顯示在共培養A549細胞株(標靶細胞)與自然殺手細胞(效應細胞)，E/T比=1/3時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0033】圖25顯示在共培養A549細胞株與自然殺手細胞，E/T比=1/1時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0034】圖26顯示在共培養A549細胞株與自然殺手細胞，E/T比=3/1時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0035】圖27顯示在共培養A549細胞株與自然殺手細胞，E/T比=10/1時，以GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力結果。

【0036】圖28是顯示對CT26移植癌小鼠模型進行mGI-101和/或NK細胞組合療法之投與時間表的示意圖。

【0037】圖29顯示對CT26移植癌小鼠模型共投與自然殺手細胞與mGI-101

之腫瘤生長抑制作用的結果。

【0038】 圖30顯示對CT26移植癌小鼠模型共投與自然殺手細胞與mGI-101之腫瘤生長抑制百分比。

【0039】 圖31顯示在CT26移植癌小鼠模型中，各治療組(載具、NK細胞、mGI-101、NK細胞 + mGI-101)之個別實驗動物之腫瘤生長測量值。

【0040】 圖32顯示在CT26移植癌小鼠模型中，載具組之個別實驗動物的腫瘤生長測量值。

【0041】 圖33顯示在CT26移植癌小鼠模型中，NK細胞治療組之個別實驗動物的腫瘤生長測量值。

【0042】 圖34顯示在CT26移植癌小鼠模型中，mGI-101治療組之個別實驗動物的腫瘤生長測量值。

【0043】 圖35顯示在CT26移植癌小鼠模型中，自然殺手細胞與mGI-101共投與組之個別實驗動物的腫瘤生長測量值。

【實施方式】

實施本發明之最佳模式

【0044】 本發明之一個態樣提供一種藥學組成物，其包含作為活性成份之含有CD80蛋白及IL-2蛋白之融合蛋白與NK細胞。

【0045】 本發明之另一個態樣提供一種用於治療癌症之藥學組成物，其包含作為活性成份之含有CD80蛋白及IL-2蛋白之融合蛋白與NK細胞。

自然殺手細胞

【0046】 本文中使用的術語"NK細胞"意指自然殺手細胞(之後稱NK細胞)，是先天性免疫細胞的一種，其會直接與各種巨噬細胞及T細胞交互反應或產生細胞激素，調節免疫反應，從而在自體免疫疾病中起重要作用。在本發明中，NK細胞可從脾或骨髓中分離出來，但不限於此。具體地，NK細胞可從自體或異源

細胞獲得。

【0047】 此外，NK細胞可源自哺乳動物或人。較佳地，其可從預期接受NK細胞治療之個體獲得。在此情況下，可從個體之血液中直接分離出NK細胞，然後使用，或使從個體獲得的不成熟NK細胞或幹細胞進行分化，然後使用。

【0048】 此外，該自然殺手細胞可從下列步驟獲得，其包括：i)從周邊血液單核細胞(PBMC)中分離出不會表現CD3的細胞；ii)從以上步驟獲得之不會表現CD3的細胞中分離出會表現CD56的細胞；及iii)在含有IL-2或其變異體及CD80或其片段之融合蛋白二聚體之存在下培養分離的細胞。

【0049】 此外，該自然殺手細胞可通過下列步驟獲得：i)從PBMCs中分離出不會表現CD3的細胞；及ii)在含有IL-2或其變異體及CD80或其片段之融合蛋白二聚體之存在下培養該分離的細胞。

【0050】 再者，該自然殺手細胞可通過下列步驟獲得：i)從PBMCs中分離出不會表現CD56的細胞；及ii)在含有IL-2或其變異體及CD80或其片段之融合蛋白二聚體之存在下培養該分離的細胞。

包含IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白二聚體

【0051】 本文中使用的術語"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。

【0052】 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。

【0053】 IL-2之一個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。

【0054】 此外IL-2之片段可為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個連續的胺基酸之形式。此外，該IL-2之片段可為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個連續的胺基酸之形式。

【0055】 本文中使用的術語“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。

【0056】 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。

【0057】 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變異體能保持IL-2活性。根據另一個實施例，可取代一至五個胺基酸。

【0058】 在一個實施例中，IL-2變異體可為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。

【0059】 再者，IL-2變異體可為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。

【0060】 此外，IL-2變異體可為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。

【0061】 再者，IL-2變異體可為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。

【0062】 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。

【0063】 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)。

【0064】 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)。

【0065】 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)。

【0066】 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)。

【0067】 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，可以丙胺酸取代(W72A)。

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)。

【0068】 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。

【0069】 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二個、三個、四個或五個位置處之胺基酸取代而獲得。

【0070】 此外，IL-2變異體可為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。

【0071】 此外，IL-2變異體可為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。

【0072】此外，IL-2變異體可為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。

【0073】此外，IL-2變異體可藉由R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G之取代而獲得。

【0074】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；或
- (d) R38A/F42A/L72G。

【0075】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，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。

【0076】具體地，該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。

【0077】此外，該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是IL-2與IL-2受體 α 鏈(IL-2R α)結合引起的副作用。已開發出各種可

減少因IL-2與IL-2受體 α 結合所引起的副作用之IL-2變異體，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。

【0078】本文中使用的術語"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。

【0079】本文中使用的術語"CD80片段"意指CD80之截短形式。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刪除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。

【0080】此外，該IL-2蛋白及該CD80蛋白可透過一連接子或一攜帶體(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。

【0081】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。

【0082】 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工程，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、岩藻醣基化或醣基化。

【0083】 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Fc結構域的一些胺基酸經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。

【0084】 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，連接至該融合蛋白的N端及C端(圖1)。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。

【0085】 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。

【0086】 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個連續的胺基酸殘基所獲得的片段。或者，該CD80蛋白可為具有與T細胞表面受體CTLA-4及CD28結合之活性的胞外免疫球蛋白樣結構域。

【0087】 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。

【0088】 該胜肽連接子(1)可包含在該CD80蛋白與該Fc結構域之間。該胜肽連接子(1)可由5至80個連續的胺基酸、20至60個連續的胺基酸、25至50個連續的胺基酸或30至40個連續的胺基酸構成。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鉸鏈。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。

【0089】 該胜肽連接子(2)可由1至50個連續的胺基酸、3至30個連續的胺基

酸或5至15個連續的胺基酸構成。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。

【0090】 在本發明之另一態樣中，提供有一種藥學組成物，其包含作為活性成份之藉由結合二個融合蛋白而獲得的二聚體，其各含有IL-2蛋白及CD80蛋白，與NK細胞。含有IL-2或其變異體及CD80或其片段之融合蛋白如上所述。

【0091】 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。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。

【0092】 在本發明中，該癌症可為任一個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、急性淋巴母細胞白血病、腦瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、頭頸癌、唾腺癌及淋巴瘤。

【0093】 該藥學組成物之較佳劑量隨著患者的病況及體重、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之本發明的藥學組成物中，可依據應用、用途、劑型、摻合目的等等而包含任何數量(有效量)的活性成份，只要該活性成份表現出抗癌活性。其常規有效量以該組成物之總重量為基礎，判定在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判定。

【0094】 本文中使用的術語“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；刺激低效的治療；或減輕嚴重疾病。

【0095】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，該參數可包括縮小個體中至少一個腫瘤的大小。

【0096】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而改善療效，其可藉由比較實驗室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。

【0097】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：患者的健康狀況、疾病的種類或嚴重度、藥物活性、患者對藥物的敏感性、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。

【0098】在此，該藥學組成物可進一步包括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患者之無毒性物質。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)。

【0099】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。

【0100】 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等之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。

【0101】 該藥學組成物中二聚體之較佳劑量範圍可從每日 $0.01 \mu\text{g/kg}$ 至 10g/kg 或 0.01mg/kg 至 1g/kg ，取決於患者的病況、體重、性別、年齡、患者的嚴重程度、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。此外，藥學組成物中的NK細胞可以 1×10^2 至 1×10^{13} 細胞、 1×10^7 至 1.5×10^{11} 細胞的數量投與，並在顯示藥學作用之範圍內適當地調整。

【0102】 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之化合物或天然萃取物，以便增強或加強抗癌活性。

【0103】 在本發明之又另一態樣中，提供一種含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白二聚體與NK細胞用於治療癌症或感染性疾病的用途。

【0104】 在本發明之又另一態樣中，提供一種含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白二聚體與NK細胞用於提高對癌症之療效的用途。

【0105】 在本發明之又另一態樣中，提供一種含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白二聚體與NK細胞用於製造用於治療癌症之藥劑的用途。

【0106】 在本發明之又另一態樣中，提供一種用於治療癌症的方法和/或用

於提高對癌症之療效的方法，其包含對一受試者投與含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白，或二個該融合蛋白附接之融合蛋白二聚體，與NK細胞。

【0107】 在此，該融合蛋白二聚體與該NK細胞可同時或依序投與。在此情況下，投與順序可決定為在投與該融合蛋白二聚體後接著投與該NK細胞，或在投與該NK細胞後接著投與該融合蛋白二聚體。

【0108】 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。該含有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融合蛋白二聚體如上所述。

【0109】 投與該融合蛋白或融合蛋白二聚體與NK細胞之投藥途徑、劑量及頻率可依患者的病況，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。

【0110】 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R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G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，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，展現出改善的特徵。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

【0111】 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. 含有IL-2及CD80之融合蛋白二聚體的製備

製備範例1，hCD80-Fc-IL-2變異體(2M)：GI101之製備

【0112】 為了產生含有人CD80片段、Fc結構域及IL-2變異體之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific Inc.之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成包含核苷酸序列(序列辨識編號：8)之多核苷酸序列，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)、連接子結合的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)及具有二個胺基酸(R38A，F42A)取代之IL-2變異體(2M) (序列辨識編號：6)之融合蛋白，並選殖進入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(EXPI-CHO™)中，用以表現具序列辨識編號：9之融合蛋白。在導入該載體後，將CHO細胞置於37°C、125 RPM及8% CO₂之環境下培養7天，然後收集以純化融合蛋白。將純化的融合蛋白二聚體命名為"GI-101"。

【0113】 使用含MabSelect SuRe蛋白A樹脂之層析法進行純化。該融合蛋白在25 mM Tris，25 mM NaCl及pH 7.4之條件下會被結合。之後，用100 mM NaCl及100 mM醋酸於pH 3下進行洗提。在將20%的1M Tris-HCl，pH 9放入收集管中後，收集該融合蛋白。將收集的融合蛋白於PBS緩衝液中透析16個小時進行交換。

【0114】 之後，使用具TSKgel G3000SWXL管柱(TOSOH Bioscience)之粒徑篩析層析法，測量在波長280nm下隨時間推移之吸收度，以獲得高濃度的融合蛋白。此時，對該分離純化的融合蛋白進行還原(R)或非還原(NR)條件下的SDS-PAGE處理且用考馬斯藍(Coomassie blue)染色，確定其純度(圖2)。使用NanoDrop檢測時，確認包括2.78 mg/mL濃度的融合蛋白。且，使用粒徑篩析層析法分析的結果示於圖3中。

製備範例2，Fc-IL-2變異體(2M)二聚體：Fc-IL-2v2之製備

【0115】為了產生含有Fc結構域與IL-2變異體之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific Inc.之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成包含核苷酸序列(序列辨識編號：45)之多核苷酸序列，其從N端依序編碼含有訊息肽(序列辨識編號：1)、Ig鉸鏈(序列辨識編號：38)、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(R38A，F42A)取代之IL-2變異體(2M)(序列辨識編號：6)之融合蛋白，並選殖進入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(EXPI-CHO™)中，用以表現具序列辨識編號：44之融合蛋白。在導入該載體後，將CHO細胞置於37°C、125 RPM及8% CO₂之環境下培養7天，然後收集以純化融合蛋白二聚體。將純化的融合蛋白二聚體命名為"Fc-IL2v2"。

【0116】以在製備範例1中相同的方式進行該融合蛋白的純化及收集。對分離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，確認其純度(圖4)。結果，確認該融合蛋白形成二聚體。且，使用粒徑篩析層析法分析的結果示於圖5中。

製備範例3，hCD80-Fc二聚體：hCD80-Fc之製備

【0117】為了產生含有CD80片段與Fc結構域之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific Inc.之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成包含核苷酸序列(序列辨識編號：39)之多核苷酸序列，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)、連接子結合的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，並選殖進入pcDNA3_4載體中。此外，將該載體導入CHO細胞(EXPI-CHO™)中，用以表現具序列辨識編號：40之融合蛋白。導入載體後，在37°C、125RPM及8% CO₂之環境中進行培養7天，然後收集以純化融合蛋白二聚體。將純化的融合蛋白二聚體命名為“hCD80-Fc”。

【0118】使用含MabSelect SuRe蛋白A樹脂之層析法進行純化。該融合蛋白

在25 mM Tris，25 mM NaCl及pH 7.4之條件下會被結合。之後，用100 mM NaCl及100 mM醋酸於pH 3下進行洗提。在將20%的1M Tris-HCl，pH 9放入收集管中後，收集該融合蛋白。將收集的融合蛋白於PBS緩衝液中透析16個小時進行交換。

【0119】 之後，使用具TSKgel G3000SWXL管柱(TOSOH Bioscience)之粒徑篩析層析法測量在波長280nm下隨時間推移之吸收度，以獲得高濃度的融合蛋白。此時，對該分離純化的融合蛋白進行還原(R)或非還原(NR)條件下的SDS-PAGE處理且用考馬斯藍染色，確定其純度(圖6)。結果，確認該融合蛋白形成二聚體。且，使用粒徑篩析層析法分析的結果示於圖7中。

