



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114787182 A

(43) 申请公布日 2022. 07. 22

(21) 申请号 202080066791.1

塞缪尔·克莱门特·哈桑 江宁

(22) 申请日 2020.08.13

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

(30) 优先权数据

专利代理师 王达佐 洪欣

62/886,148 2019.08.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2022.03.23

C07K 14/55 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

C07K 14/715 (2006.01)

PCT/US2020/046244 2020.08.13

C07K 19/00 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

C12N 15/26 (2006.01)

W02021/030633 EN 2021.02.18

C12N 15/62 (2006.01)

(71) 申请人 艾佩斯瑞生物制药公司

A61K 38/20 (2006.01)

地址 美国马萨诸塞州

A61K 38/19 (2006.01)

A61K 47/64 (2017.01)

A61K 47/68 (2017.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(72) 发明人 陈岩 赵克浩

克里斯蒂娜·斯旺森 珍娜·阮

内森·卡伦

权利要求书8页 说明书47页

序列表133页 附图105页

(54) 发明名称

工程化的白细胞介素-2受体 β 激动剂

(57) 摘要

本文提供了工程化的IL2多肽及其融合蛋白。还提供了通过施用工程化的IL2多肽或其融合蛋白来调节免疫反应的方法。工程化的IL2多肽及其融合蛋白显示与IL2R β 的结合增加,与IL2R α 的结合减少,或两者。

APTSSSTKKTQLQLEHLILDQMLNGINNVKQKLTMLTFKFMKPKGATELKHLQCLE
ELKPLEEVLNIAQSKNFHLPRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW
TFCQSIISTLT (SEQ ID NO: 22)

1. 一种工程化的白细胞介素-2 (IL2) 多肽, 其包含工程化的IL2受体 β (IL2R β) 结合区2基序, 所述工程化的IL2受体 β (IL2R β) 结合区2基序包含:

$X_1-X_2-X_3-D-X_4-X_5-X_6-N-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}$ (SEQ ID NO:1),

其中 X_1 、 X_3 、 X_6 、 X_8 、 X_{12} 和 X_{13} 各自包含任何残基,

其中 X_2 、 X_4 和 X_{10} 是不带电荷的残基,

其中 X_5 、 X_7 、 X_9 和 X_{11} 各自包含不带电荷的非极性残基, 并且

其中所述工程化的IL2多肽以比野生型IL2多肽大至少10倍的 K_D 与IL2R β 结合。

2. 如权利要求1所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_1 是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基、碱性残基或酸性残基。

3. 如权利要求1或2所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_1 选自C、T、G、W、I、S、E和K。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_1 选自G、K、E、C和T。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_2 是不带电荷的极性残基或不带电荷的非极性残基。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_2 选自Y、P、V、W、L、A和G。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_2 选自V、P、W和A。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_3 是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基、碱性残基或酸性残基。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_3 选自S、T、Q、G、M、E、R和K。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_3 选自T、G、S、R和E。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_4 不是L。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_4 是不带电荷的非极性残基或不带电荷的极性残基。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_4 选自A、V、S和T。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_5 选自I、L、T和V。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_5 选自I和V。

16. 如权利要求1-15中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_6 是不带电荷的极性残基、碱性残基或酸性残基。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_6 选自S、T、E、D和R。

18. 如权利要求1-17中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_6 选自S、D、E和T。

19. 如权利要求1-18中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_7 选自I、A、M和V。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_7 选自I、A和M。

21. 如权利要求1-20中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_8 是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基、碱性残基或酸性残基。

22. 如权利要求1-21中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_8 选自S、T、N、Q、I、G、E、K和R。

23. 如权利要求1-22中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_8 选自I、R、N和T。

24. 如权利要求1-23中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_9 选自V、L和I。

25. 如权利要求1-24中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_9 是V。

26. 如权利要求1-25中任一项所述的工程化的IL2多肽, 其中 X_{10} 是不带电荷的极性残基

或不带电荷的非极性残基。

27. 如权利要求1-26中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₀选自N、T、I和L。

28. 如权利要求1-27中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₀选自I和L。

29. 如权利要求1-28中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₁选自V、A和I。

30. 如权利要求1-29中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₂是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基或酸性残基。

31. 如权利要求1-30中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₂选自Q、L、G、K和R。

32. 如权利要求1-31中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₂选自R、G、Q和K。

33. 如权利要求1-32中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₃是不带电荷的非极性残基或碱性残基。

34. 如权利要求1-33中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₃选自A、D和E。

35. 如权利要求1-33中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中X₁₃选自E和A。

36. 如权利要求1所述的工程化的IL2多肽,其中所述工程化的IL2Rβ结合区2选自:
GVTDSISNAIVLARE (SEQ ID NO:2); KWGDAVSNAARVLAGE (SEQ ID NO:3); KWGDAVSNAARVLAGE (SEQ ID NO:4); TLMDDTDNIGVLVRE (SEQ ID NO:5); EPSDVISNINVLVQE (SEQ ID NO:6); SPQDSIENISVLVRE (SEQ ID NO:7); WASDSIENITLLIQE (SEQ ID NO:8); CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9); RYKDSLENMQIIIE (SEQ ID NO:10); TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11); TPRDVVENMNVLE (SEQ ID NO:12); TPSDVLENMEVLILD (SEQ ID NO:13); TPSDAIENINVLIRE (SEQ ID NO:14); TPSDVLENITVLVQE (SEQ ID NO:15); GVGDTIDNINVLVKE (SEQ ID NO:16); IGRDSIDNIKVIVQE (SEQ ID NO:17); WATDTIRNVEVLVQE (SEQ ID NO:18); TAEDVVTNITVLVQE (SEQ ID NO:19); TAEDVISNIRVNVQE (SEQ ID NO:20) 和TPSDVIDNVSITVQE (SEQ ID NO:21); TARDAISNIRVIVQE (SEQ ID NO:210); RARDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:211); TPRDAIDNINVIE (SEQ ID NO:212); TPRDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:213); TPRDAIDNIRVILE (SEQ ID NO:214); TARDAISNINVIE (SEQ ID NO:215); 和TARDAIDNINVIVQE (SEQ ID NO:216); 和TARDAIDNIRVIVLE (SEQ ID NO:217)。

37. 如权利要求1所述的工程化的IL2多肽,其中所述工程化的IL2Rβ结合区2选自:
TPRDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:213); TPRDAIDNIRVILE (SEQ ID NO:214); TARDAISNINVIE (SEQ ID NO:215) 和TARDAIDNINVIVQE (SEQ ID NO:216)。

38. 如权利要求1所述的工程化的IL2多肽,其中所述工程化的IL2Rβ结合区2选自:
GVTDSISNAIVLARE (SEQ ID NO:2); KWGDAVSNAARVLAGE (SEQ ID NO:4); EPSDVISNINVLVQE (SEQ ID NO:6); CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9); TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11); GVGDTIDNINVLVKE (SEQ ID NO:16); TAEDVVTNITVLVQE (SEQ ID NO:19)。

39. 如权利要求1所述的工程化的IL2多肽,其中所述工程化的IL2Rβ结合区2选自:
GVTDSISNAIVLARE (SEQ ID NO:2); CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9) 和TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11)。

40. 一种工程化的IL2多肽,其包含对选自以下的至少一个残基的取代:R81、P82、R83、L85、I86、S87、I89、N90、I92、V93和L94。

41. 如权利要求40所述的工程化的IL2多肽,其中所述至少一个残基是L85。

42. 如权利要求40所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含对选自以下的

至少两个残基的取代：R81、P82、R83、L85、I86、S87、I89、N90、I92、V93和L94。

43. 如权利要求42所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽包含对R81和L85的取代。

44. 如权利要求43所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽还包含对S87、N90和L94的取代。

45. 如权利要求43所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽还包含对S87、N90和V93的取代。

46. 如权利要求43所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽还包含对P82和V93的取代。

47. 如权利要求46所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽还包含对N90的取代。

48. 如权利要求42所述的工程化的IL2多肽，其中所述至少两个残基选自R81、R83、L85、I92和L94。

49. 如权利要求40所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽包含对选自R81、R83、L85、I92和L94的至少三个残基的取代。

50. 如权利要求40所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽包含对R81、R83、L85、I92和L94的取代。

51. 如权利要求40所述的工程化IL2多肽，其中：

(a) 所述R81取代选自R81G、R81K、R81E、R81C和R81T；

(b) 所述R83取代选自R83T、R83G、R83S和R83E；

(c) 所述L85取代选自L85S、L85A、L85V和L85T；

(d) 所述I92取代为I92L；以及

(e) 所述L94取代选自L94R、L94G、L94Q和L94K。

52. 如权利要求1-51中任一项所述的工程化的IL2多肽，其中与所述野生型IL2相比，所述工程化的IL2多肽对IL2R β 的亲合力增加。

53. 如权利要求52所述的工程化的IL2多肽，其中与所述野生型IL2相比，所述工程化的IL2多肽对IL2R β 的亲合力增加至少10倍。

54. 如权利要求1-53中任一项所述的工程化的IL2多肽，其中与所述野生型IL2相比，所述工程化的IL2多肽对IL2R α 的亲合力减小。

55. 如权利要求1-54中任一项所述的工程化的IL2多肽，其中所述工程化的IL2多肽与所述野生型IL2相比对IL2R α 具有相似的亲合力。

56. 一种工程化的白细胞介素-2 (IL2) 多肽，其包含工程化的IL2受体 α (IL2R α) 结合区1，所述工程化的IL2受体 α (IL2R α) 结合区1包含选自以下的取代：位置K35处的取代、R38处的取代、F42处的取代、Y45处的取代或其任何组合，其中与野生型IL2相比，所述工程化的IL2多肽以至少2倍降低的结合动力学与IL2R α 结合。

57. 如权利要求56所述的工程化的IL2多肽，所述工程化的IL2多肽包含位置K35处的取代。

58. 如权利要求57所述的工程化的IL2多肽，其中所述位置K35处的取代包括非碱性残基。

59. 如权利要求57所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置K35处的取代包括不带电荷的残基或酸性残基。

60. 如权利要求57所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置K35处的取代选自:K35G、K35L、K35S、K35V、K35D、K35E和K35C。

61. 如权利要求56-60中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含位置R38处的取代。

62. 如权利要求61所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置R38处的取代包括非碱性带电荷的残基。

63. 如权利要求61所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置R38处的取代包括不带电荷的残基或酸性残基。

64. 如权利要求61所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置R38处的取代选自:R38V、R38D、R38E、R38S、R38I、R38A、R38Y、R38G、R38C或R38N。

65. 如权利要求56-64中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含位置F42处的取代。

66. 如权利要求65所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置F42处的取代包括不带电荷的残基。

67. 如权利要求65所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置F42处的取代包括带正电荷的残基。

68. 如权利要求65所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置F42处的取代选自:F42A、F42R、F42G、F42I、F42L、F42P和F42H。

69. 如权利要求56-68中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含位置Y45处的取代。

70. 如权利要求69所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置Y45处的取代包括不带电荷的残基。

71. 如权利要求69所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置Y45处的取代包括不带电荷的极性残基或不带电荷的非极性残基。

72. 如权利要求69所述的工程化的IL2多肽,其中所述位置Y45处的取代是Y45S、Y45P、Y45A、Y45V、Y45C、Y45T和Y45F。

73. 如权利要求56-72中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含位置K35处的取代和位置R38处的取代。

74. 如权利要求73所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含K35G取代和R38E取代。

75. 如权利要求56-74中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含位置K35处的取代和位置F42处的取代。

76. 如权利要求75所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含K35S取代和F42G取代。

77. 如权利要求56-76中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含位置K35处的取代、位置R38处的取代和位置F42处的取代。

78. 如权利要求77中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含K35L

取代、R38D取代和F42R取代。

79. 如权利要求56-78中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含位置R38处的取代和位置Y45S处的取代。