製備範例4，mCD80-Fc-IL-2變異體(2M): mGI101之製備

【0120】 根據製備範例1中相同的方法，製造含有小鼠來源CD80及IL-2之小鼠型GI-101。具體地，為了產生含有小鼠CD80、Fc結構域及IL-2變異體之融合蛋白，透過ThermoFisher Scientific Inc.之Invitrogen GeneArt Gene Synthesis服務合成多核苷酸。該多核苷酸含有核苷酸序列(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)、連接子結合的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)及具有二個胺基酸(R38A，F42A)取代之IL-2 變異體(2M) (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，用以表現具序列辨識編號：47之融合蛋白。在導入該載體後，將CHO細胞置於37°C、125 RPM及8% CO₂之環境下培養7天。然後收集該培養物並從其中純化出融合蛋白。將純化的融合蛋白命名為"mGI101"。

II. NK細胞之製備與培養

製備範例1，周邊血液單核細胞(PBMC)來源CD3(-) CD56(+)自然殺手細胞之分離

【0121】 為了獲得 CD3(-)細胞，使用 ADAM-MC2 自動細胞計數器

(NanoEnTek，購自Cosmo Genetech Co., Ltd.)測量PBMCs (周邊血液單核細胞，Zen-Bio. Inc, NC 27709, USA, Cat#: SER-PBMC-200-F)之數量。將PBMCs移到新的試管中，然後在300×g，溫度4℃下離心5分鐘。在PBS中加入0.5% (v/v)的牛血清白蛋白(BSA)及2 mM的EDTA製備MACs緩衝液(pH7.2)。離心完成後，以每 1×10^7 細胞80 μ l之MACs緩衝液及20 μ l之CD3磁珠(Miltenyi biotech, 130-050-101)處理細胞沈澱物使其懸浮，然後在4℃溫度下反應15分鐘。加入10mL的MACs緩衝液進行清洗並在300×g，溫度4℃下離心10分鐘，然後將細胞沈澱物重新懸浮於0.5mL之MACs緩衝液中。

【0122】 先讓2mL的MACs緩衝液流進LD管柱(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany, Cat#: 130-042-901)，之後接著細胞懸浮液。然後獲得通過LD管柱之CD3(-)細胞。此時，使2mL的MACs緩衝液流過三次，獲得CD3(-)細胞，如此可充分地分開殘留在LD管柱中之細胞。使用細胞計數器計數所獲得的CD3(-)細胞，然後將其置於新管中，在300×g，溫度4℃下離心5分鐘。之後，移除上清液，之後每 1×10^7 細胞添加80 μ l之MACs緩衝液及20 μ l之CD56磁珠(Miltenyi biotech, Cat#: 130-050-401)，接著在溫度4℃下反應15分鐘。加入10mL的MACs緩衝液進行清洗，在300×g，溫度4℃下離心10分鐘，之後將細胞沈澱物重新懸浮於0.5mL的MACs緩衝液中。

【0123】 使3mL的MACs緩衝液先流進LS管柱(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany, Cat#: 130-042-901)中，接著細胞懸浮液。此時，使2mL的MACs流進三次，如此可充分地分開殘留在LS管柱中之細胞。將LS管柱與磁力架分開後，加入5mL的MACs緩衝液，用活塞加壓以獲得CD3(-)CD56(+)自然殺手細胞。然後將獲得的CD3(-)CD56(+)自然殺手細胞置於新管中，在300×g，溫度4℃下離心5分鐘。移除上清液後，將細胞懸浮於培養基中，及使用細胞計數器測量懸浮細胞的數量。

製備範例2，CD3-CD56+自然殺手細胞之培養與獲得

【0124】 將包含在NK細胞活化/擴張套組 (Cat#: 130-112-968)(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany)中之100 μ l的CD335 (NKp46)-生物素及100 μ l的CD2-生物素置於1.5mL微管中並混合。加入500 μ l的抗生物素MACSiBead粒子並混合。之後，加入300 μ l的MACs緩衝液，及使用微管旋轉器在2°C至8°C下混合2小時。

【0125】 之後，將每1x10⁶細胞5 μ l的NK活化珠轉移至新管中。加入1mL的PBS並在300×g下離心5分鐘。移除上清液後，根據5 μ l/10⁶ NK細胞，加入添加有5%人AB血清(Cat#:H4522)(Sigma, St. Louis, Missouri, US)之RPMI1640培養基並使珠懸浮，接著接種至在製備範例1中分離的CD3-CD56+自然殺手細胞中。

【0126】 接著，將CD3-CD56+自然殺手細胞種在24孔盤中，然後於其中加入具有5%人AB血清(Cat#:H4522) (Sigma, St. Louis, Missouri, US)及rhIL-2 (500 IU/mL)之RPMI1640培養基，接著在37°C、5% CO₂之條件下培養。之後，每2天測定細胞數量，當占培養容器的80%以上(匯合)時，依照12孔盤、6孔盤及25T培養瓶之順序繼代培養，最後在第21天收成所有的細胞。

製備範例3，小鼠來源自然殺手細胞之培養及收集

製備範例3.1，小鼠脾細胞及骨髓的製備

【0127】 為獲得小鼠來源自然殺手細胞，首先製備小鼠脾細胞及骨髓。具體地，從6周大雌性Balb/c (ORIENT BIO Inc.)中取出脾與股骨，盡可能的清除脂肪與肌肉，小心不要弄斷股骨。將取出的股骨置於70%乙醇中，接著裝有5mL PBS之50mL管中，立即將脾轉移至裝有5mL PBS之50mL試管中，然後儲存在冰中。用70 μ m細胞濾網蓋住分別為脾及骨髓製備之裝有5mL FACS緩衝液的50mL管。FACS緩衝液A之組成述於以下表1中。

[表1]

組成			體積	最後濃度
產品		製造商		
FACS 緩衝液A	FBS	Hyclone	15 mL	3%
	EDTA	Welgene	10 mL	10 mM
	HEPES	Welgene	10 mL	20 mM
	多黏菌素B	Merk	300 mL	10 g/mL
	盤尼西林/鏈黴素	Biolegend	5 mL	10,000 U/mL盤尼西林 / 10,000 g/mL鏈黴素
	100 mM丙酮酸鈉	Gibco	5 mL	1 mM
	PBS	Sigma	至500 mL	

【0128】 在用針尖搗碎後，加入5mL FACS緩衝液A以收集細胞。之後，在1,300rpm、4℃下離心5分鐘，除去上清液。用3mL ACK溶胞緩衝液將脾溶解，以去除紅血球細胞，然後置於冰上培育3分鐘。3分鐘後，加入FACS緩衝液A，使總積體至20mL。渦旋產物，然後在1,300rpm、4℃下離心5分鐘及去除上清液。通過重複以上過程去除紅血球，直到沈澱物之顏色轉成粉紅色，然後用10mL FACS緩衝液A溶解，以計數細胞。

【0129】 在用於骨髓的70 μ m細胞濾器上將股骨二側切開，使用1ml充填10mL FACS緩衝液A之針筒，讓FACS緩衝液A流進骨頭的洞中。來回移動一會兒，然後在FACS緩衝液A流至切開的組織時，收集細胞。收集細胞，然後於1,300rpm、4℃下離心5分鐘。然後，去除上清液，並用10mL FACS緩衝液A溶解，接著計數細胞。

製備範例3.2，小鼠NK細胞之分離與培養

【0130】 使用NK細胞分離套組(#130-115-818)，從以上製備範例3.1之6周大雌性Balb/c (ORIENT BIO Inc.)小鼠中分離出來的脾及骨髓中，分離出NK細胞。分離後，在1,300×g、4℃下進行離心，並去除上清液。

【0131】 每10⁷細胞添加40 μ l MACS緩衝液(脾600 μ l，骨髓200 μ l)使細胞沈澱物懸浮，及每10⁷細胞添加40 μ l NK雞尾酒細胞(脾150 μ l，骨髓50 μ l)。然而，在此情況下，超過5×10⁷細胞顯示出凝集現象，所以將其等分開並混合。之後，在300×g、4℃下離心，去除上清液。

【0132】 每 10^7 細胞加入2mL清洗緩衝液(脾30mL，骨髓10mL)，清洗，在 $300\times g$ ， 4°C 下離心並去除上清液。之後，每 10^7 細胞加入 $80\mu\text{l}$ MACS緩衝液(脾1.2mL，骨髓 $400\mu\text{l}$)，然後每 10^7 細胞加入 $20\mu\text{l}$ 抗生物素微珠(脾 $300\mu\text{l}$ ，骨髓 $100\mu\text{l}$)，混合，並在冰箱中培養10分鐘。

【0133】 使 $500\mu\text{l}$ 混合與抗生物素微珠的細胞流進MS管柱，獲得通過該管柱的上清液。重複相同的過程，以獲得通過該管柱之上清液，然後在 $300\times g$ ， 4°C 下離心。之後去除上清液。通過重新懸浮於GC-RPMI培養基(1 $\times$)中計數細胞(脾： $6.95\times 10^5/\text{mL}$ 生存力59%，骨髓： $1.58\times 10^6/\text{mL}$ 生存力64%)。GC-RPMI培養基之組成述於以下表2中。

[表2]

組成				最後濃度
	產品	製造商	Cat.#	
GC-RPMI	RPMI 1640	Welgene	LM 011-01	
	Pen-Strep	Welgene	LS 202-02	1 $\times$
	正大黴素	Gibco	15750-060	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$
	丙酮酸鈉	Welgene	LS 013-01	1 mM
	2-巰乙醇	Gibco	21985-023	55 μM
	NEAA	Gibco	11140050	2 mM
	L-麩醯胺酸	Gibco	25030149	2 mM
	FBS	Hyclone	SH30084.03	10%

【0134】 在將 3.5×10^5 個從脾及骨髓中分離出來之NK細胞種於60mm培養容器後，用50ng/mL的rmIL-2處理並培養14天。

III. 癌細胞之製備及小鼠模型之建構

製備範例4，人源癌細胞株及其培養基之製備

【0135】 參考以下表3，使用適合各種癌細胞株之培養溶液。

[表3]

癌細胞株	來源生物	疾病	製造商	培養基之組份
K562	智人，人	慢性骨髓性白血病	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
MDA-MB-231	智人，人	乳癌	Korean Cell Line Bank	高葡萄糖 RPMI1640 + 10% FBS

HCT-116	智人，人	結腸癌	ATCC	McCoy's 5A + 10% FBS
A549	智人，人	肺癌	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS

【0136】 具體地，使 2×10^6 細胞之癌細胞株重新懸浮於8mL各培養溶液中並於25T培養瓶中培養。回收細胞時，對貼壁型細胞用1mL的胰蛋白酶-EDTA (0.25%)處理，並於5% CO₂中反應2分鐘。之後，加入5mL培養溶液，以便回收脫離培養瓶的細胞，然後於300×g下離心5分鐘。

以下表4顯示用於各癌細胞株之具體培養溶液的組成。

[表4]

組成					體積	最後濃度
產品			製造商	Cat.#		
RPMI1640 (10% FBS)	主要組份	RPMI 1640 培 養 基 (1×)，液 體	Welgene	LM011- 01	500 mL	
		FBS	HYCLONE™	SV30207. 02	50 mL	10%
		盤尼西林-鏈黴 素溶液(×100)	Welgene	LS 202- 02	0.5 mL	1×
高葡萄糖 RPMI1640 (10% FBS)	主要組份	高葡萄糖RPMI 1640培養基	ATCC	30-2001	500 mL	
		FBS	HYCLONE™	SV30207. 02	50 mL	10%
		盤尼西林-鏈黴 素溶液(×100)	Welgene	LS 202- 02	0.5 mL	1×
McCoy's (10% FBS)	主要組份	McCoy's 5A(ATCC)	ATCC	30-2007	500 mL	
		FBS	HYCLONE™	SV30207. 02	50 mL	10%
		盤尼西林-鏈黴 素溶液(×100)	Welgene	LS 202- 02	0.5 mL	1×

製備範例5，小鼠來源癌細胞株及其培養基的製備

【0137】 CT26.WT，一種小鼠結腸癌細胞，購自ATCC (American Type Culture Collection, USA) (表5)。將待用於實驗的癌細胞解凍，置於細胞培養瓶中，在37℃，5% CO₂培育箱中(MCO-170M，Panasonic, Japan)培養。將細胞株移植那一天培養的細胞置於離心管中並收集，然後在125×g下離心5分鐘，去除上清液。之後，加入PBS製備細胞懸浮液(5×10^7 細胞/mL)，等份分配給9隻小鼠，並儲存在

冰上直至投與。

[表5]

	來源生物	疾病	製造商	最後濃度
CT26	家鼯鼠，小鼠	結腸癌	ATCC	5×10 ⁵

【0138】 將胎牛血清(FBS；16000-044，Thermofisher scientific, USA)、盤尼西林-鏈黴素(10,000單位/mL盤尼西林及10,000 µg/mL鏈黴素；15140122, Thermofisher scientific, USA)及RPMI1640 (A1049101，Thermofisher scientific, USA)混合以獲得每100mL具有以下表6中所述的組成，用作癌細胞之培養基。

[表6]

組成				體積	最後濃度
產品		製造商	Cat.#		
用於癌細胞的培養基	FBS	Thermofisher scientific	16000-044	10 mL	10%
	盤尼西林&鏈黴素	Thermofisher scientific	15140122	1 mL	10,000 U/mL 盤尼西林 & 10,000 µg/mL 鏈黴素
	RPMI 1640	Thermofisher scientific	A1049101	至100 mL	