80. 如权利要求79中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含R38D取代和Y45S取代。

81. 如权利要求79中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含R38V取代和Y45S取代。

82. 如权利要求56-81中任一项所述的工程化的IL2多肽,所述工程化的IL2多肽包含在位置K35、R38、F42和Y45中的至少一个位置处的取代,其中:

i) 所述位置K35处的取代选自:K35G、K35L、K35S、K35V、K35D、K35E和K35C;

ii) 所述位置R38处的取代选自:R38V、R38D、R38E、R38S、R38I、R38A、R38Y、R38G、R38C或R38N;

iii) 所述位置F42处的取代选自:F42A、F42R、F42G、F42I、F42L、F42P和F42H;以及

iv) 所述位置Y45处的取代是Y45S、Y45P、Y45A、Y45V、Y45C、Y45T和Y45F。

83. 如权利要求82所述的工程化的IL2多肽,其中所述取代在位置K35、R38、F42和Y45中的至少2个、至少3个或全部4个位置处。

84. 如权利要求56-83中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中与野生型IL2相比,所述工程化的IL2多肽以至少10倍降低的结合动力学与IL2R α 结合。

85. 如权利要求56-84中任一项所述的工程化的IL2多肽,其中所述工程化的IL2R α 结合区1选自:PVLTRMLTIKFY (SEQ ID NO:183); PKLTRMLTLKFP (SEQ ID NO:184); PDLTSMALAFKFY (SEQ ID NO:185); PGLTEMLTFKFY (SEQ ID NO:186); PSLTRMLTGKFY (SEQ ID NO:187); PELTIMLTPKFY (SEQ ID NO:188); PCLTAMTLKFA (SEQ ID NO:189); PCLTAMTLKFA (SEQ ID NO:190); PKLTRMLTHKFV (SEQ ID NO:191); PCLDMLTFKFY (SEQ ID NO:192); PLLTDMLTRKFY (SEQ ID NO:193); PLLTDMLTFKFY (SEQ ID NO:194); PKLTDMLTFKFS (SEQ ID NO:195); PKLTYMLTRKFY (SEQ ID NO:196); PKLTRMLTFKFC (SEQ ID NO:197); PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:198); PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:199); PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:200); PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:201); PKLTGMLTFKFS (SEQ ID NO:202); PKLTVMLTFKFT (SEQ ID NO:203); PKLTVMLTFKFS (SEQ ID NO:204); PKLTVMLTFKFP (SEQ ID NO:205); PKLTVMLTFKFF (SEQ ID NO:206); PKLTCMLTFKFA (SEQ ID NO:207); PKLTNMLTFKFA (SEQ ID NO:208) 和PKLTNMLTFKFS (SEQ ID NO:209)。

86. 一种工程化的IL2多肽,其包含权利要求1-55中任一项所述的工程化的IL2受体 β (IL2R β) 结合区2和权利要求56-85中任一项所述的工程化的IL2受体 α (IL2R α) 结合区1。

87. 如权利要求86所述的工程化的IL2多肽,其中所述工程化的IL2R α 结合区1选自:PVLTRMLTIKFY (SEQ ID NO:183); PKLTRMLTLKFP (SEQ ID NO:184); PDLTSMALAFKFY (SEQ ID NO:185); PGLTEMLTFKFY (SEQ ID NO:186); PSLTRMLTGKFY (SEQ ID NO:187); PELTIMLTPKFY (SEQ ID NO:188); PCLTAMTLKFA (SEQ ID NO:189); PCLTAMTLKFA (SEQ ID NO:190); PKLTRMLTHKFV (SEQ ID NO:191); PCLDMLTFKFY (SEQ ID NO:192); PLLTDMLTRKFY (SEQ ID NO:193); PLLTDMLTFKFY (SEQ ID NO:194); PKLTDMLTFKFS (SEQ ID NO:195); PKLTYMLTRKFY (SEQ ID NO:196); PKLTRMLTFKFC (SEQ ID NO:197); PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:198);

PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:199); PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:200); PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:201); PKLTGMLTFKFS (SEQ ID NO:202); PKLTVMLTFKFT (SEQ ID NO:203); PKLTVMLTFKFS (SEQ ID NO:204); PKLTVMLTFKFP (SEQ ID NO:205); PKLTVMLTFKFF (SEQ ID NO:206); PKLTCMLTFKFA (SEQ ID NO:207); PKLTNMLTFKFA (SEQ ID NO:208) 和 PKLTNMLTFKFS (SEQ ID NO:209); 并且其中所述工程化的 IL2R β 结合区 2 选自: GVTDSISNAIVLARE (SEQ ID NO:2); KWGDAVSNAIVLAGE (SEQ ID NO:3); KWGDAVSNAIVLAGA (SEQ ID NO:4); TLMDDTDNIGVLVRE (SEQ ID NO:5); EPSDVISNINVLVQE (SEQ ID NO:6); SPQDSIENISVLVRE (SEQ ID NO:7); WASDSIENITLLIQE (SEQ ID NO:8); CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9); RYKDSLENMQIIIIQE (SEQ ID NO:10); TARDAVDNMRVIIQE (SEQ ID NO:11); TPRDVVENMNVLVLE (SEQ ID NO:12); TPSDVIENTMEVLILD (SEQ ID NO:13); TPSDAIENINVLIRE (SEQ ID NO:14); TPSDVIENTITVLVQE (SEQ ID NO:15); GVGDTIDNINVLVKE (SEQ ID NO:16); IGRDSIDNIKVIVQE (SEQ ID NO:17); WATDTIRNVEVLVQE (SEQ ID NO:18); TAEDVVTNITVLVQE (SEQ ID NO:19); TAEDVISNIRVNVQE (SEQ ID NO:20) 和 TPSDVIDNVSITVQE (SEQ ID NO:21); TARDAISNIRVIVQE (SEQ ID NO:210); RARDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:211); TPRDAIDNINVIIQE (SEQ ID NO:212); TPRDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:213); TPRDAIDNIRVIILE (SEQ ID NO:214); TARDAISNINVIIQE (SEQ ID NO:215); 和 TARDAIDNINVIVQE (SEQ ID NO:216); 和 TARDAIDNIRVIVLE (SEQ ID NO:217)。

88. 一种融合多肽, 其包含与半衰期延长分子融合的权利要求 1-87 中任一项所述的工程化的 IL2 多肽。

89. 如权利要求 88 所述的融合多肽, 其中所述半衰期延长分子包括半衰期延长多肽。

90. 如权利要求 88 所述的融合多肽, 其中所述半衰期延长多肽包括 Fc 结构域、人血清白蛋白 (HSA)、HSA 结合分子或转铁蛋白。

91. 如权利要求 88 所述的融合多肽, 其中所述半衰期延长多肽包含 Fc 结构域。

92. 如权利要求 88 所述的融合多肽, 其中所述半衰期延长分子包括聚乙二醇 (PEG) 或聚丙二醇 (PPG)。

93. 一种融合多肽, 其包含第一多肽和第二多肽, 其中所述第一多肽包括权利要求 1-87 中任一项所述的工程化的 IL2 多肽。

94. 如权利要求 93 所述的融合多肽, 其中所述第二多肽包括抗原结合部分。

95. 如权利要求 94 所述的融合多肽, 其中所述抗原结合部分包括免疫球蛋白。

96. 如权利要求 95 所述的融合多肽, 其中所述抗原结合部分包括 Fab 分子、scFv、双特异性 T 细胞接合物、双抗体、单结构域抗体或纳米抗体。

97. 如权利要求 93 所述的融合多肽, 其中所述第二多肽包括细胞因子。

98. 如权利要求 97 所述的融合多肽, 其中所述第二多肽包括白细胞介素 2、白细胞介素-15、白细胞介素-7、白细胞介素-10 或 C-C 基序趋化因子配体 19 (CCL19)。

99. 如权利要求 93 所述的融合多肽, 其中所述第二多肽包括权利要求 1-87 中任一项所述的第二工程化的 IL2 多肽。

100. 一种分离的多核苷酸, 其编码至少一种权利要求 1-99 中任一项所述的多肽。

101. 一种表达载体, 其包含权利要求 100 所述的多核苷酸。

102. 一种经修饰的细胞, 其包含权利要求 100 所述的分离的多核苷酸或权利要求 101 所述的表达载体。

103. 如权利要求102所述的经修饰的细胞,其还包含工程化的T细胞受体或嵌合抗原受体。

104. 一种药物组合物,其包含权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽,或权利要求88-99中任一项所述的融合多肽和药学上可接受的载剂。

105. 如权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、如权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或如权利要求104的药物组合物,其用于调节有需要的受试者的免疫反应的方法。

106. 如权利要求105所述的方法,其中所述调节免疫反应包括以下至少一种:增强效应性T细胞活性、增强NK细胞活性和抑制调节性T细胞活性。

107. 如权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、如权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或如权利要求104所述的药物组合物,其用于治疗有需要的受试者的疾病的方法。

108. 根据权利要求107使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述疾病包括癌症或免疫抑制。

109. 根据权利要求108使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述癌症包括乳腺癌、胰腺癌、肺癌、胶质母细胞瘤、肾细胞癌或黑色素瘤。

110. 根据权利要求107-109中任一项使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述受试者用附加治疗剂治疗。

111. 根据权利要求110使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述附加治疗剂包括抗原结合部分。

112. 根据权利要求111使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述抗原结合部分包括单结构域抗体、Fab分子、scFv、双抗体、纳米抗体、双特异性T细胞接合物或免疫球蛋白。

113. 根据权利要求111或112使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述抗原结合部分针对肿瘤抗原。

114. 根据权利要求110使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述附加治疗剂包括表达嵌合抗原受体的免疫细胞、表达工程化的T细胞受体的免疫细胞或肿瘤浸润淋巴细胞。

115. 根据权利要求114使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述免疫细胞包含编码权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽或权利要求88-99中任一项所述的融合多肽的多核苷酸。

116. 根据权利要求110使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述附加治疗剂包括免疫检查点抑制剂。

117. 根据权利要求116使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述检查点抑制剂包括PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂、CTLA-4抑制剂、TIM3抑制剂、LAG3抑制剂、B7-H2抑制剂或B7-H3抑制剂。

118. 根据权利要求110使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述附加治疗剂包括溶瘤病毒。

119. 根据权利要求110使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述附加治疗剂包括肿瘤微环境 (TME) 抑制剂。

120. 根据权利要求110使用的权利要求1-87中任一项所述的工程化的IL2多肽、权利要求88-99中任一项所述的融合多肽或权利要求104所述的药物组合物,其中所述附加治疗剂包括癌症疫苗。

工程化的白细胞介素-2受体 β 激动剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年8月13日提交的美国临时申请第62/886,148的优先权的权益,所述临时申请据此通过引用以其整体并入。

[0003] 关于序列表的声明

[0004] 与本申请相关的序列表以文本格式代替纸质副本提供,并据此通过引用并入说明书中。包含序列表的文本文件的名称是300096_401WO_SEQUENCE_LISTING.txt。文本文件为230KB,创建于2020年8月13日,并正通过EFS网以电子方式提交。

技术背景

[0005] 白细胞介素-2 (IL2) 是调节淋巴细胞增殖和活化的细胞因子。它具有133个氨基酸的长度,结构包括四个反平行的两亲性C-螺旋。IL2通过与IL2受体 (IL2R) 结合介导其作用,所述受体包括多达三个单独的亚单位。所有三个亚单位 (白细胞介素-2受体 α 链 (IL2R α , 或CD25)、白细胞介素-2受体 β 链 (IL2R β , 或CD122) 和白细胞介素-2受体 γ 链 (IL2R γ , 或CD132)) 的缔合产生了三聚体IL2R $\alpha\beta\gamma$, 其为IL2的高亲和力受体。IL2R β 与IL2R γ 亚单位的缔合产生二聚体受体IL2R $\beta\gamma$, 并被称为中间亲和力IL2R。IL2R α 亚单位形成单体低亲和力IL2受体。IL2R α 的表达参与免疫抑制调节性T细胞 (Treg) 的扩增;而二聚体IL2R $\beta\gamma$ 在IL2R α 不存在的情况下可导致细胞裂解性CD8⁺T细胞和NK细胞增殖和杀伤。