製備範例6，癌小鼠模型之製備

製備範例6.1，實驗小鼠的隔離和馴化過程

【0139】 從ORIENT BIO Inc.購入36隻雌性12周大BALB/c小鼠。在用於實驗室之前，先將小鼠帶至動物實驗室馴化5天。接到小鼠時，他們會評估外觀及稱體重。在5天的馴化期間，每天觀察一般症狀一次，且在馴化期結束時，測量體重，然後核對一般症狀及體重的變化，以評估小鼠的健康狀況。異常的小鼠在CO₂麻醉下安樂死。

【0140】 有關實驗室小鼠之資訊總結並示於以下表7中。

[表7]

	來源品種	購自	年齡	性別
小鼠	Balb/c	OrientBio	12周大	雌性

製備範例6.2，癌細胞株的移植

【0141】 在腫瘤抑制模型方面，在隔離及馴化期結束後隔天測量體重，然後將為健康動物準備的CT26細胞懸浮液(5×10^5 細胞/0.1mL)，裝在拋棄式針筒中，皮下投與至小鼠的右背(0.1mL/隻)進行移植。在細胞株移植後之植入及生長期間，每天觀察一般症狀一次。

製備範例6.3，腫瘤生長抑制小鼠模型之分組

【0142】 在CT26細胞移植一段時間後，測量沒有異常健康狀態之小鼠的腫瘤體積及體重，並分成4組(9隻/組)，以便各組的平均值達到50mm³。

IV. NK細胞與融合蛋白二聚體的抗癌活性之測定：試管內

範例1，NK細胞和/或融合蛋白二聚體對各種癌的癌細胞生長抑制作用之測定

【0143】 參照用於96孔盤的盤設計，分別地將50 μ l的0.01%聚-L-鳥胺酸溶液(Cat#. P4957)(Sigma Aldrich, US)分配於孔中並進行包被。然後，置於室溫下1小時。1小時後，移除該分配的0.01%聚-L-鳥胺酸溶液，並於室溫下完全乾燥1小時。將2 μ l的CELLTRACKER™ Deep Red Dye (Cat# C34565)(Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)加至以 4×10^5 細胞/mL製備的癌細胞(標靶細胞)中，並容許在37°C及5% CO₂下反應60分鐘。

【0144】 反應後，在300×g下對反應產物離心5分鐘。去除上清液，然後溶於RPMI1640 + 5% hABS培養溶液中至 4×10^5 細胞/mL。分別將50 μ l製得的癌細胞分配於包被的96孔盤之孔中。然後，將製得的盤置於INCUCYTE® Live-Cell分析系統(Satorius, Germany)儀器中，之後容許穩定10分鐘。參考以下表8，將含測試材料之培養溶液配製於RPMI1640 + 5% hABS中。

[表8]

測試基質	對照	GI-101	CD80-Fc+Fc-IL2v2
濃度	0 nM	100 nM	CD80-Fc：100 nM, Fc-IL2v2: 100 nM

【0145】 通過懸浮於RPMI1640 + 5% hABS培養溶液中至 4×10^5 細胞/mL製

備自然殺手細胞(效應細胞)。參考以下表9，將於製備範例1及2中製得的自然殺手細胞加至具有分配癌細胞之各孔中，然後加入100 μ l用INCUCYTE® CytoTox (250 nM)處理的培養溶液。

[表9]

E/T比	0/1	1/3	1/1	3/1	10/1
NK細胞之數目	-	6.7×10^3	2×10^4	6×10^4	2×10^5
癌細胞之數目	2×10^4	2×10^4	2×10^4	2×10^4	2×10^4

【0146】 之後，將其放入INCUCYTE® Live-Cell分析系統中以30分鐘之間隔分析3天。

範例1.1，在有標靶癌細胞無NK細胞之情況下，單獨融合蛋白二聚體之效率的測定

【0147】 如以上範例1所述，當在僅有標靶癌細胞無NK細胞之存在下培養各種癌症類型之細胞株(K562、MDA-MB-231、HCT-116及A549細胞株)時，觀察到各別的測試材料GI-101及CD80-Fc+Fc-IL2v2沒有顯著地影響癌細胞之生存力(見表9，E/T比=0/1)(圖8至11)。

範例1.2，NK細胞及融合蛋白二聚體對K562細胞(淋巴母細胞)之癌細胞增殖抑制作用

【0148】 確認自然殺手細胞在K562細胞株，一種白血症癌細胞株，上的癌細胞殺傷能力。具體地，分別地確認當共培養作為標靶細胞(T)之K562細胞株與作為效應細胞(E)之自然殺手細胞，E/T比= 1/3、1/1、3/1及10/1時，以測試材料GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2作為組合材料處理的癌細胞生存力。

【0149】 結果顯示，當自然殺手細胞殺傷癌細胞以對抗K562細胞株時，GI-101組合材料(其是IL2- Fc -CD80融合蛋白之形式)之處理，抑制癌細胞之生存力勝過CD80-Fc+Fc-IL2v2處理(圖12至15)。

範例1.3，NK細胞與融合蛋白二聚體對MDA-MB231細胞之癌細胞增殖抑制

作用。

【0150】 確認自然殺手細胞在MDA-MB231細胞株，一種乳癌細胞株，中之癌細胞殺傷能力。具體地，分別地確認當共培養作為標靶細胞(T)之MDA-MB231細胞株與作為效應細胞(E)之自然殺手細胞，E/T比=1/3、1/1、3/1及10/1時，以測試材料GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理的癌細胞生存力。

【0151】 結果顯示當自然殺手細胞殺傷癌細胞以對抗MDA-MB231細胞株時，GI-101組合材料(其是IL2-Fc-CD80融合蛋白之形式)之處理，抑制癌細胞之生存力勝過CD80-Fc+Fc-IL2v2處理(圖16至19)。

範例1.4，NK細胞與融合蛋白二聚體對HCT-116細胞之癌細胞增殖抑制作用

【0152】 確認自然殺手細胞在HCT-116細胞株，一種結腸癌細胞株，中之癌細胞殺傷能力。具體地，分別地確認當共培養作為標靶細胞(T)之HCT-116細胞株與作為效應細胞(E)之自然殺手細胞，E/T比=1/3、1/1、3/1及10/1時，以測試材料GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力。

【0153】 結果顯示當自然殺手細胞殺傷癌細胞以對抗HCT-116細胞株時，GI-101組合材料(其是IL2-Fc-CD80融合蛋白形式)之處理，抑制癌細胞之生存力勝過CD80-Fc+Fc-IL2v2處理(圖20至23)。

範例1.5，NK細胞與融合蛋白二聚體對A549細胞之癌細胞增殖抑制作用

【0154】 確認自然殺手細胞在A549細胞株，一種結腸癌細胞株，中之癌細胞殺傷能力。具體地，分別地確認當共培養作為標靶細胞(T)之A549細胞株與作為效應細胞(E)之自然殺手細胞，E/T比=1/3、1/1、3/1及10/1時，以測試材料GI-101或CD80-Fc+Fc-IL2v2之組合材料處理之癌細胞生存力。

【0155】 結果顯示當自然殺手細胞殺傷癌細胞以對抗A549細胞株時，GI-101組合材料(其是IL2-Fc-CD80融合蛋白形式)之處理，抑制癌細胞之生存力勝過CD80-Fc+Fc-IL2v2處理(圖24至27)。

V. NK細胞與融合蛋白二聚體在癌小鼠模型中之癌細胞殺傷能力的測定：活體內

範例2，mGI-101及NK細胞之投與

【0156】 通過腹膜內途徑對癌小鼠模型投與製備範例4中獲得的mGI-101，通過靜脈途徑投與製備範例3中製得的小鼠來源NK細胞。在投與當天(腫瘤移植後第6天、第10天及第13天)使用拋棄式針筒(31G，1mL)進行一次投與，共3次。針對腫瘤生長抑制模型，如以下表10所示，待投與之細胞及投與劑量四組均不同(圖28)。

[表10]

組	投與細胞	hIgG4或mGI-101之劑量 (mg/kg)	NK細胞之數量
G1 (對照)	hIgG4	4	0
G2	hIgG4 + NK細胞	4	1×10 ⁶
G3	單獨mGI101	0.6	0
G4	mGI101 + NK細胞	0.6	1×10 ⁶

範例3，癌小鼠模型之腫瘤體積的測量

【0157】 使用數位卡尺(mitutoyo, Japan)測量腫瘤之最大長度(L)及垂直寬度(W)一周二次，套用以下方程式1以計算腫瘤體積(TV)。

[方程式1]

$$TV\ (mm^3) = W \times W \times L \times 0.5$$

【0158】 使用以下方程式2計算腫瘤生長抑制百分比：

[方程式2]

$$\text{腫瘤生長抑制}(\%) = (1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)) \times 100$$

Ti = 測試組於投與前之腫瘤體積

T0 = 測試組於投與後之腫瘤體積

Vi = 對照組於投與前之腫瘤體積

V0 = 對照組於投與後之腫瘤體積

【0159】投與前各個體的腫瘤體積設定為分組時測量的值。

範例4，CT26移植癌小鼠模型中腫瘤生長抑制作用之測定

範例4.1，腫瘤體積之測量

【0160】配製準備給健康Balb/c小鼠之CT26結直腸癌細胞懸浮液(5×10^5 細胞/0.1mL)，將製得的溶液裝在拋棄式針筒中，皮下投與至小鼠的右背(0.1mL/隻)進行移植。在腫瘤移植後，分別投與表10中所示的藥物。之後，在第10天、第13天及第17天測量腫瘤尺寸。與對照組(載具)相比，單獨用自然殺手(NK細胞)或mGI-101治療之組中，細胞腫瘤生長受到抑制。與對照組(載具)相比，用自然殺手(NK細胞)與mGI-101組合治療之組中，細胞腫瘤生長受到抑制。與單獨用自然殺手細胞或mGI-101相比，用自然殺手與mGI-101組合治療之組中，細胞腫瘤生長受到抑制(圖29)。

範例4.2，腫瘤生長抑制分析

【0161】在實驗結束(腫瘤移植後，第17天)時，計算相較於藥物治療第1天(腫瘤移植後，第10天)之腫瘤生長抑制率。對照組(載具)有3隻小鼠具有腫瘤生長抑制30%以上，3隻具有腫瘤生長抑制率50%以上及2隻具有腫瘤生長抑制率80%。自然殺手細胞治療組有6隻具有腫瘤生長抑制率30%以上，5隻具有腫瘤生長抑制率50%以上及2隻具有腫瘤生長抑制率80%。mGI-101治療組有5隻具有腫瘤生長抑制率30%以上，5隻具有腫瘤生長抑制率50%以上及1隻小鼠具有腫瘤生長抑制率80%。自然殺手細胞與mGI-101組合治療組有7隻小鼠具有腫瘤生長抑制率30%以上，6隻具有腫瘤生長抑制率50%以上及3隻具有腫瘤生長抑制率80% (圖30)。在圖30中，黑長條表示腫瘤生長抑制率30%以上，淺灰色長條表示腫瘤生長抑制率50%以上及深灰色長條表示腫瘤生長抑制率80%以上。

範例4.3，個別實驗動物之腫瘤體積的測量

【0162】測定各治療組中個別實驗動物之腫瘤生長。具體地，測定對照組

(載具)、自然殺手細胞(NK細胞)、mGI-101及自然殺手細胞+mGI-101治療組中個別實驗動物之腫瘤生長，並示於圖31中。在圖31中，虛線表示腫瘤尺寸為500 mm³，實線表示腫瘤尺寸為250 mm³。

【0163】更具體地，測定對照組中個別實驗動物之腫瘤生長程度並示於圖32中，及測定自然殺手細胞治療組中個別實驗動物之腫瘤生長程度並示於圖33中。此外，測定mGI-101治療組中個別實驗動物之腫瘤生長程度並示於圖34中及測定自然殺手細胞與mGI-101組合治療組中個別實驗動物之腫瘤生長程度並示於圖35中。

【符號說明】

(無)

[序列表]

<110> 南韓喬GI細胞股份有限公司 (GI CELL, INC.)

<120> 包含含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白與自然殺手細胞的用於治療癌症的藥學組成物

<130> TW 109141895

<150> KR 10-2019-0154631

<151> 2019-11-27

<150> KR 10-2020-0015802

<151> 2020-02-10

<160> 47

<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>

具連接子之鉸鏈

<400>					3										
Gly	Ser	Gly	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> 含有IL-2之變異體及CD80之片段之融合蛋白

<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

tctccttctc acgctgtgat ccacgtgacc aaagaagtga aagaggtcgc cacactgtcc	120
tgcggccaca acgtttcagt ggaagaactg gccagacca 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 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 cctgattaa gacggccacc tgagagtga ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tccttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcggg ccctctgtgt tcctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacacct 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 tgctccaag 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 ccctgcacaa tctactacacc cagaagtccc tgtctctgtc tcttggaggt	1440
ggtggcgggt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat	1500
ctgctgctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg	1560

accgccatgc tgaccgctaa gttctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc1620

cagtgcctgg aagaagaact gaagcccctg gaagagggtgc tgaatctggc ccagtccaag1680

aacttccacc tgaggccacg ggacctgac agcaacatca acgtgacgt gctggaactg1740

aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa1800

tttctgaacc ggtggatcac cttctgccag agcatcatct ccacactgac ctgatga1857

<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	
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	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> 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
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 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
1 5 10 15

Leu Asn Phe Phe Gln Leu Leu Val Leu Ala Gly Leu Ser His Phe Cys
20 25 30

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

Ser Cys Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile
50 55 60

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 tggtgctgtc cgtgatcgcc ggaaagctga aagtgtggcc tgagtacaag 240

aacaggaccc tgtacgacaa caccacctac agcctgatca tcctgggcct cgtgctgagc 300

gatagaggca cctattcttg cgtggtgcag aagaaagagc ggggcaccta cgaagtgaag 360

cacctggctc tggtcaagct gtccatcaag gccgacttca gcaccctaa catcaccgag 420

tctggcaacc cttccgccga caccaagaga atcacctglt tcgcctctgg cggttcctt 480

aagcctcgggt tctcttggct ggaaaacggc agagagctgc ccggcatcaa taccaccatt 540

tctcaggacc cagagtcga 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

tgtcctgctc cagaagctgc tggcggaccc tctgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag 840

gaccagctca tgatctctcg gacccctgaa gtgacctgcg tggagggtgga tgtgtctcaa 900

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 ctctgtctct tggagggtgt 1440

ggcggttctg ccctacctc cagctctacc aagaaaacce agctccagtt ggagcatctg 1500

ctgctggacc tccagatgat cctgaatggc atcaacaatt acaagaacce caagctgacc 1560

gccatgctga ccgctaagtt ctacatgccc aagaaggcca ccgagctgaa gcacttgca 1620

tgcctggaag aggaactgaa gcccctggaa gaagtgtga atctggccca 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> 具訊息肽之融合蛋白(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
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 gccgactttc ccacaccttc catctccgac	420
ttcagatcc ctacctcaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggccttctc	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 getgagtcta agtatggccc tcttgtct	780

ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcgga ccctctgtgt tcctgtttcc tccaaagcct840

aaggaccagc tcatgatctc tcggacaccc gaagtgcctt gcgtggtagt ggatgtgtct900

caagaggacc ctgaggtgca gtccaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc960

aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgtc cgtgctgacc1020

gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgtc caacaagggc1080

ctgccttcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaaccccag1140

gtttacaccc tgccccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgtc cctgacctgc1200

ctggtaagg gtttctaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa tggccagcct1260

gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac1320

tctcgctga ccgtggacaa gtctaggtag caagagggca acgtgttctc ctgctctgtg1380

ctgcacgagg ccctgcacaa tcactacacc cagaagtcct tgctctgtgc cctgggc1437

<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

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

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									
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									
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									
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 gtcttccatg tctgctcca 120

gaagctgctg gcggaccctc tgtgttcctg ttctctccaa agcctaagga ccagctcatg 180

atctctcgga ccctgaagt gacctgcgtg gtggtggatg tgtctcaaga ggacctgag 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 acatgcccac gaagccacc 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 gccagtcacat 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	
			340					345					350			
Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr		

355

360

365

<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
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg 60

tctccttctc acgcgttgga cgagcagctc tccaagtccg tgaaggataa ggtcctgctg 120

ccttgccggt acaactctcc tcacgaggac gagtctgagg accggatcta ctggcagaaa 180

cacgacaagg tgggtctgtc cgtgatcgcc ggaaagctga aagtgtggcc tgagtacaag 240

aacaggagcc tgtacgacaa caccacctac agcctgatca tcctgggcct cgtgctgagc 300

gatagaggca cctattcttg cgtgggtcag aagaaagagc ggggcacctc cgaagtgaag 360

cacctggctc tggtaagct gtccatcaag gccgactica gcaccacctaa catcaccgag 420

tctggcaacc ctccgccga caccaagaga atcacctgtt tcgcctctgg cggtctccct 480

aagcctcggg tctcttggct ggaaaacggc agagagctgc ccggcatcaa taccaccatt 540

tctcaggacc cagagtcga 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

tgtcctgtc cagaagctgc tggcggagcc tctgtgttcc tgttctctcc aaagcctaag 840

gaccagctca tgatctctcg gaccttgaa gtgacctgcg tgggtgggga tgtgtctcaa 900

gaggacctg aggtgcagtt caattgttac gtggacggcg tggaaagtga caacccaag 960

accaagccta gagaggaaca gticaactcc acctatagag tgggtgtccgt gctgacctg 1020

ctgcaccagg attggctgaa cggcaaagag tacaagtga aggtgtccaa caagggcctg 1080

ccctccagca tcgaaaagac catcagcaag gctaagggcc agcctaggga accccaggtt1140

tacacctgc ctccaagcca agaggaaatg accaagaacc aggtgtccct gacctgctg1200

gtcaagggtt tctacccttc cgacattgcc gtggaatggg agtccaatgg ccagcctgag1260

aacaactaca agaccacacc tctgtgctg gactccgacg gctccttctt tctgtactct1320

cgctgaccg tggacaagtc taggtggcaa gagggcaacg tgttctcctg ctctgtgctg1380

cacgaggctc tgcacaacca ctacaccag aagtcctgt ctctgtccct gggc1434

<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

151015

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

202530

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

354045

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

505560

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

65707580

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

859095

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

100105110

Glu Arg Gly Thr Tyr Glu Val Lys His Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser

115120125

Ile Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Asn Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro

130135140

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

<400> 22
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Ala Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn 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> 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 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 gcttcatgtg cctgattaa g tacggccacc tgagagtga ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tcttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcgga ccctctgtgt tctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacaccc gaagtgcctt gcgtgggtgt ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gttcaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgtc cgtgtgacc	1020
gtgtgtcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgt 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 ccctgcacaa tctactacacc cagaagtccc tgtctctgtc tcttgagggt	1440
ggtggcgggt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat	1500
ctgtgtctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg	1560
accgccatgc tgaccgctaa gttcgccatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc	1620
cagtccttg aagaagaact gaagccctg gaagagggtc tgaatctggc ccagtcgaag	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
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 Ala 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> 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 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 cgtggtgctg 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
ggcggaggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tcttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcggc ccctctgtgt 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 tcttggaggt	1440
ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat	1500
ctgctgtctg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg	1560
accgccatgc tgaccgctaa gttctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc	1620
cagtgcctgg aaagggaact 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(GI102-M61)

<400> 28
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 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	
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
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 cgtgggtgctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag	360
cacctggctg aagtgacact gtccgtgaag gccgactttc ccacaccttc catctccgac	420
ttcgagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctgtt ctacctctgg cggccttctc	480
gagcctcacc tgtctttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg	540

tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgct gtgtcctcca agctggactt caacatgacc	600
accaaccaca gcttcatgtg cctgattaaag tacggccacc tgagagtga ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcacttc cctgacaatg gatctggcgg cggaggttct	720
ggcggagggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tcttgtcct	780
ccatgtcctg ctccagaagc tgctggcgga cctctgtgt tctgtttcc tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacaccc gaagtgcct gcgtgggtgt ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gtccaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtgggtgt cgtgctgacc	1020
gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgt caacaagggc	1080
ctgccctcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaacccag	1140
gtttacacc tgccccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgt cctgacctgc	1200
ctggtcaagg gttctaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtcca tggccagcct	1260
gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac	1320
tctcgctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc ctgctctgtg	1380
ctgcacgagg ccctgcacaa tctactaccc cagaagtccc tgtctctgtc tcttgagggt	1440
ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat	1500
ctgctgctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg	1560
accgcatgc tgaccgctaa gttctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc	1620
cagtgcctgg aagaagaact gaagcccctg gaagagggtc tgaatggggc ccagtccaag	1680
aacttcacc tgaggccacg ggacctgatc agcaacatca acgtgatcgt gctggaactg	1740
aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa	1800
tttctgaacc ggtggatcac cttctgccag 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 gccgactttc ccacacctic catctccgac	420
ttcagatcc ctacctccaa catccggcgg atcatctggt ctacctctgg cggccttctt	480
gagcctcacc tgtcttggct ggaaaacggc gaggaactga acgccatcaa caccaccgtg	540
tctcaggacc ccgaaaccga gctgtacgct gtgtcctcca agctggactt caacatgacc	600

accaaccaca gcttcatgtg cctgattaag tacggccacc tgagagtga	ccagaccttc	660
aactggaaca ccaccaagca agagcattc cctgacaatg gatctggcgg	cggaggttct	720
ggcggaggtg gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc	tccttgtcct	780
ccatgtcttg ctccagaagc tgctggcgga cctctgtgtt tcctgtttcc	tccaaagcct	840
aaggaccagc tcatgatctc tcggacaccc gaagtgcctt gcgtgggtgt	ggatgtgtct	900
caagaggacc ctgaggtgca gtccaattgg tacgtggacg gcgtggaagt	gcacaacgcc	960
aagaccaagc ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagggtgtc	cgtgctgacc	1020
gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgtc	caacaagggc	1080
ctgccttcca gcatcgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag	ggaacccag	1140
gtttacaccc tgctccaag ccaagaggaa atgaccaaga accagggtgtc	cctgacctgc	1200
ctggtaagg gcttctaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa	tggccagcct	1260
gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt	ctttctgtac	1320
tctgcctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc	ctgctctgtg	1380
ctgcacgagg ccctgcacaa tctactaccc cagaagtccc tgtctctgtc	tcttggaggt	1440
ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca	gttggagcat	1500
ctgctgctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa	ccccaagctg	1560
accgcgatgc tgacctttaa gttctacatg 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> 32
- <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 tcacgaggac gagtctgagg accggatcta ctggcagaaa 180

cacgacaagg tgggtctgtc cgtgatcgcc ggaaagctga aagtgtggcc tgagtacaag 240

aacaggaccc tgtacgacaa caccacctac agcctgatca tcttgggcct cgtgctgagc 300

gatagaggca cctattcttg cgtggtgcag aagaaagagc ggggcacctc cgaagtgaag 360

cacctggctc tgggtcaagct gtccatcaag gccgacttca gcaccctaa cateaccgag 420

tctggcaacc ctccgccga caccaagaga atcacctgtt tcgcctctgg cggttccct 480

aagcctcggg 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
tgctctgctc cagaagctgc tggcggacct tctgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag	840
gaccagctca tgatctctcg gacccctgaa gtgacctgcg tggagggtgga tgtgtctcaa	900
gaggaccctg aggtgcagtt caattggtag gtggacggcg tggaaagtga caacgccaag	960
accaagccta gagaggaaca gtccaactcc acctatagag tgggtgtccgt gctgaccgtg	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
cgcttgaccg tggacaagtc taggtggcaa gagggcaacg tgttctcctg ctctgtgctg	1380
cacgaggctc tgcacaacca ctacaccag aagtccctgt ctctgtctct tggagggtggt	1440
ggcggttctg cccctacctc cagctctacc aagaaaaccc agctccagtt ggagcatctg	1500
ctgctggacc tccagatgat cctgaatggc atcaacaatt acaagaaccc caagctgacc	1560
gccatgctga ccgctaagtt ctacatgccc aagaaggcca ccgagctgaa gcacttgacg	1620
tgcttgaaa gggaactgaa gcccctggaa gaagtgtga atctggccca gtccaagaac	1680
ttccacctga ggcctaggga cctgatctcc aacatcaacg tgatcgtgct ggaactgaaa	1740
ggctccgaga caaccttcat gtgcgagtag gccgacgaga cagccacat cgtggaattt	1800
ctgaaccggt ggatcacctt 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
515 520 525

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

530	535	540
Glu Leu Lys Pro Leu	Glu Glu Val Leu Asn Leu	Ala Gln Ser Lys Asn
545	550	555560
Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val	565	570575
Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp	580	585590
Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys	595	600605
Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr	610	615
<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	1	51015
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu	20	2530
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile	35	4045
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe	50	5560
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu	65	707580
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys	85	9095
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile	100	105110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala		

115 120 125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150

<210> 36
<211> 158
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具訊息序列之IL-2

<400> 36
Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
20 25 30

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
35 40 45

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
50 55 60

Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
65 70 75 80

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
85 90 95

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
100 105 110

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
115 120 125

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
130 135 140

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150 155

<210> 37
<211> 474
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼具訊息序列之IL-2之核苷酸序列

<400> 37
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg 60

tctccttctc acgctgcccc taccagctcc tctaccaaga aaaccagct ccagttggag 120

catctgctgc tggacctcca gatgattctg aacgggatca acaactataa gaacccaag 180

ctgaccgcga tgctgacctt taagttctac atgccaaga aggccaccga gctgaagcac 240

ctccagtgcc tggagaaga actgaagccc ctggaagagg tgctgaatct ggcccagtec 300

aagaacttcc acctgaggcc acgggacctg atcagcaaca tcaacgtgat cgtgctggaa 360

ctgaagggct ccgagacaac ctttatgtgc gagtacgccg acgagacagc caccatcgtg 420

gaatttctga accggtggat caccttctgc cagagcatca tctccacact gacc 474

<210> 38
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈

<400> 38
Ala Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 39
<211> 1461
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼CD80-Fc蛋白之核苷酸

<400> 39	
ggatccgccca ccatggatgc tatgctgaga ggccctgtgtt gcgtgctgct gctgtgtggc	60
gctgtgttcg tgtctccttc tcacgctgtg atccacgtga ccaaagaagt gaaagaggtc	120
gccacactgt cctgcggcca caacgtttca gtggaagaac tggcccagac caggatctac	180
tggcagaaag aaaagaaaat ggtgctgacc atgatgtccg gcgacatgaa catctggcct	240
gagtaacaaga accggaccat cttcgacatc accaacaacc tgtccatcgt gattctggcc	300
ctgaggcctt ctgatgaggg cacctatgag tgcgtgtgtc tgaagtacga gaaggacgcc	360
ttcaagcgcg agcacctggc tgaagtgaca ctgtccgtga aggccgactt tcccacacct	420
tccatctccg acttcgagat ccctacctcc aacatccggc ggatcatctg ttctacctct	480
ggcggctttc ctgagcctca cctgtcttgg ctggaaaacg gcgaggaact gaacgccatc	540
aacaccaccg tgtctcagga ccccgaaacc gagctgtacg ctgtgtcctc caagctggac	600
ttcaacatga ccaccaacca cagcttcatg tgccctgatta agtacggcca cctgagagtg	660
aaccagacct tcaactggaa caccaccaag caagagcact tccctgacaa tggatctggc	720
ggcggaggtt ctggcggagg tggaagcgga ggcggaggat ctgctgagtc taagtatggc	780
cctccttgtc ctccatgtcc tgtccagaa gctgctggcg gacctctgt gtctctgttt	840
cctccaaagc ctaaggacca gctcatgac tctcgacac ccgaagtgac ctgcgtggtg	900
gtggatgtgt ctcaagagga ccctgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa	960
gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca actccaccta cagagtggtg	1020
tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagtg	1080
tccaacaagg gcctgccttc cagcatcgaa aagaccatct ccaaggctaa gggccagcct	1140
agggaacccc aggtttacac cctgcctcca agccaagagg aaatgaccaa gaaccagtg	1200
tccctgacct gcctggtaaa gggtttctac ccttccgaca ttgccgtgga atgggagtec	1260
aatggccagc ctgagaacaa ctacaagacc acacctctg tgcctggactc cgacggctcc	1320
ttctttctgt actctgcct gaccgtggac aagtctaggt ggcaagaggg caacgtgttc	1380
tctgtctctg tgctgcacga ggccctgcac aatcactaca cccagaagtc cctgtctctg	1440
tccctgggct gatgactcga g	1461