发明内容

[0006] 本公开提供了与野生型IL2相比具有改善的与IL2R β 的结合和/或与野生型IL2相比具有减少的与IL2R α 的结合的工程化的IL2多肽。

[0007] 一方面,本公开提供了包含工程化的IL2受体 β (IL2R β) 结合区2的工程化的白细胞介素-2 (IL2) 多肽,所述工程化的IL2受体 β (IL2R β) 结合区2包含: $X_1-X_2-X_3-D-X_4-X_5-X_6-N-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}$ (SEQ ID NO:1),

[0008] 其中 X_1 、 X_3 、 X_6 、 X_8 、 X_{12} 和 X_{13} 各自包含任何残基,

[0009] 其中 X_2 、 X_4 和 X_{10} 是不带电荷的残基,

[0010] 其中 X_5 、 X_7 、 X_9 和 X_{11} 各自包含不带电荷的非极性残基,并且

[0011] 其中工程化的IL2多肽以比野生型IL2多肽大至少10倍的 K_D 与IL2R β 结合。

[0012] 在某些方面, X_1 是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基、碱性残基或酸性残基; X_1 选自C、T、G、W、I、S、E和K;或者, X_1 选自G、K、E、C和T。在某些方面, X_2 是不带电荷的极性残基或不带电荷的非极性残基; X_2 选自Y、P、V、W、L、A和G;或者 X_2 选自V、P、W和A。在某些方面, X_3 是不带电的极性残基、不带电的非极性残基、碱性残基或酸性残基; X_3 选自S、T、Q、G、M、E、R和K;或者 X_3 选自T、G、S、R和E。在某些方面, X_4 不是L; X_4 是不带电的非极性残基或不带电的极性残基;或者 X_4 选自A、V、S和T。在某些方面, X_5 选自I、L、T和V;或者 X_5 选自I和V。在某些方面, X_6 是不带电荷的极性残基、碱性残基或酸性残基; X_6 选自S、T、E、D和R;或者 X_6 选自S、D、E和T。在某些方面, X_7 选自I、A、M和V;或 X_7 选自I、A和M。在某些方面, X_8 是不带电的极性残基、

不带电的非极性残基、碱性残基或酸性残基； X_8 选自S、T、N、Q、I、G、E、K和R；或者 X_8 选自I、R、N和T。在某些方面， X_9 选自V、L和I；或者 X_9 是V。在某些方面， X_{10} 是不带电的极性残基或不带电的非极性残基； X_{10} 选自N、T、I和L；或者 X_{10} 选自I和L。在某些方面， X_{11} 是不带电的非极性残基；或者 X_{11} 选自V、A和I。在某些实施方案中， X_{12} 是不带电的极性残基、不带电的非极性残基或酸性残基； X_{12} 选自Q、L、G、K和R；或者 X_{12} 选自R、G、Q和K。在某些方面， X_{13} 是不带电的非极性残基或碱性残基； X_{13} 选自A、D和E；或者 X_{13} 选自E和A。

[0013] 在一些方面，本公开提供了工程化的IL2多肽，其包含对至少一个选自以下的残基的取代：R81、P82、R83、L85、I86、S87、I89、N90、I92、V93和L94。在某些方面，R81取代选自R81G、R81K、R81E、R81C和R81T；R83取代选自R83T、R83G、R83S和R83E；L85取代选自L85S、L85A、L85V和L85T；I92取代为I92L；L94取代选自L94R、L94G、L94Q和L94K。在某些方面，工程化的IL2多肽包含对R81和L83的取代。在某些方面，工程化的IL2多肽包含对R81、L83、S87、N90和N94的取代；对R81、L83、S87、N90和V93的取代；对R81、L83、P82和V93的取代；或对R81、L83和N90的取代。

[0014] 一方面，本公开提供了工程化的白细胞介素-2 (IL2) 多肽，其包含工程化的IL2受体 α (IL2R α) 结合区1基序，所述基序包含选自以下的取代：位置K35处的取代、R38处的取代、F42处的取代、Y45处的取代或其组合，其中与野生型IL2相比，工程化的IL2多肽以至少2倍降低的结合动力学与IL2R α 结合。

[0015] 在一些方面，本公开提供了括如前所述的工程化的IL2受体 β (IL2R β) 结合区2和如前所述的工程化的IL2受体 α (IL2R α) 结合区1在内的工程化的IL2多肽。

[0016] 在一些方面，本公开提供了如本文提供的与半衰期延长分子融合的工程化的IL2多肽。

[0017] 在一些方面，本公开提供了包含第一多肽和第二多肽的融合多肽，其中第一多肽包含如本文提供的工程化的IL2多肽。

[0018] 在一些方面，本公开提供了编码工程化的IL2多肽或其融合多肽的分离的多核苷酸、包含所述分离的多核苷酸的表达载体、或包含所述分离的多核苷酸或表达载体的经修饰的细胞。

[0019] 在一些方面，本公开提供了药物组合物，其包含工程化的IL2多肽或其融合多肽以及药学上可接受的载剂。

[0020] 在一些方面，本公开提供了调节有需要的受试者的免疫反应的方法，所述方法包括向受试者施用治疗有效量的工程化的IL2多肽或其融合多肽或其药物组合物。在某些方面，调节免疫反应包括以下至少一种：增强效应T细胞活性、增强NK细胞活性和抑制调节性T细胞活性。

[0021] 在一些方面，本公开提供了治疗有需要的受试者的疾病的方法，所述方法包括向受试者施用治疗有效量的工程化的IL2多肽或其融合多肽，或其药物组合物。在某些方面，所述疾病是癌症。在某些方面，所述方法还包括施用另外的治疗剂，诸如抗原结合部分、表达嵌合抗原受体的免疫细胞、表达工程化的T细胞受体的免疫细胞、肿瘤浸润淋巴细胞、免疫检查点抑制剂、溶瘤病毒、肿瘤微环境 (TME) 抑制剂或癌症疫苗。在某些方面，所述方法包括向受试者施用包含编码工程化的IL2多肽或其融合多肽的多核苷酸的免疫细胞。

附图说明

[0022] 图1A示出了IL2的负责结合IL2R α (实线空心框)、IL2R β (虚线框) 和IL2R γ (灰色框) 的区域,图1B示出了与IL2结合的IL2R α 、IL2R β 和IL2R γ 的图形描述,以及图1C示出了IL2的IL2R α 结合位点,突出显示了对IL2R α 相互作用至关重要的IL2的四个残基(K35、R38、F42和Y45)。

[0023] 图2A至图2B示出了通过ELISA进行的IL2R α 减少的结合突变的鉴定。

[0024] 图3示出了通过IL2R α 减少的结合突变的表面等离子共振序列比对来进行的IL2R α 减少的结合突变的表征。

[0025] 图4示出了通过表面等离子体共振进行的IL2R α 减少的结合突变的表征。

[0026] 图5示出了IL2R β 激动剂诱变文库

[0027] 图6示出了大肠杆菌(E.coli)中的IL2R β 激动剂表达和与IL2R β 的结合。

[0028] 图7示出了通过mRNA展示鉴定的IL2R β 激动剂的IL2R β 结合区2的多序列比对。

[0029] 图8示出了大肠杆菌中产生的IL2R β 激动剂克隆的SDS分析。

[0030] 图9A至图9B示出了在SPR中野生型IL2针对IL2R α (图9A) 和IL2R β (图9B) 的传感图和结合动力学。

[0031] 图10A至图10H示出了在SPR中大肠杆菌产生的野生型IL2和工程化的IL2R β 激动剂针对IL2R α 的传感图。图10A示出了野生型IL2的传感图;图10B示出了EP001的传感图;图10C示出了EP004的传感图;图10D示出了EP005的传感图;图10E示出了EP002的传感图;图10F示出了EP03的传感图;图10G示出了EPIM-06的传感图;以及图10H示出了EP007的传感图。

[0032] 图11A至图11H示出了在SPR中大肠杆菌产生的野生型IL2和工程化的IL2R β 激动剂针对IL2R β 的传感图。图11A示出了EP003的传感图;图11B示出了EP005的传感图;图11C示出了EP002的传感图;图11D示出了EP001的传感图;图11E示出了EP007的传感图;图11F示出了EP006的传感图;图11G示出了EP004的传感图;以及图11H示出了野生型IL2的传感图。

[0033] 图12A至图12D示出了在SPR中IL2R β 与哺乳动物产生的野生型IL2 (图12A) 以及工程化的IL2R β 激动剂EP0001 (图12B)、EP0003 (图12C) 和EP004 (图12D) 结合的传感图。

[0034] 图13A至图13D示出了在SPR中IL2R α 与哺乳动物产生的野生型IL2 (图13A) 以及工程化的IL2R β 激动剂EP001 (图13B)、EP003 (图13C) 和EP004 (图13D) 结合的传感图。

[0035] 图14A至图14I示出了按照对CD8⁺T细胞 (图14A针对供血者1,图14D针对供血者2,图14G针对供血者3)、NK细胞 (图14B针对供血者1,图14E针对供血者2,图14H针对供血者3) 和T reg (图14C针对供血者1,图14F针对供血者2,图14I针对供血者3) 进行测量的方式,在用野生型IL2和工程化的IL2R β 激动剂刺激人PBMC后,从供血者1-3测得的pSTAT5表达。

[0036] 图15A至图15B示出了通过ELISA进行的IL2R β 激动剂EP001回复突变克隆的与IL2R α (图15A) 和IL2R β (图15B) 结合的表征。

[0037] 图16A至图16H示出了通过SPR获得的IL2R β 激动剂EP001回复突变克隆的IL2R β 结合传感图。

[0038] 图17示出了IL2R α /IL2R β 克隆的纯化克隆的SDS-PAGE结果的实例。

[0039] 图18A至图18H示出了通过SPR获得的工程化的IL2R α /IL2R β 克隆与人IL2 α 的结合传感图。

[0040] 图19A至图19H示出了通过SPR获得的工程化的IL2R α /IL2R β 克隆与人IL2 β 的结合

传感图。

[0041] 图20A至图20G示出了通过SPR获得的工程化的IL2R α /IL2R β 克隆与人IL2R α 的单一浓度结合传感图。

[0042] 图21A至图21G示出了通过SPR获得的工程化的IL2R α /IL2R β 克隆与人IL2R β 的单一浓度结合传感图。

[0043] 图22A至图22B示出了通过SPR测量的工程化的IL2R α /IL2R β 克隆与人IL2R α (图22A) 和IL2R β (图22B) 的多浓度结合。

[0044] 图23A至图23E示出了与人IL2R α 的ELISA结合。图23A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R α 的ELISA结合。图23B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R α 的ELISA结合。图23C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R α 的ELISA结合。图23D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R α 的ELISA结合。图23E示出了选定的工程化的IL2R β /IL2R α 克隆的剂量依赖性结合。

[0045] 图24A至图24D示出了与人IL2R β 的ELISA结合。图24A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R β 的ELISA结合。图24B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R β 的ELISA结合。图24C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R β 的ELISA结合。图24D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变与人IL2R β 的ELISA结合。

[0046] 图25A至图25D示出了通过工程化的IL2R α /IL2R β 克隆对来自供体656的人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图25A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图25B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图25C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图25D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。

[0047] 图26A至图26D示出了通过工程化的IL2R α /IL2R β 克隆进行的来自供体648的人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图26A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图26B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图26C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。图26D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对人CD8+T细胞的p-STAT5活化。

[0048] 图27A至图27D示出了通过工程化的IL2R α /IL2R β 克隆对来自供体656的人NK细胞的p-STAT5活化。图27A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。图27B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。图27C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。图27D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。

[0049] 图28A至图28D示出了通过工程化的IL2R α /IL2R β 克隆对来自供体648的人NK细胞的p-STAT5活化。图28A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。图28B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。图28C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。图28D示出了对EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对人NK细胞的p-STAT5活化。

[0050] 图29A至图29D示出了通过工程化的IL2R α /IL2R β 克隆对来自供体656的人T_{reg}细胞的p-STAT5活化。图29A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对人T_{reg}细胞的p-STAT5活化。图29B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对人T_{reg}细胞的p-STAT5活

化。图29C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对人T reg细胞的p-STAT5活化。图29D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对人T reg细胞的p-STAT5活化。

[0051] 图30A至图30D示出了通过工程化的IL2R α /IL2R β 克隆对来自供体648的人T reg细胞的p-STAT5活化。图30A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对人T reg细胞的p-STAT5活化。图30B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对人T reg细胞的p-STAT5活化。图30C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对人T reg细胞的p-STAT5活化。图30D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对人T reg细胞的p-STAT5活化。

[0052] 图31A至图31D示出了鼠CD8+T细胞的p-STAT5活化。图31A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠CD8+T细胞的p-STAT5活化。图31B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠CD8+T细胞的p-STAT5活化。图31C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠CD8+T细胞的p-STAT5活化。图31D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠CD8+T细胞的p-STAT5活化。

[0053] 图32A至图32D示出了鼠NK细胞的p-STAT5活化。图32A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠NK细胞的p-STAT5活化。图32B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠NK细胞的p-STAT5活化。图32C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠NK细胞的p-STAT5活化。图32D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠NK细胞的p-STAT5活化。

[0054] 图33A至图33D示出了鼠调节性T细胞的p-STAT5活化。图33A示出了EP252及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠调节性T细胞的p-STAT5活化。图33B示出了EP253及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠调节性T细胞的p-STAT5活化。图33C示出了EP258及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠调节性T细胞的p-STAT5活化。图33D示出了EP260及其IL2R α 结合减少的突变的对鼠调节性T细胞的p-STAT5活化。

[0055] 图34示出了鼠CD8+T细胞、NK细胞和Treg的p-STAT5活化的概述。

[0056] 图35A至图35C示出了单价和二价IL2R β 激动剂Fc融合蛋白的结构图解。

[0057] 图36A至图36B示出了纯化的IL2R β 激动剂Fc融合蛋白的SDS-PAGE分析。

[0058] 图37A至图37G示出了通过二价IL2R β 激动剂Fc融合蛋白的ELISA进行的受体结合分析。

[0059] 图38A至图38B示出了通过单价IL2R β 激动剂Fc融合蛋白的ELISA进行的受体结合分析。

[0060] 图39A至图39D示出了通过SPR进行的对单价IL2R β Fc融合蛋白的受体结合分析。

[0061] 图40A至图40C示出了二价IL2R β 激动剂Fc-融合蛋白对人PBMC的p-STAT5活化。

[0062] 图41A至图41C示出了单价IL2R β 激动剂Fc-融合蛋白对人PBMC的p-STAT5活化。

[0063] 图42A至图42B示出了IL2R β 激动剂的鼠i.v. (图42A) 和i.p. (图42B) 施用的药代动力学。

[0064] 图43A至图43D示出了在施用IL2R β 激动剂后肿瘤浸润免疫细胞的归一化计数。

[0065] 图44A至图44B示出了肿瘤中效应细胞与调节性T细胞的比率。

[0066] 图45A至图45C示出了效应T细胞和记忆T细胞的百分比。

具体实施方式

[0067] IL2一直是有前景的新免疫疗法,但基于野生型人IL2的疗法除了活化效应T细胞

和NK细胞以外,还可活化调节性T细胞。IL2对调节性T细胞的活化可阻碍原本可由IL2引发的抗癌反应。因此,需要基于IL2的疗法,其具有减少的调节性T细胞活化和/或效应T细胞、NK细胞或其组合的优先活化。

[0068] 本文提供了合理设计的IL2R β 激动剂,其为在IL2R β 结合区2中具有增强与IL2R β 的结合的氨基酸取代的工程化的IL2多肽。与野生型IL2相比,工程化的IL2R β 激动剂提供了增加对NK细胞和效应T细胞刺激的有利方面,但不能增加对调节性T细胞的刺激。因此,工程化的IL2R β 激动剂可用于调节或活化免疫反应,例如用于治疗癌症。

[0069] 除非另有说明,否则本文使用的术语“白细胞介素-2”或“IL2”是指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物诸如人或小鼠的IL2。该术语涵盖前体或未加工的IL2,以及由细胞加工产生的任何形式的IL2。该术语还涵盖IL2的天然存在的变体,诸如剪接变体或等位基因变体。示例性成熟人IL2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:65。前体或未加工的人IL2显示于SEQ ID NO:66,并且包括成熟IL2多肽中不存在的20个残基的信号肽。“野生型”或“天然的”在用于IL2时意指成熟的IL2分子(例如,SEQ ID NO:65)。如本文中所用,术语“工程化的IL2”或“工程化的IL2多肽”涵盖具有至少一个与天然或野生型IL2不同的残基的IL2,并包括全长IL2、IL2的截短形式以及IL2与另一分子诸如另一多肽连接或融合的形式。工程化的IL2的各种形式的特征在于具有至少一个影响IL2与IL2R β 和/或IL2R α 相互作用的氨基酸取代。本文所述的各种工程化形式的IL2的鉴定是根据例如SEQ ID NO:22中所示的序列进行的。本文中可使用各种标识符来表示相同的残基取代。例如,从第81位的精氨酸至苏氨酸的取代可以表示为R81T或81T。

[0070] IL2R β 结合区1和IL2R β 结合区2负责与IL2R β 的IL2结合。如本文中所用,“IL2R β 结合区1”是指野生型或天然人IL2的残基11-23。IL2R β 结合区1的氨基酸序列提供于SEQ ID NO:67中。如本文中所用,“IL2R β 结合区2”是指野生型或天然人IL2的残基81-95。IL2R β 结合区2的氨基酸序列提供于SEQ ID NO:68中。

[0071] IL2R α 结合区1和IL2R α 结合区2负责IL2与IL2R α 的结合。如本文中所用,“IL2R α 结合区1”是指野生型或天然人IL2的残基34-45。IL2R α 结合区1的氨基酸序列提供于SEQ ID NO:223中。

[0072] 如本文中所用,术语“取代”或“残基取代”是指用不同的残基替换天然或野生型残基。

[0073] 如本文中所用,“任何残基”是指具有二十个典型氨基酸侧链之一的氨基酸残基:丙氨酸(Ala,A);精氨酸(Arg,R);天冬酰胺(Asn,N);天冬氨酸(Asp,D);半胱氨酸(Cys,C);谷氨酰胺(Gln,Q);谷氨酸(Glu,E);甘氨酸(Gly,G);组氨酸(His,H);异亮氨酸(Ile,I);亮氨酸(Leu,L);赖氨酸(Lys,K);甲硫氨酸(Met,M);苯丙氨酸(Phe,F);脯氨酸(Pro,P);丝氨酸(Ser,S);苏氨酸(Thr,T);色氨酸(Trp,W);酪氨酸(Tyr,Y);和缬氨酸(Val,V)。

[0074] 如本文中所用,“不带电荷的残基”是指在生理pH(pH=7)下侧链不带电荷的氨基酸残基。不带电荷的残基是:丙氨酸(Ala,A);天冬酰胺(Asn,N);半胱氨酸(Cys,C);谷氨酰胺(Gln,Q);甘氨酸(Gly,G);组氨酸(His,H);异亮氨酸(Ile,I);亮氨酸(Leu,L);甲硫氨酸(Met,M);苯丙氨酸(Phe,F);脯氨酸(Pro,P);丝氨酸(Ser,S);苏氨酸(Thr,T);色氨酸(Trp,W);酪氨酸(Tyr,Y);和缬氨酸(Val,V)。

[0075] 如本文中所用,“不带电荷的极性残基”是指具有在生理pH(pH=7)下不带电荷并

且是亲水的侧链的氨基酸残基。不带电荷的极性残基是：天冬酰胺 (Asn, N) ; 半胱氨酸 (Cys, C) ; 谷氨酰胺 (Gln, Q) ; 丝氨酸 (Ser, S) ; 苏氨酸 (Thr, T) ; 和酪氨酸 (Tyr, Y) 。

[0076] 如本文中所用,“不带电荷的非极性残基”是指具有在生理pH (pH=7) 下不带电荷并且是疏水性的侧链的氨基酸残基。不带电荷的非极性残基是：丙氨酸 (Ala, A) ; 甘氨酸 (Gly, G) ; 组氨酸 (His, H) ; 异亮氨酸 (Ile, I) ; 亮氨酸 (Leu, L) ; 甲硫氨酸 (Met, M) ; 苯丙氨酸 (Phe, F) ; 脯氨酸 (Pro, P) ; 色氨酸 (Trp, W) ; 和缬氨酸 (Val, V) 。

[0077] 如本文中所用,“碱性残基”是指在生理pH (pH=7) 下具有带正电荷的侧链的氨基酸残基。碱性残基是赖氨酸 (Lys, K) ; 和精氨酸 (Arg, R) 。

[0078] 如本文中所用,“酸性残基”是指在生理pH (pH=7) 下具有带负电荷的侧链的氨基酸残基。酸性残基为天冬氨酸 (Asp, D) ; 和谷氨酸 (Glu, E) 。

[0079] “融合多肽”或“融合蛋白”是指由至少两种不同的对应于基因或其片段的DNA序列编码的多肽,所述多肽不是由同一基因天然表达的。融合多肽的一个实例是工程化的IL2-Fc融合多肽,其包含工程化的IL2多肽的氨基酸序列和Fc结构域的氨基酸序列。

[0080] “亲和力”是指分子 (例如,受体) 的单一结合位点与其结合配偶体 (例如,配体) 之间非共价相互作用的总和的强度。除非另外说明,否则如本文中所用,“结合亲和力”是指反映结合对 (例如,抗体和抗原) 的成员之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子-X对其配偶体Y的亲和力通常可以用解离常数 (K_D) 来表示,该常数是解离和缔合速率常数 (分别为 k_{off} 和 k_{on}) 的比率。因此,只要速率常数的比率保持不变,等效亲和力可以包括不同的速率常数。亲和力可通过本领域技术人员已知的方法 (包括本文中描述的那些方法) 进行测量。

[0081] 如本文中所用,“半衰期延长分子”是指当与第二分子连接 (例如,共价连接) 时,延长第二分子半衰期的分子。半衰期延长分子的实例包括Fc结构域、人血清白蛋白 (HSA)、HSA结合分子、聚乙二醇 (PEG) 和聚丙二醇 (PPG) 。

[0082] 如本文中所用,“Fc结构域”或“Fc区”是指“多肽”是来源于免疫球蛋白重链C端区域的多肽,其包含至少一部分恒定区。该术语包括具有天然序列Fc区的多肽或其变体。尽管IgG重链的Fc区的边界可能略有不同,但人IgG重链Fc区通常被定义为从Cys226或Pro230延伸至重链的羧基末端。然而,Fc区的C末端赖氨酸 (Lys447) 可以存在,也可以不存在。美国专利第7,317,091号、美国专利第8,735,545号、美国专利第7,371,826号、美国专利第7,670,600号和美国专利第9,803,023号 (所有专利通过引用以其整体并入) 中公开了Fc区的实例。

[0083] “人血清白蛋白”或“HSA”是指在人血液中发现的血清白蛋白。常用的HSA形式的分子量为66.5kDa,半衰期约为20天。美国专利第8,143,026号和美国专利第7,189,690号公开了HSA分子的实例,所述专利通过引用以其整体并入。

[0084] “HSA结合分子”是指与人血清白蛋白 (HSA) 的分子,诸如具有HSA结合结合域的抗原结合部分。

[0085] “聚乙二醇”或“PEG”,也称为聚环氧乙烷或聚氧乙烯,是可用于延长半衰期的聚醚聚合物。

[0086] “聚丙二醇”或“PPG”,也称为聚环氧丙烷,是可用于延长半衰期的丙二醇聚合物。

[0087] “抗原结合部分”是指提供与抗原表位相互作用的抗原结合分子 (例如,抗体) 的位点 (即,氨基酸残基)。抗原结合部分可以包括一个或多个抗体可变结构域 (也称为抗体可变区)。优选地,抗原结合结构域包含抗体轻链可变区 (VL) 和抗体重链可变区 (VH)。抗原结合