<210> 40
<211> 479
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD80-Fc蛋白

<400> 40
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		

465	470	475	
<210>	41		
<211>	1851		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	編碼融合蛋白(hCD80-Fc-IL2wt)之核苷酸		
<400>	41		
atggatgcta	tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg	60	
tctcctttct	acgcgtgat 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 cgtgggtctg aagtacgaga aggacgcctt caagcgcgag	360	
cacctggctg	aagtgacact gtccgtgaag gccgactttc ccacaccttc catctccgac	420	
ttcgagatcc	ctacctcaa 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	
ggcggaggtg	gaagcggagg cggaggatct gctgagtcta agtatggccc tccttgcct	780	
ccatgtcctg	ctccagaagc tgctggcgga cctctgtgt tctgtttcc tccaaagcct	840	
aaggaccagc	tcattgatctc tcggacacc gaagtacct gcgtggtggt ggatgtgtct	900	
caagaggacc	ctgaggtgca gtccaattgg tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc	960	
aagaccaagc	ctagagagga acagttcaac tccacctaca gagtggtgtc cgtgctgacc	1020	
gtgctgcacc	aggattggct gaacggcaaa gagtacaagt gcaagggtgc caacaagggc	1080	
ctgccttcca	gcacgaaaa gaccatctcc aaggctaagg gccagcctag ggaaccccag	1140	

gtttacaccc tgcctccaag ccaagaggaa atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgc 1200

ctgggtcaagg gcttctaccc ttccgacatt gccgtggaat gggagtccaa tggccagcct 1260

gagaacaact acaagaccac acctcctgtg ctggactccg acggctcctt ctttctgtac 1320

tctcgctga ccgtggacaa gtctagatgg caagagggca acgtgttctc ctgctctgtg 1380

ctgcacgagg ccctgcacaa tctactacacc cagaagtccc tgtctctgtc tcttggaggt 1440

ggtggcggtt ctgcccctac cagctcctct accaagaaaa ccagctcca gttggagcat 1500

ctgctgctgg acctccagat gattctgaac gggatcaaca actataagaa cccaagctg 1560

acccgcatgc tgacctttaa gttctacatg cccaagaagg ccaccgagct gaagcacctc 1620

cagtgcctgg aagaagaact gaagcccctg gaagagggtc tgaatctggc ccagtccaag 1680

aacttcacc tgaggccacg ggacctgatc agcaacatca acgtgatcgt gctggaactg 1740

aagggtccg agacaacctt tatgtgcgag tacgccgacg agacagccac catcgtggaa 1800

tttctgaacc ggtggatcac cttctgccag agcatcatct ccacactgac c 1851

<210> 42

<211> 367

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Fc-IL2wt

<400> 42

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	Arg	
			260					265					270			
Met	Leu	Thr	Phe	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	

340 345 350

Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
355 360 365

<210> 43
<211> 1176
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc-IL2wt

<400> 43
atggatgcta tgctgagagg cctgtgttgc gtgctgctgc tgtgtggcgc tgtgttcgtg 60

tctccttctc acgctgctga gtctaagtat ggccctcctt gtcctccatg tcctgctcca 120

gaagctgctg gcggaccctc tgtgttcctg tttcctccaa agcctaagga ccagctcatg 180

atctctcgga caccggaagt 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 gatggcaaga gggcaacgtg ttctcctgct ctgtgctgca cgaggccctg 720

cacaatcact acaccagaa gtcctgtct ctgtctcttg gagtggttg cggttctgcc 780

cctaccagct cctctaccaa gaaaaccag ctccagttgg agcatctgct gctggacctc 840

cagatgattc tgaacgggat caacaactat aagaacccca agctgacctg catgctgacc 900

tttaagtctt acatgccccaa gaaggccacc gagctgaagc acctccagt cctggaagaa 960

gaactgaagc ccctggaaga ggtgctgaat ctggcccagt ccaagaactt ccacctgagg1020

ccacgggacc tgatcagcaa catcaacgtg atcgtgctgg aactgaaggg ctccgagaca1080

acctttatgt gcgagtacgc cgacgagaca gccaccatcg tggaatttct gaaccggtgg1140

atcaccttct gccagagcat catctccaca ctgacc1176

<210>44

<211>392

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>Fc-IL2v2

<400>44

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 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

202530

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val

354045

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr

505560

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

65707580

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

859095

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

100105110

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

115120125

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

130135140

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

145150155160

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

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

- <210> 45
- <211> 1200
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>
<223> 編碼Fc-IL2v2之核苷酸

<400>	45	
ggatccgcc	ccatggatgc	tatgctgaga ggccgtgtgtt gcgtgctgct gctgtgtggc 60
gctgtgttgc	tgtctccatc	tcacgccgt gagtctaagt acggccctcc ttgtcctcca 120
tgtcctgctc	cagaagctgc	tggcggaccc tctgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag 180
gaccagctca	tgatctctcg	gaccctgaa gtgacctgcg tggagggtgga tgtgtctcaa 240
gaggaccctg	aggtgcagtt	caattggtac gtggacggcg tggaaagtga caacgccaaag 300
accaagccta	gagaggaaca	gttcaactcc acctacagag tggtgtccgt gctgaccgtg 360
ctgcaccagg	attggctgaa	cggcaaagag tacaagtga aggtgtccaa caagggcctg 420
ccttcagca	tcgaaaagac	catctccaag gctaagggcc agcctaggga accccaggtt 480
tacacctgc	ctccaagcca	agaggaaatg accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg 540
gtcaagggt	tctacccttc	cgacattgcc gtggaatggg agtccaatgg ccagcctgag 600
aacaactaca	agaccacacc	tctgtgtctg gactccgacg gctccttctt tctgtactct 660
cgctgaccg	tggacaagtc	taggtggcaa gagggcaacg tgttctctg ctctgtgtg 720
cacgaggccc	tgcacaatca	ctacaccag aagtccctgt ctctgtctct tggcggaggc 780
ggaggatctg	ctctacctc	cagctccacc aagaaaaccc agctccagtt ggagcatctg 840
ctgtctggacc	tccagatgat	cctgaatggc atcaacaatt acaagaaccc caagctgacc 900
gccatgctga	ccgctaagtt	ctacatgcc aagaaggcca ccgagctgaa gcacctccag 960
tgcttggaag	aggaactgaa	gcccctggaa gaagtgtga atctggccca gtccaagaac 1020
ttccacctga	ggcctaggga	cctgatctcc aacatcaacg tgatcgtgct ggaactgaaa 1080
ggctccgaga	caaccttcac	gtgcgagtac gccgacgaga cagccacat cgtggaattt 1140
ctgaaccggt	ggatcacctt	ctgccagtec atcatctcca cactgacctg atgactcgag 1200
		1200

<210> 46
<211> 592

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD80-Fc-IL2wt

<400> 46
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>			47													
<211>			591													
<212>			PRT													
<213>			人工序列													
<220>																
<223>			mGI-101													
<400>			47													
Val	Asp	Glu	Gln	Leu	Ser	Lys	Ser	Val	Lys	Asp	Lys	Val	Leu	Leu	Pro	
	1				5					10					15	
Cys	Arg	Tyr	Asn	Ser	Pro	His	Glu	Asp	Glu	Ser	Glu	Asp	Arg	Ile	Tyr	
				20						25					30	
Trp	Gln	Lys	His	Asp	Lys	Val	Val	Leu	Ser	Val	Ile	Ala	Gly	Lys	Leu	
			35							40					45	
Lys	Val	Trp	Pro	Glu	Tyr	Lys	Asn	Arg	Thr	Leu	Tyr	Asp	Asn	Thr	Thr	
			50							55					60	
Tyr	Ser	Leu	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Val	Leu	Ser	Asp	Arg	Gly	Thr	Tyr	
		65						70					75			80
Ser	Cys	Val	Val	Gln	Lys	Lys	Glu	Arg	Gly	Thr	Tyr	Glu	Val	Lys	His	
					85										90	95
Leu	Ala	Leu	Val	Lys	Leu	Ser	Ile	Lys	Ala	Asp	Phe	Ser	Thr	Pro	Asn	
										100					105	110

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

370					375					380					
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr
385					390					395					400
Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg
				405					410					415	
Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys
				420				425					430		
Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu
		435					440					445			
Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser
	450					455					460				
Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln
465					470					475					480
Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Ala
				485					490					495	
Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys
			500					505					510		
His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu
		515					520					525			
Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile
	530					535					540				
Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr
545					550					555					560
Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu
				565					570				575		
Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	
			580				585						590		

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種用於治療癌症的藥學組成物，其包含作為活性成份之含有IL-2蛋白及CD80蛋白之融合蛋白及自然殺手(NK)細胞。

【請求項2】 如請求項1之用於治療癌症的組成物，其中該IL-2蛋白及該CD80蛋白透過一連接子附接。

【請求項3】 如請求項1之用於治療癌症的組成物，其中該IL-2蛋白具有序列辨識編號：10之胺基酸序列。

【請求項4】 如請求項1之用於治療癌症的組成物，其中該IL-2蛋白是IL-2變異體。

【請求項5】 如請求項4之用於治療癌症的組成物，其中該IL-2變異體是藉由序列辨識編號：10之胺基酸序列中第38個、第42個、第45個、第61個及第72個胺基酸中之至少一個取代而獲得。

【請求項6】 如請求項4之用於治療癌症的組成物，其中該IL-2變異體是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之胺基酸序列中的R38A、F42A、Y45A、E61R及L72G。

【請求項7】 如請求項4之用於治療癌症的組成物，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8】 如請求項4之用於治療癌症的組成物，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9】 如請求項1之用於治療癌症的組成物，其中該CD80蛋白具有

序列辨識編號：11之胺基酸序列。

【請求項10】如請求項1之用於治療癌症的組成物，其中該CD80蛋白是CD80片段。

【請求項11】如請求項10之用於治療癌症的組成物，其中該CD80片段由序列辨識編號：11中第35個至第242個胺基酸構成。

【請求項12】如請求項2之用於治療癌症的組成物，其中該連接子是白蛋白或免疫球蛋白之Fc結構域。

【請求項13】如請求項12之用於治療癌症的組成物，其中該Fc結構域是野生型Fc結構域或Fc結構域變異體。

【請求項14】如請求項12之用於治療癌症的組成物，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15】如請求項13之用於治療癌症的組成物，其中該Fc結構域變異體具有序列辨識編號：12之胺基酸序列。

【請求項16】如請求項1之用於治療癌症的組成物，其中該融合蛋白由下列結構式(I)或(II)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)

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

其中，在該結構式(I)及(II)中，

N'是該融合蛋白之N端，

C'是該融合蛋白之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。

【請求項17】如請求項16之用於治療癌症的組成物，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18】如請求項16之用於治療癌症的組成物，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。

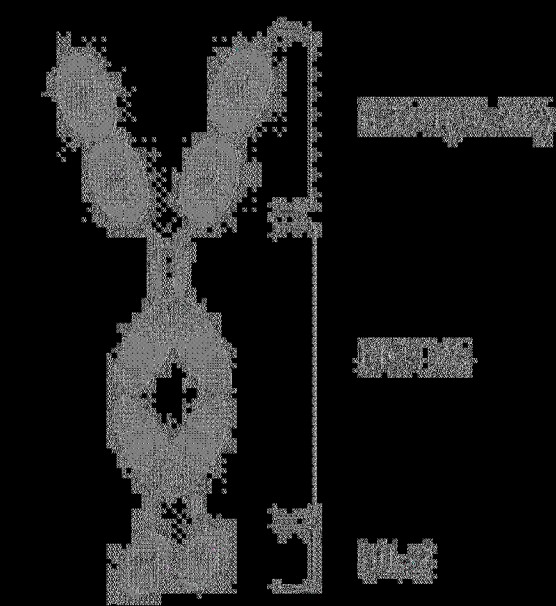
【請求項19】如請求項16之用於治療癌症的組成物，其中該融合蛋白由該結構式(I)構成。

【請求項20】如請求項1之用於治療癌症的組成物，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85%以上的序列一致性。

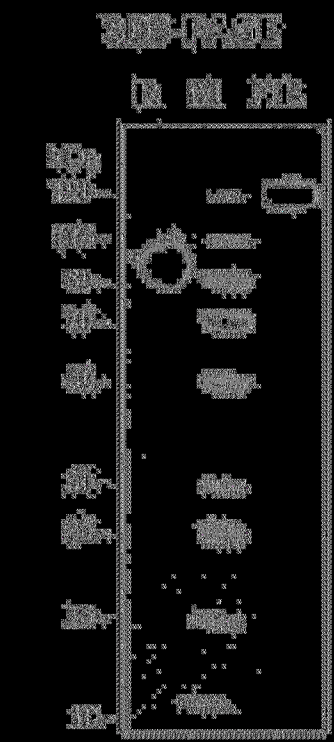
【請求項21】如請求項1之用於治療癌症的組成物，其中該融合蛋白是二聚體。

【請求項22】如請求項1之用於治療癌症的組成物，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、急性淋巴母細胞白血病、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。

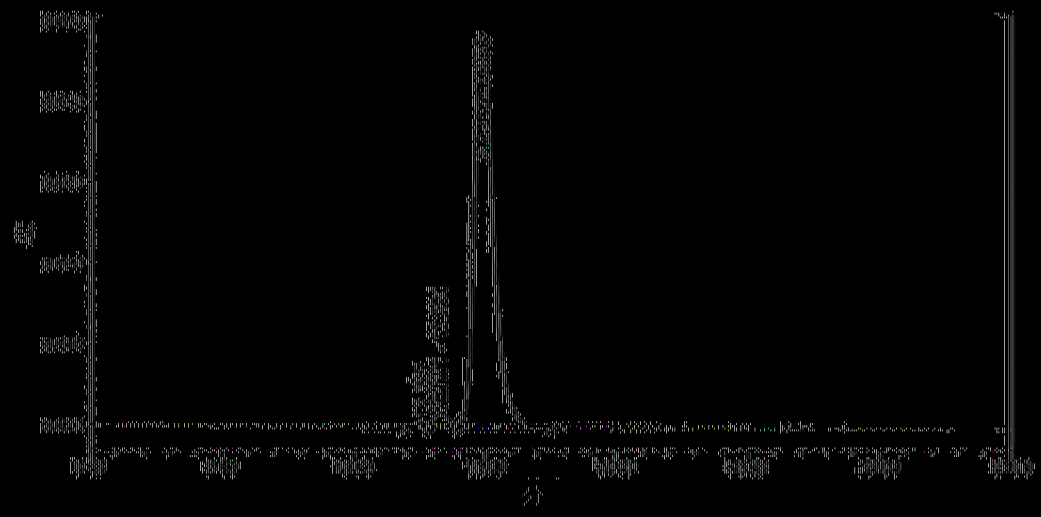
|(發明圖式)|



|(|圖1)|

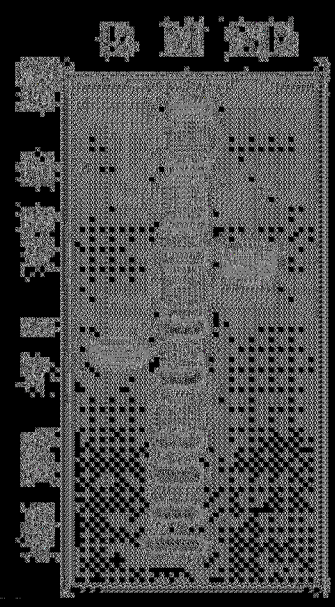


|(|圖2)|



波峰名稱	Time	面積	面積%	高度
10.5	10.5	1.0	100.0	1.0

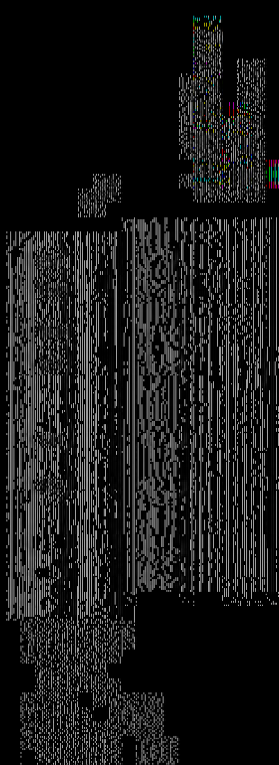
|(H₁¹₁)3|



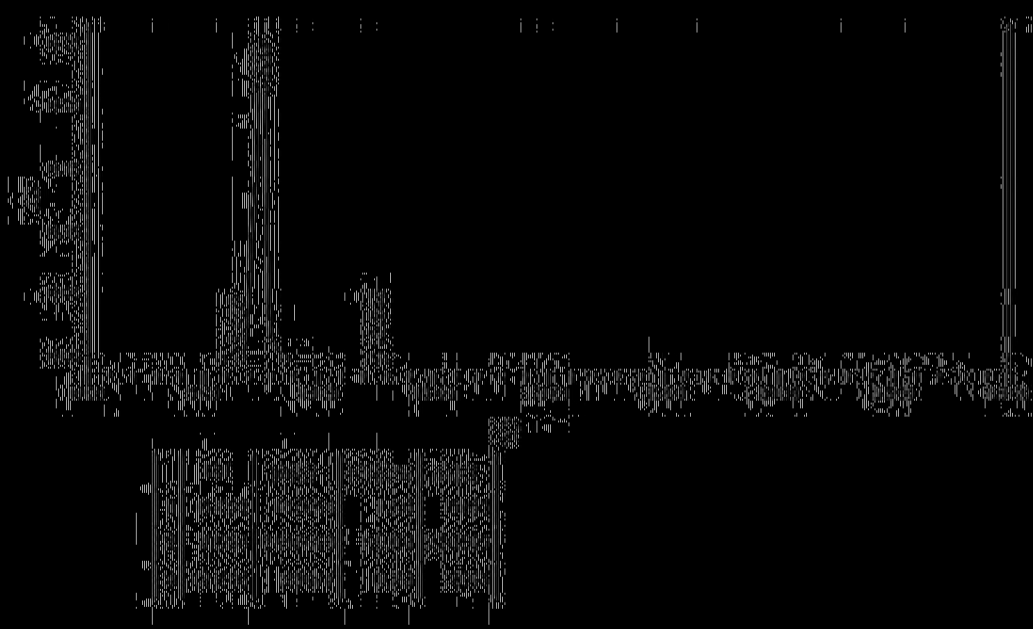
|(H₁¹₁)4|



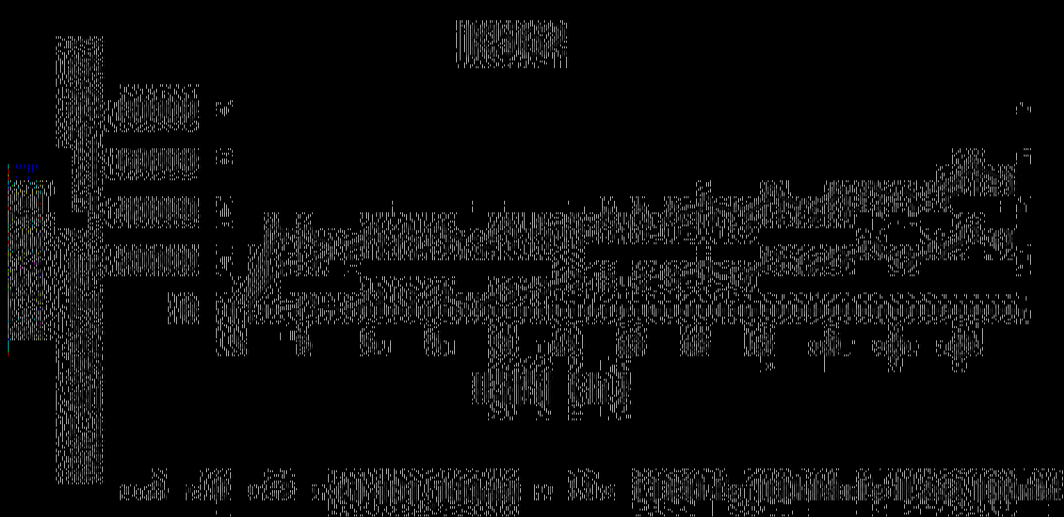
|(15)|



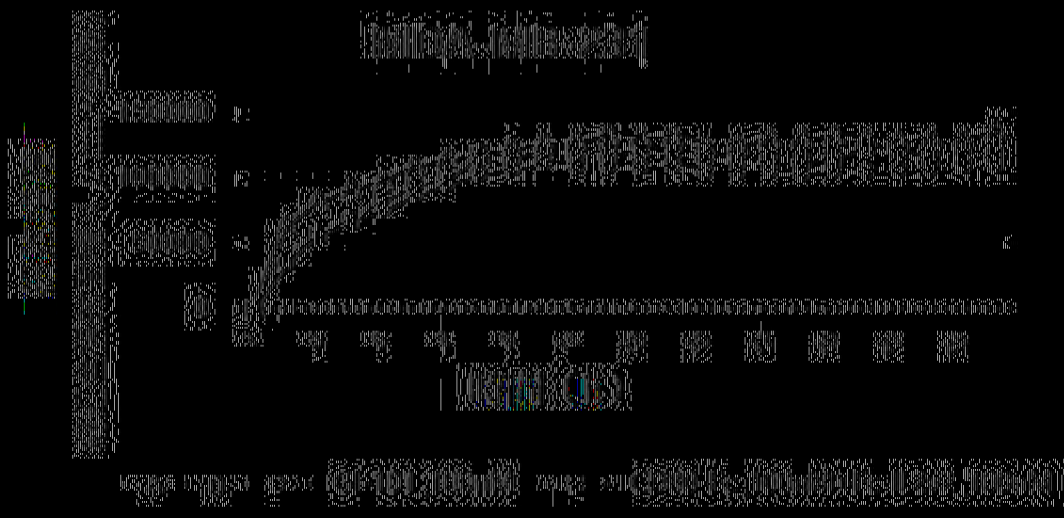
|(16)|



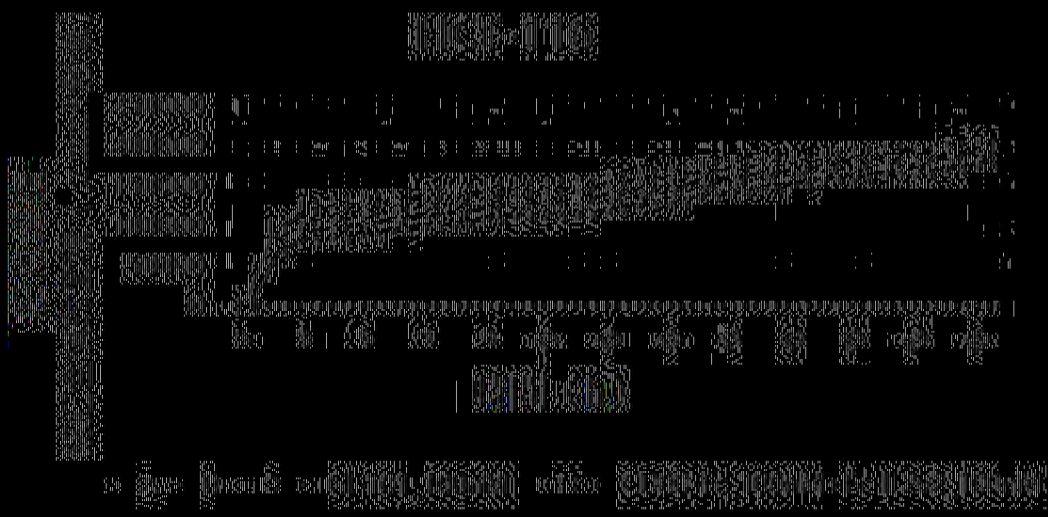
|(B)7|



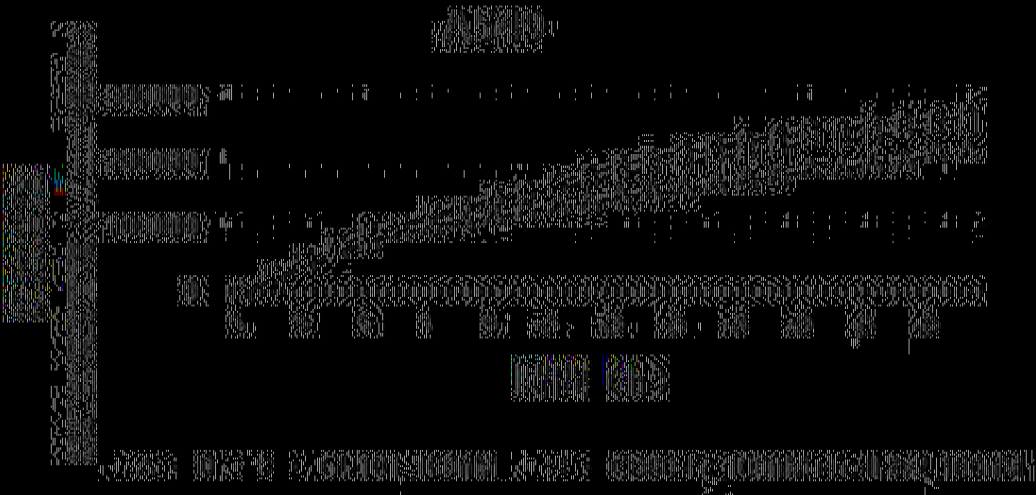
|(B)8|



|(图9)|



|(图10)|



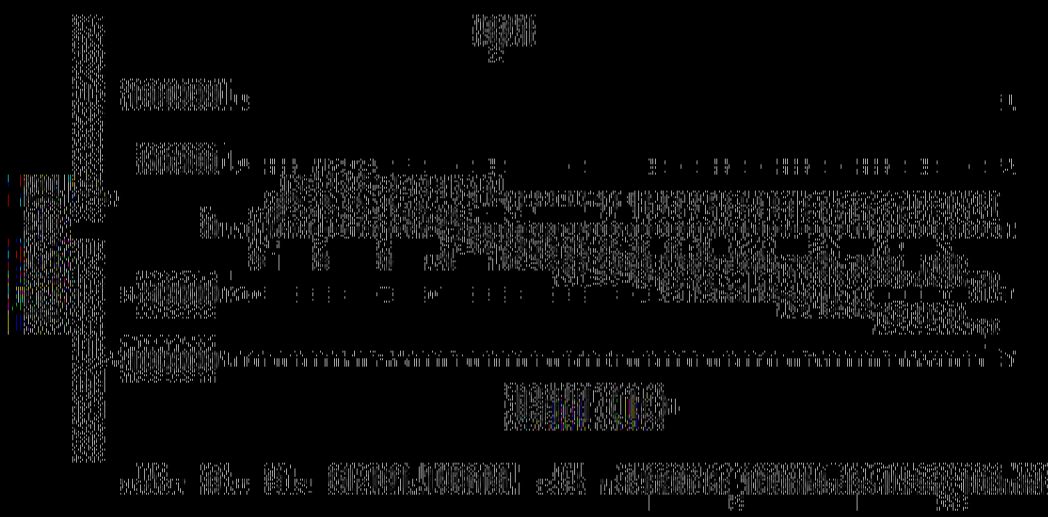
|(11)|