部分的实例包括免疫球蛋白、Fab分子、scFv、双特异性抗体、双抗体、双特异性T细胞接合物 (bi-specific T-cell engager) 和纳米抗体。抗原结合部分的具体实例包括纳武单抗、帕博利珠单抗、匹地利珠单抗 (pidilizumab)、阿特珠单抗 (atezolizumab)、伊匹木单抗、曲美木单抗 (tremelimumab)、利妥昔单抗、奥瑞珠单抗、奥比妥珠单抗 (obinituzumab)、奥法木单抗 (ofatumumab)、替坦异贝莫单抗 (ibritumomab tiuxetan)、托西莫单抗、乌利妥昔单抗和贝伐珠单抗 (bevacizumab)。

[0088] “免疫球蛋白”是指具有天然存在的抗体的结构的蛋白质。例如，IgG类免疫球蛋白是具有二硫键键合的两条轻链和两条重链的异源四聚糖蛋白。从N末端至C末端，每条重链具有可变区 (VH) (也称为可变重链结构域或重链可变结构域)，接着是三个恒定结构域 (CH1、CH2和CH3) (也称为重链恒定区)。类似地，从N末端至C末端，每条轻链具有可变区 (VL) (也称为可变轻链结构域或轻链可变结构域)，接着是恒定轻链 (CL) 结构域 (也称为轻链恒定区)。免疫球蛋白的重链可以归入五类中的一类，称为 α (IgA)、 δ (IgD)、 ϵ (IgE)、 γ (IgG) 或 μ (IgM)，其中一些可以进一步分为亚类，例如， $\gamma 1$ (IgG1)、 $\gamma 2$ (IgG2)、 $\gamma 3$ (IgG3)、 $\gamma 4$ (IgG4)、 $\alpha 1$ (IgA1) 和 $\alpha 2$ (IgA2)。基于其恒定结构域的氨基酸序列，免疫球蛋白的轻链可以被指定为两种类型 (称为卡巴 (κ) 和兰姆达 (λ)) 之一。免疫球蛋白包括通过免疫球蛋白铰链区连接的两个Fab分子和Fc结构域。

[0089] “Fab分子”或“抗原结合片段”是抗体的抗原结合片段，其包括轻链的可变结构域和恒定结构域，以及重链的可变结构域和CH1结构域。

[0090] “单链可变结构域”或“scFv”是指抗原结合部分，其包括重链和轻链的可变区，它们通过接头肽连接。

[0091] “双特异性抗体”是指具有两个不同抗原结合位点的人工抗体。双特异性抗体可以指具有两个不同抗原结合位点的全免疫球蛋白，或者可以指具有两个抗原结合部分的其它分子，诸如包含两个Fab或两个scFv的融合蛋白。

[0092] “双抗体”是指一类二价且双特异性的抗原结合分子。所述片段包含与同一多肽链 (VH-VL) 上的轻链可变结构域 (VL) 连接的重链可变结构域 (VH)。通过使用太短而不能允许在同一链上的两个结构域之间配对的接头，迫使结构域与另一链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点。

[0093] “双特异性T细胞接合物”是指一类双特异性抗体，其具有与T细胞结合 (例如，通过结合CD3) 的第一抗原结合部分和结合不同抗原 (例如，肿瘤抗原) 的第二抗原结合部分。

[0094] “纳米体”或“单结构域抗体”是指由单个单体可变抗体结构域组成的抗原结合部分。

[0095] “转铁蛋白”是可用于融合蛋白以延长半衰期的铁转运蛋白。人转铁蛋白在血清中的半衰期为12天。

[0096] 如本文中所用，“细胞因子”是指一类参与细胞信号传导和免疫调节的小 (<25kDa) 蛋白质。细胞因子包括，例如，IL2、白细胞介素-10 (IL-10)、白细胞介素-1 (IL-1)、白细胞介素-17 (IL-17)、白细胞介素-18 (IL-18)、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、TGF- $\beta 1$ 、TGF- $\beta 2$ 和 TGF- $\beta 3$ 、趋化因子 (C-C基序) 配体2 (CCL2) 和趋化因子 (C-C基序) 配体19 (CCL19)。

[0097] 根据任何上述实施方案的“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于家养动物 (例如，牛、绵羊、猫、狗和马)、灵长类动物 (例如，人和非人灵长类动物，诸如猴子)、兔子和

啮齿动物(例如,小鼠和大鼠)。优选地,受试者是人。

[0098] “调节免疫反应”可包括以下一种或多种:一般性增加、效应T细胞反应(例如,针对肿瘤细胞和病毒感染细胞的细胞毒性)增加、B细胞活化增加、淋巴细胞活化和增殖的恢复、IL2受体表达增加、T细胞反应增加、天然杀伤细胞活性或淋巴因子活化的杀伤(LAK)细胞活性增加、调节性T细胞对其它T细胞的反应减弱等。

[0099] “调节性T细胞”或“Treg细胞”是指可起抑制其它T细胞反应作用的特化类型的CD4+T细胞。Treg细胞表达IL2受体(CD25)的 α 亚单位和转录因子叉头盒P3(FOXP3)(Sakaguchi, Annu Rev Immunol 22,531-62(2004)),并参与诱导和维持对抗原(包括肿瘤表达的那些抗原)的外周自身耐受性。Treg细胞的功能、发育以及其抑制特性的诱导需要IL2。

[0100] “效应T细胞”是指对刺激物诸如IL2起反应的T细胞群体。效应T细胞包括CD8+细胞毒性T细胞和CD4+辅助性T细胞。如本文中所用,效应T细胞不包括调节性T细胞。

[0101] “天然杀伤细胞”或“NK细胞”是先天免疫系统的组成部分,并且是在排斥肿瘤和病毒感染的细胞方面起主要作用的细胞毒性淋巴细胞。

[0102] “治疗(Treatment)”、“治疗(treating)”或“改善(ameliorating)”是指对受试者(例如,患者)的疾患、疾病或病症的医学管理,其可以是治疗性治疗、预防性(prophylactic)治疗/预防性(preventative)治疗或其组合治疗。

[0103] “有效量”或“治疗有效量”可以指提供所需生理变化(诸如,抗癌效果)的治疗剂(例如,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽)的量。期望的生理变化例如可以是疾病症状的减轻,或者疾病严重性的减轻,或者可以是疾病进展的减缓。关于癌症,期望的生理变化可以包括,例如,肿瘤消退、肿瘤进展速度降低、癌症生物标志物水平降低、与癌症相关的症状减轻、转移的预防或延迟或临床缓解。

[0104] “检查点抑制剂”是指降低免疫检查点蛋白活性的剂。检查点抑制剂可以是与免疫检查点蛋白结合并降低其活性的抗原结合部分。免疫检查点蛋白包括,例如,程序性细胞死亡蛋白1(PD-1或CD279)、程序性死亡配体1(PD-L1或CD274)、细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4或CD152)、T细胞免疫球蛋白粘蛋白3(TIM3)、淋巴细胞活化3(LAG3或CD223)、B7-H2(ICOSL或CD275)和B7-H3(CD276)。检查点抑制剂的实例包括伊匹木单抗(抗CTLA-4抗体)、纳武单抗(抗PD-1抗体)和帕博利珠单抗(抗PD-1抗体)。

[0105] “癌抗原”是指优先被癌细胞表达的分子。癌抗原的实例包括CD19、CD20、ROR1、成纤维细胞活化蛋白- α 和癌胚抗原(CEA)。

[0106] “溶瘤病毒”是指优先感染并杀死癌细胞的病毒。例如,溶瘤疱疹病毒已被工程化成缺失ICP34.5,导致病毒只能在癌细胞(不能在健康细胞)中复制。溶瘤病毒的实例是用于治疗黑色素瘤的拉他莫基(Talimogene laherparepvec)。

[0107] “癌症疫苗”是指向免疫系统呈现癌症表位以引发免疫系统抗癌反应的疫苗。例如,sipuleucel-T是针对转移性前列腺癌的疫苗,其靶向针对前列腺癌抗原前列腺酸性磷酸酶(PAP)的免疫反应。

[0108] “嵌合抗原受体”或“CAR”是工程化的抗原结合受体,当在某些类型的免疫细胞中表达时,在抗原结合时活化免疫细胞。CAR通常包含含有抗原结合部分(例如,scFv)的胞外结构域、跨膜结构域和胞内免疫信号传导结构域(例如,包括来自CD3 ζ 、4-1BB和/或CD28的信号传导结构域)。CAR可由例如T细胞或NK细胞表达,并且可以包括靶向癌抗原诸如CD19或

ROR1的抗原结合部分。

[0109] “肿瘤浸润淋巴细胞”或“TIL”是指被从肿瘤组织中分离出来,在体外对其进行操作(例如,使用细胞因子诸如白细胞介素-2进行刺激),然后回输到患者体内,使得活化的TIL返回肿瘤部位并诱导肿瘤消退的淋巴细胞。

[0110] “肿瘤微环境抑制剂”是指抑制一种或多种促进肿瘤生长并存在于肿瘤周围局部环境中的条件或细胞类型的剂。例如,贝伐单抗可以通过减少肿瘤微环境中的血管生成来抑制肿瘤微环境。

[0111] 在本说明书中,除非另有说明,否则术语“约”意指±所指示的范围、值或结构的20%。术语“基本上由……组成”将权利要求的范围限制到指定的材料或步骤,以及那些实质上不影响要求保护的本发明的基本和新颖特征的材料或步骤。应当理解,如本文中所用,术语“一个/种(a)”和“一个/种(an)”是指列举的组分中的“一个/种或多个/种”。替代方案(例如,“或”)的使用应理解为意指替代方案中的一个、两个或其任何组合。如本文中所用,术语“包括”和“具有”用作同义词,所述术语及其变化形式体旨在解释为非限制性的。术语“包含”意指如权利要求中提及的所述特征、整体、步骤或组件的存在,但是其不排除一个或多个其它特征、整体、步骤、组件或其组的存在或添加。

[0112] 本公开中使用的重组DNA、分子克隆和基因表达技术是本领域已知的,并描述于参考文献,诸如Sambrook等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第3版,Cold Spring Harbor Laboratory,New York,2001和Ausubel等人,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley and Sons,Baltimore,MD,1999中。

[0113] 工程化的白细胞介素-2多肽

[0114] 如上所述,本公开的IL2多肽包括具有工程化的IL2受体β(IL2Rβ)结合区2的IL2Rβ激动剂。在一些实施方案中,结合区2包含:

[0115] $X_1-X_2-X_3-D-X_4-X_5-X_6-N-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}$ (SEQ ID NO:1),

[0116] 其中 X_1 、 X_3 、 X_6 、 X_8 、 X_{12} 和 X_{13} 各自包含任何残基,

[0117] 其中 X_2 、 X_4 和 X_{10} 是不带电荷的残基,以及

[0118] 其中 X_5 、 X_7 、 X_9 和 X_{11} 各自包含不带电荷的非极性残基。

[0119] 例如,在一些实施方案中,工程化的IL2多肽具有氨基酸序列:APTSSSTKKTQLQLEH LLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL $X_1X_2X_3DX_4X_5X_6NX_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}$ LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:22),

[0120] 其中 X_1 、 X_3 、 X_6 、 X_8 、 X_{12} 和 X_{13} 各自包含任何残基,

[0121] 其中 X_2 、 X_4 和 X_{10} 是不带电荷的残基,以及

[0122] 其中 X_5 、 X_7 、 X_9 和 X_{11} 各自包含不带电荷的非极性残基。

[0123] 在某些实施方案中, X_1 是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基、碱性残基或酸性残基。在一些实施方案中, X_1 选自C、T、G、W、I、S、E和K。在一些实施方案中, X_1 选自G、K、E、C和T。在某些实施方案中, X_2 是不带电荷的极性残基或不带电荷的非极性残基。在一些实施方案中, X_2 选自Y、P、V、W、L、A和G。在一些实施方案中, X_2 选自V、P、W和A。在某些实施方案中, X_3 是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基、碱性残基或酸性残基。在一些实施方案中, X_3 选自S、T、Q、G、M、E、R和K。在一些实施方案中, X_3 选自T、G、S、R和E。在某些实施方案中, X_4 不是L。在一些实施方案中, X_4 是不带电荷的非极性残基或不带电荷的极性残基。在某

些实施方案中, X_4 选自 A、V、S 和 T。在某些实施例中, X_5 选自 I、L、T 和 V。在一些实施例中, X_5 选自 I 和 V。在某些实施例中, X_6 是不带电的极性残基、碱性残基或酸性残基。在某些实施方案中, X_6 选自 S、T、E、D 和 R。在一些实施方案中, X_6 选自 S、D、E 和 T。在某些实施方案中, X_7 选自 I、A、M 和 V。在一些实施方案中, X_7 选自 I、A 和 M。在某些实施方案中, X_8 是不带电的极性残基、不带电的非极性残基、碱性残基或酸性残基。在一些实施方案中, X_8 选自 S、T、N、Q、I、G、E、K 和 R。在某些实施方案中, X_8 选自 I、R、N 和 T。在某些实施方案中, X_9 选自 V、L 和 I。在某些实施方案中, X_9 是 V。在某些实施方案中, X_{10} 是不带电荷的极性残基或不带电荷的非极性残基。在某些实施方案中, X_{10} 选自 N、T、I 和 L。在某些实施方案中, X_{10} 选自 I 和 L。在某些实施方案中, X_{11} 选自 V、A 和 I。在某些实施方案中, X_{12} 是不带电荷的极性残基、不带电荷的非极性残基或酸性残基。在某些实施方案中, X_{12} 选自 Q、L、G、K 和 R。在某些实施方案中, X_{12} 选自 R、G、Q 和 K。在某些实施方案中, X_{13} 是不带电荷的非极性残基或碱性残基。在某些实施方案中, X_{13} 选自 A、D 和 E。在某些实施例中, X_{13} 选自 E 和 A。

[0124] 在一些实施方案中, IL2R β 结合区 2 选自: GVTDSISNAIVLARE (SEQ ID NO:2); KWGDAVSNAIRVLAGE (SEQ ID NO:3); KWGDAVSNAIRVLAGE (SEQ ID NO:4); TLMDDTDNIGVLVRE (SEQ ID NO:5); EPSDVISNINVLVQE (SEQ ID NO:6); SPQDSIENISVLVRE (SEQ ID NO:7); WASDSIENITLLIQE (SEQ ID NO:8); CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9); RYKDSLENMQIIIE (SEQ ID NO:10); TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11); TPRDVVENMNVLVLE (SEQ ID NO:12); TPSDVIEINMEVLILD (SEQ ID NO:13); TPSDAIENINVLIRE (SEQ ID NO:14); TPSDVIEINITVLVQE (SEQ ID NO:15); GVGDTIDNINVLVKE (SEQ ID NO:16); IGRDSIDNIKVIVQE (SEQ ID NO:17); WATDTIRNVEVLVQE (SEQ ID NO:18); TAEDVVTNITVLVQE (SEQ ID NO:19); TAEDVISNIRVNVQE (SEQ ID NO:20); TPSDVIDNVSITVQE (SEQ ID NO:21); TARDAISNIRVIVQE (SEQ ID NO:210); RARDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:211); TPRDAIDNINVIIQE (SEQ ID NO:212); TPRDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:213); TPRDAIDNIRVILE (SEQ ID NO:214); TARDAISNINVIIQE (SEQ ID NO:215); 和 TARDAIDNINVIVQE (SEQ ID NO:216); 和 TARDAIDNIRVIVLE (SEQ ID NO:217)。

[0125] 在一些实施方案中, 工程化的 IL2R β 结合区 2 选自: TPRDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:213); TPRDAIDNIRVILE (SEQ ID NO:214); TARDAISNINVIIQE (SEQ ID NO:215) 和 TARDAIDNINVIVQE (SEQ ID NO:216)。

[0126] 在一些实施方案中, 工程化的 IL2R β 结合区 2 选自: GVTDSISNAIVLARE (SEQ ID NO:2); KWGDAVSNAIRVLAGE (SEQ ID NO:4); EPSDVISNINVLVQE (SEQ ID NO:6); CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9); TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11); GVGDTIDNINVLVKE (SEQ ID NO:16); TAEDVVTNITVLVQE (SEQ ID NO:19)。

[0127] 在一些实施方案中, 工程化的 IL2R β 结合区 2 选自: GVTDSISNAIVLARE (SEQ ID NO:2); CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9) 和 TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11)。

[0128] 在一些实施方案中, 工程化的 IL2 多肽具有 SEQ ID NO:22 的氨基酸序列。在某些实施方案中, 工程化的 IL2 多肽具有 SEQ ID NO:23-42 中的任一个的氨基酸序列。

[0129] 在某些实施方案中, 本公开的 IL2R β 激动剂包括工程化的 IL2 多肽, 其相对于 SEQ ID NO:65 包含对选自以下的至少一个残基的取代: R81、P82、R83、L85、I86、S87、I89、N90、I92、V93 和 L94。在某些实施方案中, 至少一个取代是对残基 L85 的取代。在某些实施方案中, IL2 多肽包含对选自以下的至少两个残基的取代: R81、P82、R83、L85、I86、S87、I89、N90、

I92、V93和L94。在一些实施方案中,至少两个残基选自R81、R83、L85、I92和L94。在一些实施方案中,IL2多肽包含对选自R81、R83、L85、I92和L94的至少三个残基的取代。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽包含对R81、R83、L85、I92和L94的取代。在一些实施方案中,R81取代选自R81G、R81K、R81E、R81C和R81T。在一些实施方案中,R83取代选自R83T、R83G、R83S和R83E。在一些实施方案中,L85取代选自L85S、L85A、L85V和L85T。在一些实施方案中,I92取代是I92L。在一些实施方案中,L94取代选自L94R、L94G、L94Q和L94K。在一些实施方案中,包含对选自以下的至少一个残基的取代:R81、P82、R83、L85、I86、S87、I89、N90、I92、V93和L94的工程化的IL2多肽具有SEQ ID NO:2-24中的任一个的IL2R β 结合区2。

[0130] 在一些实施方案中,与野生型IL2相比,工程化的IL2多肽对IL2R β 的亲合力增加。在某些实施方案中,工程化的IL2多肽与IL2R β 的结合的 K_D 是野生型IL2与IL2R β 的结合的 K_D 的至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍或至少30倍。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽以比野生型IL2高至少30倍的 K_D 与IL2R β 结合。在一些实施方案中,与野生型IL2相比,工程化的IL2多肽对IL2R β 的亲合力增加了至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍或至少30倍。

[0131] 在一些实施方案中,与野生型IL2相比,工程化的IL2多肽对IL2R α 的亲合力减小。在某些实施方案中,与野生型IL2相比,工程化的IL2多肽对IL2R α 的亲合力减小了至少5%、至少10%、至少15%或至少20%。

[0132] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽与野生型IL2相比具有相似的对IL2R α 的亲合力。在某些实施方案中,工程化的IL2多肽对IL2R α 的亲合力与野生型IL2对IL2R α 的亲合力相差不超过 $\pm 20\%$ 、不超过 $\pm 15\%$ 、不超过 $\pm 10\%$ 或不超过 $\pm 5\%$ 。

[0133] 本公开的一些实施方案提供了包含工程化的IL2受体 α (IL2R α) 结合区1的工程化的IL2多肽。工程化的IL2R α 结合区1可包含选自以下的取代:位置K35处的取代、R38处的取代、F42处的取代、Y45处的取代或其组合。在一些实施方案中,与野生型IL2相比,工程化的IL2多肽至少2倍降低的结合动力学与IL2R α 结合。

[0134] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽可包含位置K35处的取代。在一些实施方案中,位置K35处的取代包括非碱性残基。在一些实施方案中,位置K35处的取代包括不带电荷的残基或酸性残基。在一些实施方案中,位置K35处的取代选自:K35G、K35L、K35S、K35V、K35D、K35E和K35C。

[0135] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽包含位置R38处的取代。在一些实施方案中,位置R38处的取代包括非碱性残基。在一些实施方案中,位置R38处的取代包括不带电荷的残基或酸性残基。在一些实施方案中,位置R38处的取代选自:R38V、R38D、R38E、R38S、R38I、R38A、R38Y、R38G、R38C和R38N。

[0136] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽可包含位置F42处的取代。在一些实施方案中,位置F42处的取代包括不带电荷的残基。在一些实施方案中,位置F42处的取代包括碱性残基。在一些实施方案中,位置F42处的取代选自:F42A、F42R、F42G、F42I、F42L、F42P和F42H。

[0137] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽可包含位置Y45处的取代。在一些实施方案中,位置Y45处的取代包括不带电的残基。在一些实施方案中,位置Y45处的取代包括不带电荷的极性残基或不带电荷的非极性残基。在一些实施方案中,Y45取代是Y45S、Y45P、Y45A、

Y45V、Y45C、Y45T和Y45F。

[0138] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽可包含位置K35处的取代和位置R38处的取代。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽包含K35G取代和R38E取代。

[0139] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽可包含位置K35处的取代和位置F42处的取代。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽包含K35S取代和F42G取代。

[0140] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽可包含位置K35处的取代、位置R38处的取代和位置F42处的取代。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽包含K35L取代、R38D取代和F42R取代。

[0141] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽可包含位置R38处的取代和位置Y45S处的取代。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽包含R38D取代和Y45S取代。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽包含R38V取代和Y45S取代。

[0142] 在一些实施方案中,与野生型IL2相比,工程化的IL2多肽以至少10倍降低的结合动力学与IL2R α 结合。

[0143] 在一些实施方案中,IL2R α 结合区1选自:PVLTRMLTIKIFY (SEQ ID NO:183); PKLTRMLTLKFP (SEQ ID NO:184); PDLTSMIAFKFY (SEQ ID NO:185); PGLTEMLTFKIFY (SEQ ID NO:186); PSLTRMLTGKIFY (SEQ ID NO:187); PELTIMLTPKIFY (SEQ ID NO:188); PCLTAMTLKFA (SEQ ID NO:189); PCLTAMTLKFA (SEQ ID NO:190); PKLTRMLTHKFV (SEQ ID NO:191); PCLTDMLTFKIFY (SEQ ID NO:192); PLLTDMLTRKIFY (SEQ ID NO:193); PLLTDMLTFKIFY (SEQ ID NO:194); PKLTDMLTFKFS (SEQ ID NO:195); PKLTYMLTRKIFY (SEQ ID NO:196); PKLTRMLTFKFC (SEQ ID NO:197); PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:198); PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:199); PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:200); PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:201); PKLTGMLTFKFS (SEQ ID NO:202); PKLTVMLTFKFT (SEQ ID NO:203); PKLTVMLTFKFS (SEQ ID NO:204); PKLTVMLTFKFP (SEQ ID NO:205); PKLTVMLTFKFF (SEQ ID NO:206); PKLTCMLTFKFA (SEQ ID NO:207); PKLTNMLTFKFA (SEQ ID NO:208) 和PKLTNMLTFKFS (SEQ ID NO:209)。

[0144] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽与SEQ ID NO:22的IL2R β 结合区2外的残基(即,残基1-80和96-133)共享至少80%,例如至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或至少100%序列同一性,并与IL2R β 结合。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽与SEQ ID NO:223的IL2R α 结合区1外的残基(即,残基1-33和46-133)共享至少80%,例如至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或至少100%序列同一性并具有减少的与IL2R α 的结合以及与IL2R β 结合。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽与SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:223的IL2R α 结合区1和IL2R β 结合区2外的残基(即,残基1-33、46-80、96-133)共享至少80%,例如至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或至少100%序列同一性并具有减少的与IL2R α 的结合以及与IL2R β 结合。在一些实施方案中,本公开提供了工程化的IL2多肽,其包含如前所述的工程化的IL2R β 结合区2和如前所述的工程化的IL2R α 结合区1。在某些实施方案中,工程化的IL2多肽包含选自以下的工程化的IL2R α 结合区1:PVLTRMLTIKIFY (SEQ ID NO:183); PKLTRMLTLKFP (SEQ ID NO:184); PDLTSMIAFKFY (SEQ ID NO:185); PGLTEMLTFKIFY (SEQ ID NO:186); PSLTRMLTGKIFY (SEQ ID NO:187); PELTIMLTPKIFY (SEQ ID NO:188); PCLTAMTLKFA (SEQ ID