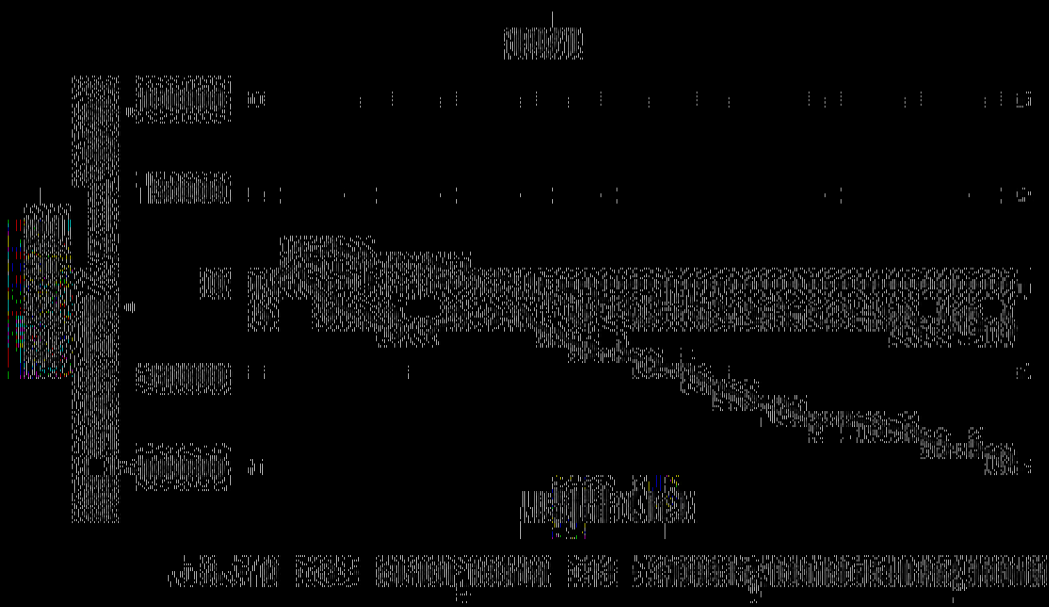
|(12)|



|(H)|13)|



|(H)|14)|



|(E|15)|



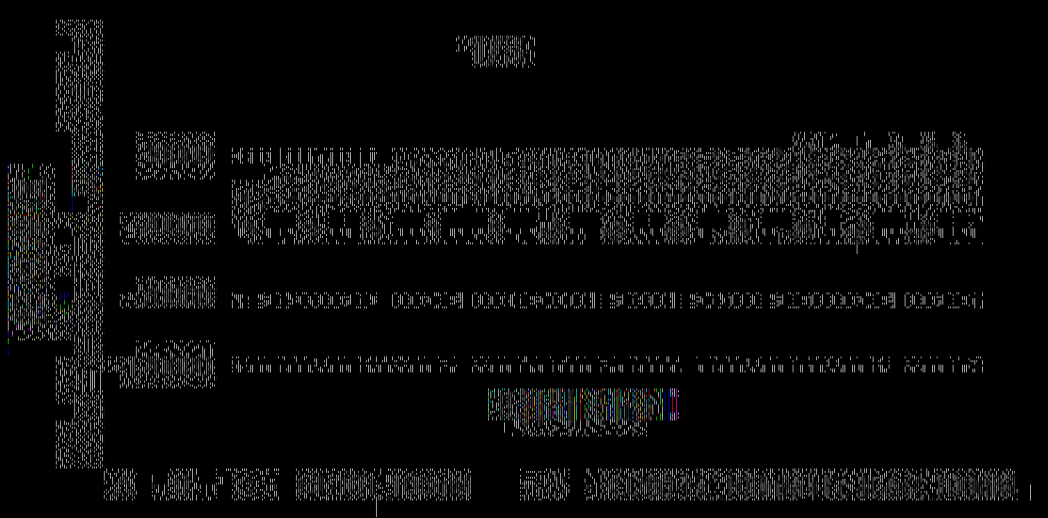
|(E|16)|

$$\left| \left(\begin{bmatrix} \mathbf{I}_n & \mathbf{R} \\ \mathbf{0} & \mathbf{R} \end{bmatrix} \mathbf{1}' \right) \right|$$

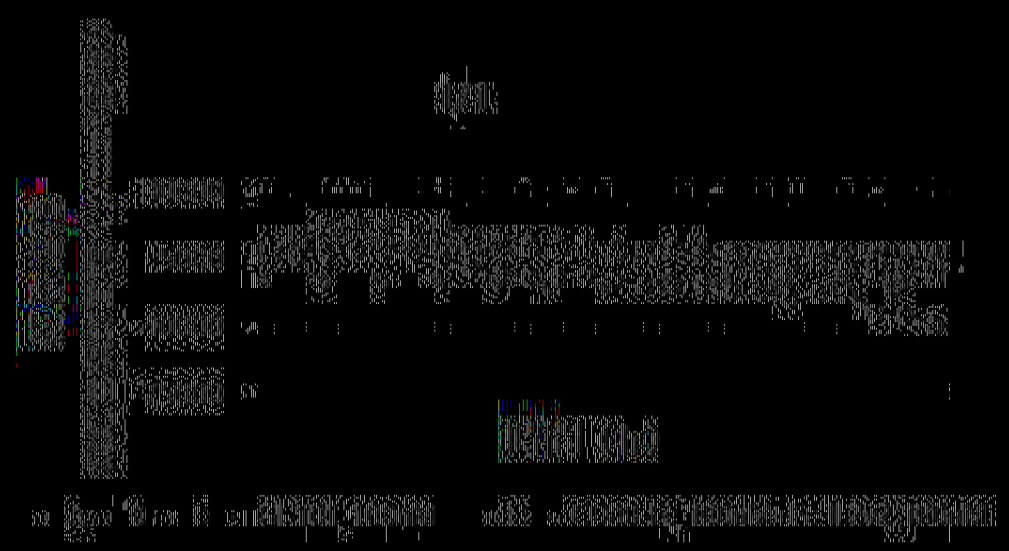
$$|(\mathbb{H}^n_R, \mathbb{H}^n_R)|18)$$



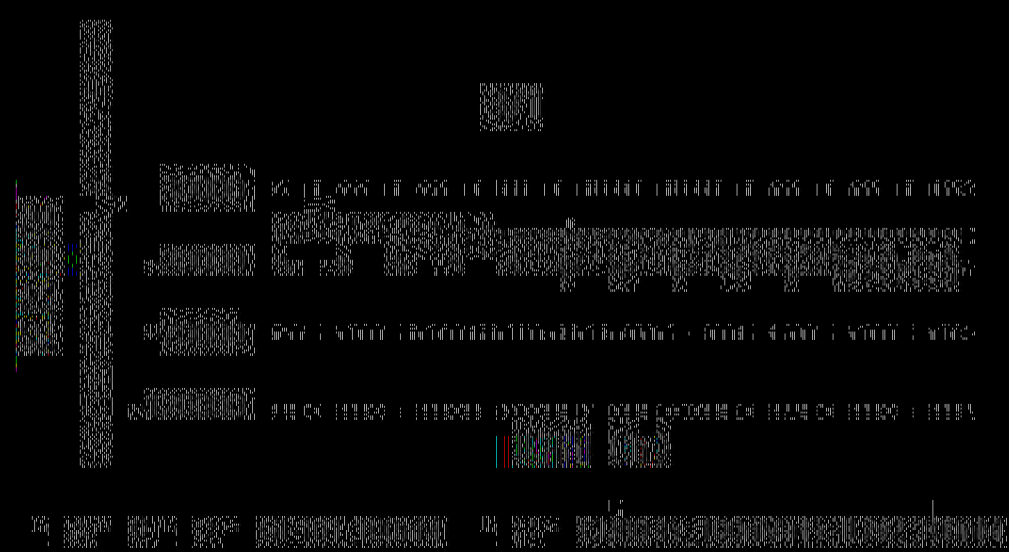
|(H|19)|



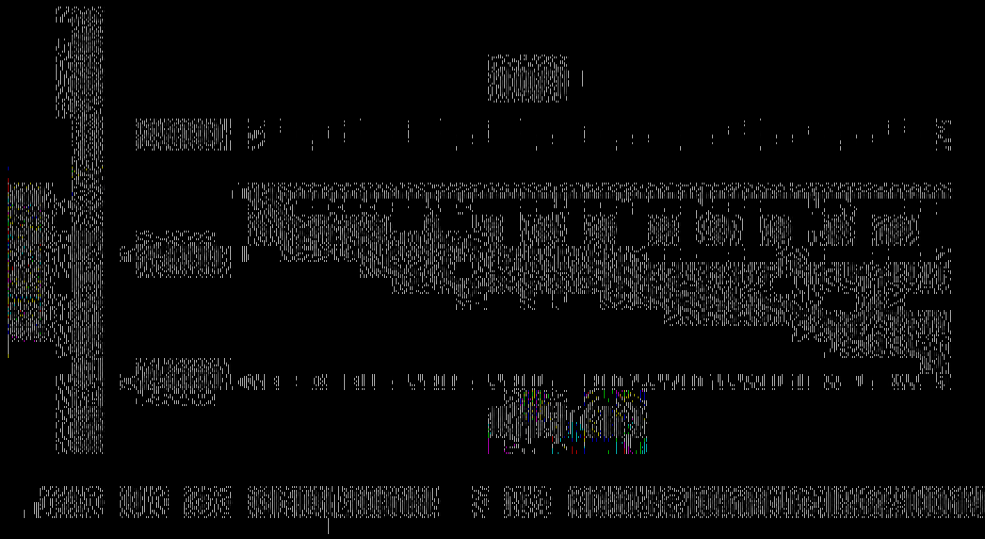
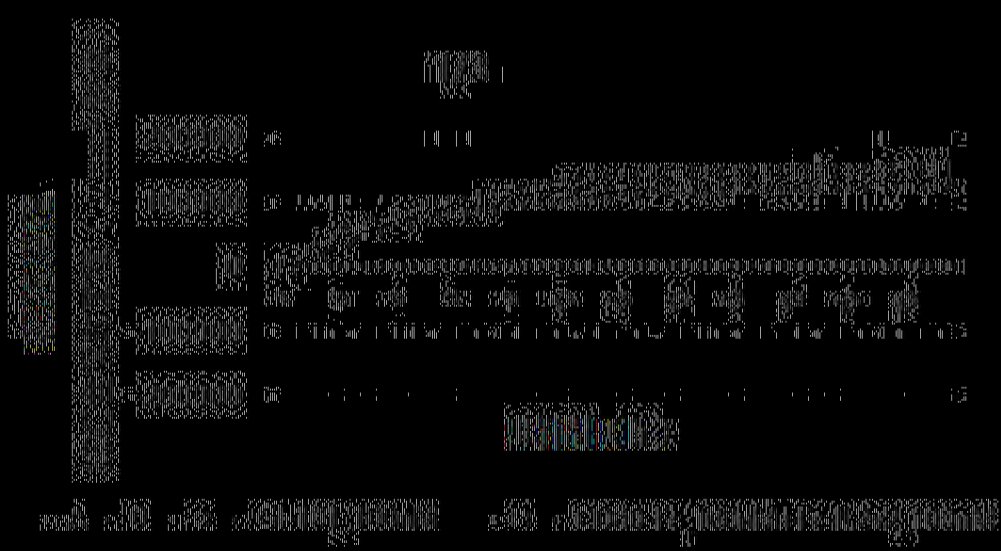
|(H|20)|

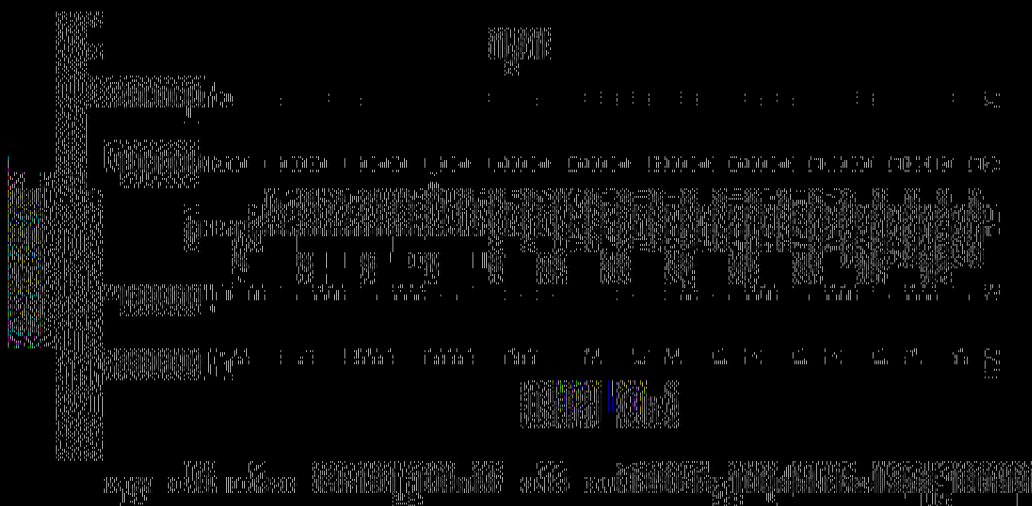


(圖21)