NO:189);PCLTAMLTCLKFA (SEQ ID NO:190);PKLTRMLTHKFV (SEQ ID NO:191);PCLTDMLTFKFY (SEQ ID NO:192);PLLTDMLTRKFY (SEQ ID NO:193);PLLTDMLTRKFY (SEQ ID NO:194);PKLTDMLTFKFS (SEQ ID NO:195);PKLTYMLTRKFY (SEQ ID NO:196);PKLTRMLTFKFC (SEQ ID NO:197);PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:198);PKLTSMLTFKFS (SEQ ID NO:199);PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:200);PKLTYMLTFKFS (SEQ ID NO:201);PKLTGMLTFKFS (SEQ ID NO:202);PKLTVMLTFKFT (SEQ ID NO:203);PKLTVMLTFKFS (SEQ ID NO:204);PKLTVMLTFKFP (SEQ ID NO:205);PKLTVMLTFKFF (SEQ ID NO:206);PKLTCMLTFKFA (SEQ ID NO:207);PKLTNMLTFKFA (SEQ ID NO:208)和PKLTNMLTFKFS (SEQ ID NO:209);并且包含选自以下的工程化的IL2R β 结合区2:GVTDNISNAIVLARE (SEQ ID NO:2);KWGDAVSNAIVLAGE (SEQ ID NO:3);KWGDAVSNAIVLAGA (SEQ ID NO:4);TLMDDTDNIGVLVRE (SEQ ID NO:5);EPSDVISNINVLVQE (SEQ ID NO:6);SPQDSIENISVLVRE (SEQ ID NO:7);WASDSIENITLLIQE (SEQ ID NO:8);CPTDTIENITVLIQE (SEQ ID NO:9);RYKDSLENMQIIIE (SEQ ID NO:10);TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11);TPRDVVENMNVLVLE (SEQ ID NO:12);TPSDVIENMEVLILD (SEQ ID NO:13);TPSDAIENINVLIRE (SEQ ID NO:14);TPSDVIENITVLVQE (SEQ ID NO:15);GVGDTIDNINVLVKE (SEQ ID NO:16);IGRDSIDNIKVIVQE (SEQ ID NO:17);WATDTIRNVEVLVQE (SEQ ID NO:18);TAEDVVTNITVLVQE (SEQ ID NO:19);TAEDVISNIRVNVQE (SEQ ID NO:20);TPSDVIDNVISITVQE (SEQ ID NO:21);TARDAISNIRVIVQE (SEQ ID NO:210);RARDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:211);TPRDAIDNINVIIQE (SEQ ID NO:212);TPRDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:213);TPRDAIDNIRVILE (SEQ ID NO:214);TARDAISNINVIIQE (SEQ ID NO:215);和TARDAIDNINVIVQE (SEQ ID NO:216);和TARDAIDNIRVIVLE (SEQ ID NO:217)。

[0145] 在特定实施方案中,工程化的IL2多肽包含选自以下的工程化的IL2R β 结合区2:GVTDNISNAIVLARE (SEQ ID NO:2);TARDAVDNMRVIE (SEQ ID NO:11);TPRDAIDNIRVIVQE (SEQ ID NO:213);TPRDAIDNIRVILE (SEQ ID NO:214);TARDAISNINVIIQE (SEQ ID NO:215)和TARDAIDNINVIVQE (SEQ ID NO:216);和如前所述的工程化的IL2R α 结合区1。

[0146] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽选自SEQ ID NO:147-170中的任一种,任选地包含(或排除)C末端组氨酸标签。在一些实施方案中,C末端组氨酸标签被另一种接头诸如gly-ser接头替代。

[0147] 工程化的IL2融合多肽

[0148] 本公开的一些实施方案提供了工程化的IL2融合多肽。工程化的IL2融合多肽可包括如前所述的工程化的IL2多肽,以及至少一个通过肽键或其它化学键共价连接至工程化的IL2多肽的附加分子。在一些实施方案中,融合多肽的至少一种附加分子是半衰期延长分子。在一些实施方案中,半衰期延长分子包含半衰期延长多肽。在一些实施方案中,半衰期延长多肽包含Fc结构域、人血清白蛋白(HSA)、HSA结合分子或转铁蛋白。

[0149] 在某些实施方案中,IL2融合多肽包含Fc结构域。在一些实施方案中,Fc结构域来源于IgG抗体。人IgG抗体有几个亚类,包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。在特定实施方案中,Fc结构域来源于IgG1抗体或IgG4抗体。在一些实施方案中,Fc结构域具有一个或多个降低Fc结构域的效应子功能的取代。降低Fc效应子功能的取代的实例包括L34A、L235A和P329G。“LALAPG”可以指经修饰的Fc结构域,其包括L34A、L235A和P329G中的每一个。在一些实施方案中,Fc结构域包含至少一个氨基酸残基修饰以延长血清半衰期。美国专利第7,

317,091号、美国专利第8,735,545号、美国专利第7,371,826号、美国专利第7,670,600号和US 9,803,023中描述了对Fc结构域的代表性修饰。在一些实施方案中,Fc结构域是SEQ ID NO:64。在一些实施方案中,工程化的IL2-Fc融合多肽包含选自SEQ ID NO:39-49的序列。

[0150] 在一些实施方案中,融合多肽的至少一种附加分子是抗原结合部分。在一些实施方案中,抗原结合部分包括免疫球蛋白、Fab分子、scFv、双特异性T细胞接合物、双抗体、单结构域抗体或纳米抗体。抗原结合部分可以结合例如癌胚抗原(CEA)、GD2或CD20。CEA抗原部分的实例是CH1A1A-2F。GD-2抗原结合部分的实例是达妥昔单抗,CD20抗原结合部分的实例是利妥昔单抗。

[0151] 在一些实施方案中,融合多肽的至少一种附加分子是细胞因子。在一些实施方案中,细胞因子选自白细胞介素-2、白细胞介素-15、白细胞介素-7、白细胞介素-10和C-C基序趋化因子配体19(CCL19)。在一些实施方案中,融合多肽的附加分子是本文所述的第二工程化的IL2多肽。

[0152] 在一些实施方案中,半衰期延长分子包括聚乙二醇(PEG)或聚丙二醇(PPG)。

[0153] 在一些实施方案中,融合多肽是单价融合多肽。单价融合多肽是指具有一个拷贝的工程化的IL2多肽的融合多肽。

[0154] 在某些实施方案中,单价融合多肽包括与融合配偶体诸如Fc区连接的工程化的IL2多肽。多种接头在本领域是已知的,并且可用于将本文所述的工程化的IL2共价连接至融合配偶体,诸如Fc区。“接头”、“接头序列”在本文中意指连接两个分子并通常用于将两个分子置于优选构型的分子或分子的组(诸如单体或聚合物)。接头可包含提供柔性的氨基酸残基。因此,接头肽可以主要包括以下氨基酸残基:Gly、Ser、Ala或Thr。接头肽的长度应足以以这样的方式连接两个分子,即它们相对于彼此采取正确的构象,使得它们保留所需的活性。为此目的,合适的长度包括至少一个但不超过30个氨基酸残基。优选地,接头长度为约1至30个氨基酸,其中长度为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20个氨基酸的接头是优选的。有用的接头包括甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:218)、(GGGS)_n(SEQ ID NO:219)和(GGGS)_n(SEQ ID No:220),其中n是至少为1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和其它柔性接头。在一些实施方案中,融合多肽是二价融合多肽。二价融合蛋白可以指包含两个拷贝的工程化的IL2多肽的分子复合物,所述工程化的IL2多肽可以具有相同的序列或不同的序列。分子复合物可以非共价结合。例如,二价融合蛋白可以包括诸如通过一个或多个二硫桥,或通过杵臼结构(knobs-into-holes)化学而非共价地结合在一起的两个Fc区。

[0155] 制造工程化的IL2多肽的方法

[0156] 工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可以通过本领域公知的遗传或化学方法以及通过下面实施例中公开的方法来制备。遗传方法可以包括,例如,编码多肽的DNA的位点特异性诱变、PCR和基因合成。预期的核苷酸变化可以通过测序来验证。天然IL2的核苷酸序列已由Taniguchi等人(Nature 302,305-10(1983))描述,并且编码天然人IL2的核酸可从例如美国典型培养物保藏中心(Rockville Md.)获得。

[0157] 工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可以例如通过重组产生或固态肽合成获得。对于重组产生,可以分离编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的多核苷酸,并将其插入一个或多个载体,用于在宿主细胞中克隆和/或表达。此类多核苷酸可以通过常

规方法容易地分离和测序。在某些实施方案中,提供了包含一种或多种本公开的多核苷酸的载体,诸如表达载体。本领域技术人员公知的方法可用于构建含有编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的编码序列以及适当的转录/翻译控制信号的表达载体。这些方法包括体外重组DNA技术、合成技术和体内重组/基因重组。参见,例如,Maniatis等人,MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL(第4版),Cold Spring Harbor Laboratory,N.Y.(2012);以及Ausubel等人,CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY,Green Publishing Associates and Wiley Interscience,N.Y(1993)中描述的技术。表达载体可以是质粒、病毒的一部分,或者可以是核酸片段。表达载体包括表达盒,编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的多核苷酸(即,编码区)可被克隆到所述表达盒中而与启动子和/或其它转录或翻译控制元件可操作地关联。如本文中所用,“编码区”是由翻译成氨基酸的密码子组成的核酸的一部分。虽然“终止密码子”(TAG、TGA或TAA)没有翻译成氨基酸,但如果存在,其可被认为是编码区的一部分,但任何侧翼序列,例如启动子、核糖体结合位点、转录终止子、内含子、5'和3'非翻译区等,都不是编码区的一部分。两个或更多个编码区可以存在于单个多核苷酸构建体中,例如,存在于单个载体上,或者存在于单独的多核苷酸构建体中,例如,存在于单独的(不同的)载体上。此外,任何载体可以包含单个编码区,或者可以包含两个或更多个编码区,例如,本文公开的载体可以编码一个或多个多蛋白,所述多蛋白通过蛋白水解切割在翻译后分离成最终的蛋白质或通过蛋白水解切割共翻译分离成最终的蛋白质。另外,本公开的载体、多核苷酸或核酸可以编码与编码本文公开的多肽或其变体或衍生物的第一或第二多核苷酸融合或未与其融合的异源编码区。异源编码区包括但不限于特化的元件或基序,诸如分泌信号肽或异源功能域。可操作的关联是当基因产物(例如,多肽)的编码区以将基因产物的表达置于一个或多个调节序列的影响或控制之下的方式与一个或多个调控序列关联时。如果启动子功能的诱导导致编码所需基因产物的mRNA的转录,并且如果两个DNA片段之间的键联性质不干扰表达调控序列指导基因产物表达的能力或干扰DNA模板被转录的能力,则两个DNA片段(诸如多肽编码区和与其相关联的启动子)是“可操作地关联的”。因此,如果启动子能够影响编码多肽的核酸的转录,那么启动子区域将可操作地与该核酸相关联。启动子可以是细胞特异性启动子,其仅在预定的细胞中指导DNA的大量转录。除了启动子之外,其它转录控制元件,例如增强子、操纵子、阻遏物和转录终止信号也可与多核苷酸可操作地关联,以指导细胞特异性转录。本文公开了合适的启动子和其它转录控制区。本领域技术人员已知多种转录控制区。这些包括但不限于在脊椎动物细胞中起作用的转录控制区,诸如但不限于来自巨细胞病毒(例如,立即早期启动子,与内含子-A连接)、猿猴病毒40(例如,早期启动子)和逆转录病毒(例如,劳斯肉瘤病毒)的启动子和增强子区段。其它转录控制区包括来源于脊椎动物基因诸如肌动蛋白、热休克蛋白、牛生长激素和兔 β -珠蛋白的那些转录控制区,以及能够控制真核细胞中基因表达的其它序列。其它合适的转录控制区包括组织特异性启动子和增强子以及诱导型启动子(例如,四环素类诱导型启动子)。类似地,本领域普通技术人员已知多种翻译控制元件。这些包括但不限于核糖体结合位点、翻译起始和终止密码子,以及来源于病毒系统的元件(特别是内部核糖体进入位点或IRES,也称为CITE序列)。表达盒还可以包括其它特征,诸如复制起点,和/或染色体整合元件,诸如逆转录病毒长末端重复序列(LTR),或腺相关病毒(AAV)反向末端重复序列(ITR)。