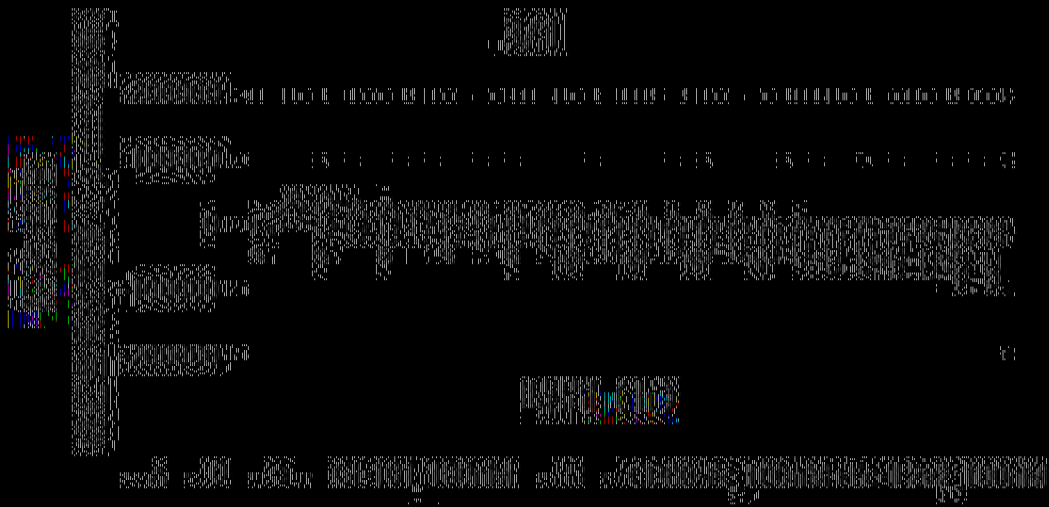


(圖22)

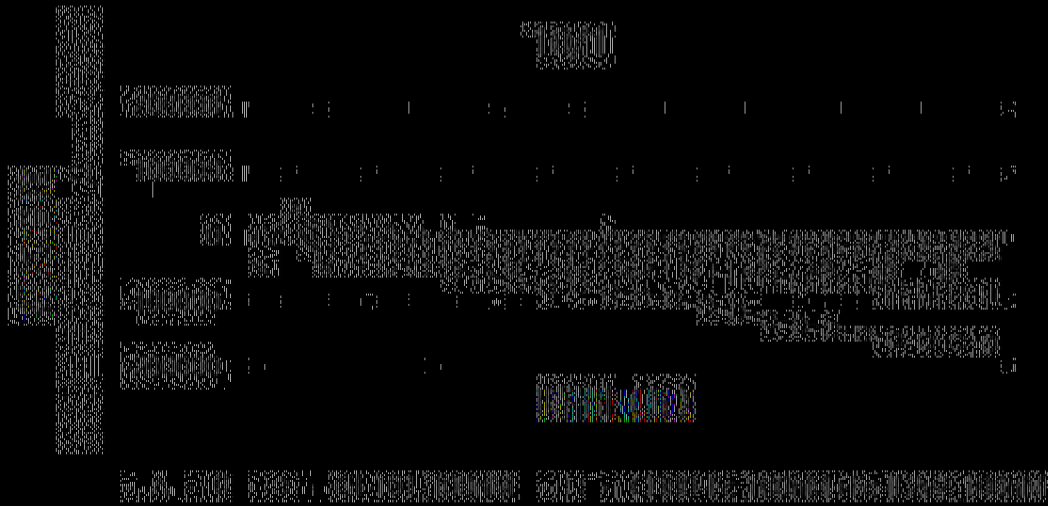

$$|(\llbracket \mathbb{H}_n^R \rrbracket 23)|$$

$$|(\mathbb{I}^{\mathbb{R}}_{\mathbb{R}})_{24}|$$



|(图25)|



|(图26)|

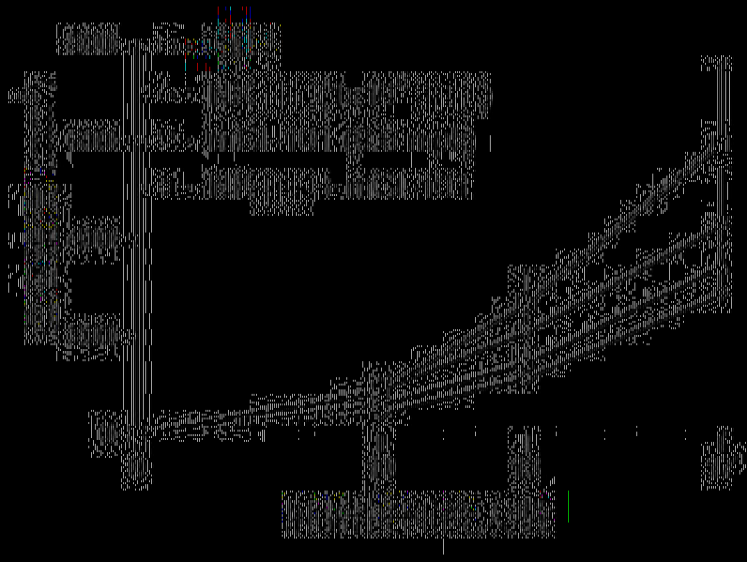


|(FIG|27)|

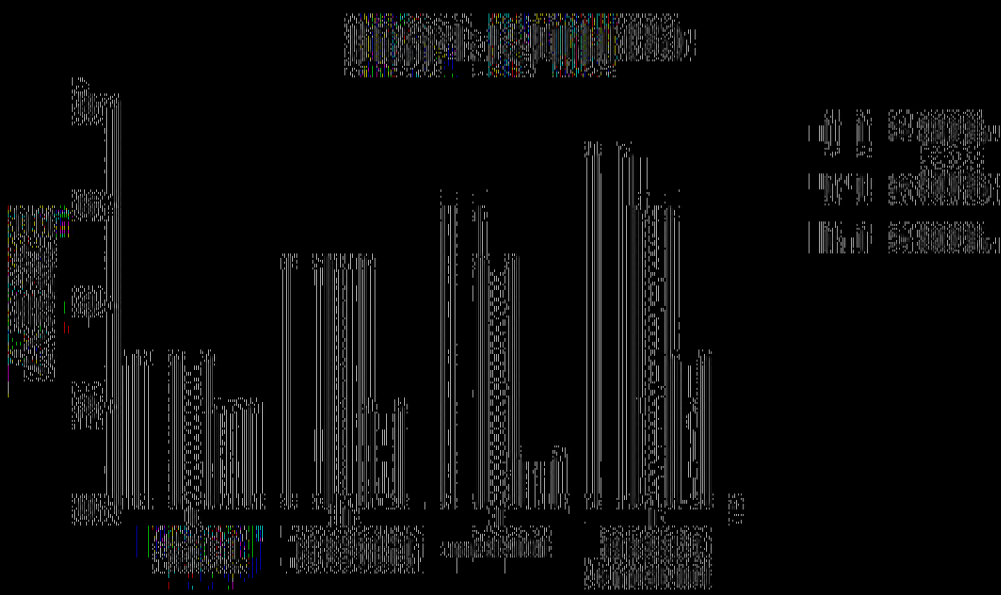


細胞
細胞
細胞
細胞

|(FIG|28)|



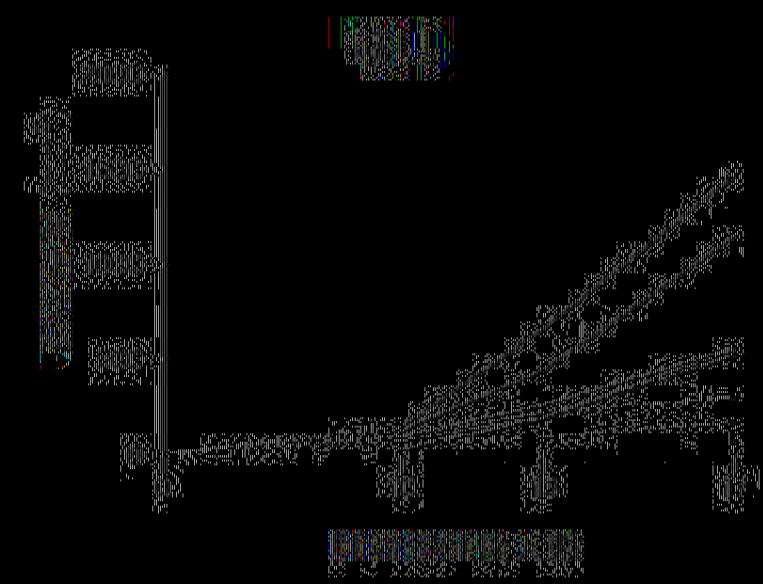
|(图|29)|



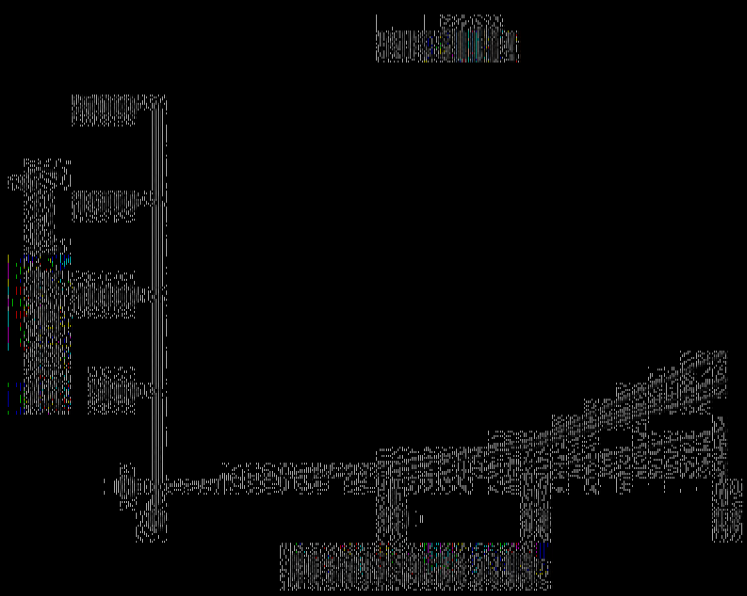
|(图|30)|



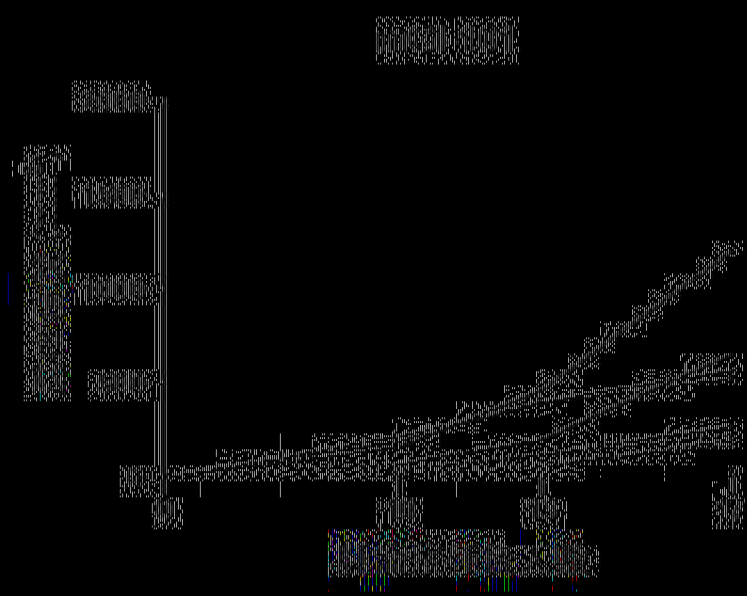
|(B31)|



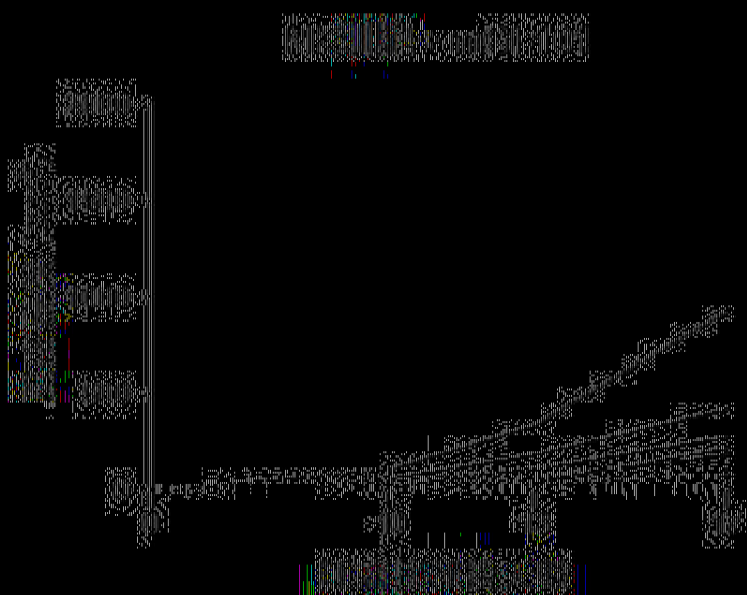
|(圖32)|



|(圖33)|



(B)34



(B)35