[0158] 本公开的多核苷酸和核酸编码区可以与编码分泌肽或信号肽的附加编码区相关联,所述附加编码区指导由本公开的多核苷酸编码的多肽的分泌。例如,如果需要分泌工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽,则可以将编码信号序列的DNA置于编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的成熟氨基酸的核酸的上游。本领域普通技术人员知道,脊椎动物细胞分泌的多肽通常具有与多肽的N末端融合的信号肽,所述信号肽从翻译的多肽上被切割下来,产生分泌或“成熟”形式的多肽。例如,天然人IL2在多肽的N末端与20个氨基酸的信号序列一起翻译,所述信号序列随后被切掉,产生成熟的133个氨基酸的人IL2。在一些实施方案中,使用天然信号肽,例如IL2信号肽或免疫球蛋白重链或轻链信号肽,或该序列的功能衍生物,所述功能衍生物保留指导与其可操作地关联的多肽分泌的能力。

[0159] 在一些实施方案中,编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的多核苷酸还包括编码有利于纯化的序列(例如,组氨酸标签)或用于在编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的多核苷酸内或末端标记工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的DNA序列。

[0160] 在某些实施方案中,提供了包含一种或多种编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的多核苷酸的宿主细胞。在某些实施方案中,宿主细胞包含一种或多种编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合物的载体。宿主细胞可以是可用于产生工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的任何类型的细胞系统。此类细胞可用编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合物的特定表达载体转染或转导,并且可以生长大量含有载体的细胞以用于接种大规模发酵罐,以获得足够数量的编码工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合物用于临床应用。合适的宿主细胞包括原核微生物,诸如大肠杆菌(E. Coli),或各种真核细胞,或各种真核细胞,诸如中国仓鼠卵巢细胞(CHO)、昆虫细胞等。例如,可以在细菌中产生多肽,特别是在不需要糖基化时。表达后,可将多肽以可溶性级分从细菌细胞中分离出来,并可进一步纯化。除了原核生物之外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母是适合于编码抗体的载体的克隆性或表达宿主,包括其糖基化途径已被“人源化”从而导致产生具有部分或完全人糖基化模式的多肽的真菌和酵母菌株。用于表达(糖基化的)多肽的适合宿主细胞也源自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒株,其可以与昆虫细胞结合使用,特别是用于转染草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞。也可以利用植物细胞培养物作为宿主。参见,例如,美国专利第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号和第6,417,429号(其描述了用于在转基因植物中生产抗体的PLANTIBODIES™技术)。也可使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它实例是由SV40转化的猴肾CV1细胞系(COS-7);人胚胎肾系(如例如Graham等人,J Gen Virol 36,59(1977)中所述的293或293T细胞)、幼仓鼠肾细胞(BHK)、小鼠支持细胞(如,例如Mather,Biol Reprod 23,243-251(1980)中所述的TM4细胞)、猴肾细胞(CV1)、非洲绿猴肾细胞(VERO-76)、人宫颈癌细胞(HELA)、犬肾细胞(MDCK)、buffalo大鼠肝细胞(BRL 3A)、人肺细胞(W138)、人肝细胞(Hep G2)、小鼠乳腺肿瘤细胞(MMT060562)、TRI细胞(如,例如,Mather等人,Annals N.Y.Acad Sci 383,44-68(1982)中所描述的)、MRC 5细胞和FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括dhfr⁻CHO细胞(Urlaub等人,Proc Natl Acad Sci USA 77,4216(1980));和骨髓瘤细胞系诸如YO、NS0、P3X63和

Sp2/0。关于某些适于蛋白质产生的哺乳动物宿主细胞系的综述,参见,例如,Yazaki和Wu, *Methods in Molecular Biology*,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,Humana Press,Totowa,N.J.),第255-268页(2003)。宿主细胞包括培养细胞,例如,哺乳动物培养细胞、酵母细胞、昆虫细胞、细菌细胞和植物细胞,仅举几个实例,还包括转基因动物、转基因植物或培养的植物或动物组织内包含的细胞。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,优选哺乳动物细胞,诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、人胚胎肾(HEK)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0161] 本领域已知在这些系统中表达外源基因的标准技术。表达与抗原结合部分(诸如抗体)融合的重链或轻链的工程化的IL2多肽的细胞可以被工程化,从而也表达另一条抗体链,使得表达的工程化的IL2融合多肽包括具有重链和轻链的抗体。

[0162] 在一些实施方案中,提供了产生工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的方法。在一些实施方案中,所述方法包括在适合于表达工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的条件下,培养包含编码本文提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的多核苷酸的宿主细胞,以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基,例如,如果宿主细胞分泌多肽的话)中回收并且/或者纯化工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽。

[0163] 药物组合物

[0164] 本文提供了包含本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽和药学上可接受的一种或多种稀释剂、一种或多种赋形剂或一种或多种载剂的药物组合物。在一些实施方案中,药物组合物包含本文公开的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽和附加治疗剂(例如,组合法)。在本文中的下文中描述了此类治疗剂的非限制性实例。可以使用一种或多种药学上可接受的载剂以常规方式配制药物组合物,所述载剂包括赋形剂和助剂,所述赋形剂和助剂有利于将工程化的IL2或IL2融合多肽加工成可药用的制剂。适当的制剂取决于所选择的施用途径。任何药学上可接受的技术、载剂和赋形剂都适用于配制本文所述的药物组合物:Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*,第19版(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover,John E.,*Remington's Pharmaceutical Sciences*,Mack Publishing Co.,Easton,Pennsylvania 1975;Lieberman,H.A.和Lachman,L.,编辑,*Pharmaceutical Dosage Forms*,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980和*Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*,第7版(Lippincott Williams&Wilkins1999)。IL-2组合物的实例描述于美国专利第4,604,377号和第4,766,106号中,所述专利通过引用并入本文。

[0165] 如本文中所用,“药学上可接受的载剂”和“生理上可接受的载剂”可互换使用,并且包括任何和所有溶剂、缓冲剂、分散介质、包衣、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如抗菌剂、抗真菌剂)、等渗剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、抗氧化剂、蛋白质、药物、药物稳定剂、聚合物、凝胶、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、染料、此类类似材料及其组合,这对于本领域普通技术人员来说是所知,并且是分子实体和组合物,它们在所用的剂量和浓度下,通常对受者无毒,即,当适当时向动物例如人施用,不产生不良、过敏或其它不利反应(参见,例如,Remington's *Pharmaceutical Sciences*,第18版Mack Printing Company,1990,第1289-1329页,通过引用并入本文)。除了任何常规载剂与活性成分不相容的情况之外,其治疗或药物组合物中的应用也在考虑之列。

[0166] 药物组合物可以包含不同类型的载剂,这取决于其是以固体、液体还是以气溶胶

形式施用,以及对于注射等施用途是否需要无菌。本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽(和任何附加治疗剂)可通过以下途径施用:静脉内、皮内、动脉内、腹膜内、病灶内、颅内、关节内、前列腺内、脾内、肾内、胸膜内、气管内、鼻内、玻璃体内、阴道内、直肠内、瘤内、肌内、腹膜内、皮下、结膜下、脉管内、经粘膜、心包内、脐内、眼内、口服、局部、局部、通过吸入(例如,气溶胶吸入)、注射、输注、连续输注、通过导管、灌洗直接局部灌注浸浴靶细胞、在乳膏剂中、在脂质组合物(例如,脂质体)中或通过如本领域普通技术人员已知的其它方法或前述方法的任何组合(参见,例如Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,Mack Printing Company,1990,通过引用并入本文)。肠胃外施用,特别是静脉注射,最常用于施用多肽分子,诸如本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽。

[0167] 肠胃外组合物包括那些设计用于通过注射(例如,皮下、皮内、病灶内、静脉内、动脉内、肌内、硬膜内或腹膜内注射)施用的组合物。对于注射,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可以配制在水溶液中,优选配制在生理上相容的缓冲液诸如汉克氏溶液、林格氏溶液或生理盐水缓冲液中。所述溶液可以包含配制剂,诸如助悬剂、稳定剂和/或分散剂。或者,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可呈粉剂形式,用于在使用前用适当的媒介物(例如,无菌无热原水)复原。通过在适当的溶剂中以所需量掺入工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽与以下列举的各种其它成分(根据需要)来制备无菌注射溶液。例如,通过经由无菌过滤膜过滤来容易地实现灭菌。通常,通过将各种灭菌的活性成分掺入含有碱性分散介质和/或另外的成分的无菌媒介物来制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法包括真空干燥技术和冷冻干燥技术,所述技术产生活性成分外加来自其先前无菌过滤的液体培养基的任何附加的所需成分的粉末。如果需要,应当对液体培养基进行适当缓冲,并且在注射足够的盐水或葡萄糖之前,首先使液体稀释剂等渗。在制造和储存的条件下药物组合物优选是稳定的,并对所述药物组合物进行防腐处理以防诸如细菌和真菌的微生物的污染作用。应当理解,内毒素污染应保持在最低安全水平,例如低于0.5ng/mg蛋白质。合适的药学上可接受的载剂包括但不限于:缓冲剂诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;包括抗坏血酸和甲硫氨酸在内的抗氧化剂;防腐剂(诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六烃季铵;氯化苄甲烃铵;氯化苄乙氧铵;苯酚、丁醇或苄醇;诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯的对羟基苯甲酸烷基酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;及间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;诸如聚乙烯吡咯烷酮的亲水性聚合物;诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸的氨基酸;单糖、二糖及其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;诸如EDTA的螯合剂;诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇的糖类;诸如钠的成盐平衡离子;金属络合物(例如,Zn-蛋白络合物);和/或诸如聚乙二醇(PEG)的非离子表面活性剂。水性注射混悬剂可含有增加混悬剂粘度的物质,诸如羧甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖等。在一些实施方案中,混悬剂还可含有适合的稳定剂,或增加化合物的溶解度以便允许制备高度浓缩溶液的剂。另外,活性化合物的混悬剂可被制备为适当的油性注射混悬剂。合适的亲脂性溶剂或媒介物包括脂肪油(诸如芝麻油)或合成脂肪酸酯(诸如油酸乙酯或三酸甘油酯)或脂质体。

[0168] 在一些实施方案中,水性混悬剂包含一种或多种聚合物作为助悬剂。聚合物的实例包括水溶性聚合物,诸如纤维素聚合物,例如羟丙基甲基纤维素,和水不溶性聚合物,诸

如交联的含羧基聚合物。本文所述的某些药物组合物包含粘膜粘附聚合物,选自例如羧甲基纤维素、卡波姆(丙烯酸聚合物)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚丙烯酰胺、聚卡波非、丙烯酸/丙烯酸丁酯共聚物、海藻酸钠和葡聚糖。

[0169] 在一些实施方案中,药物组合物包含增溶剂以帮助工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的溶解性。术语“增溶剂”通常包括导致形成胶束溶液或剂的真溶液的剂。某些可接受的非离子表面活性剂,例如聚山梨醇酯80,可用作增溶剂。实例包括二醇、聚乙二醇,例如聚乙二醇400和乙二醇醚。

[0170] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种pH调节剂或缓冲剂,包括酸,诸如乙酸、硼酸、柠檬酸、乳酸、磷酸和盐酸;碱,诸如氢氧化钠、磷酸钠、硼酸钠、柠檬酸钠、乙酸钠、乳酸钠和三羟基甲基氨基甲烷;和缓冲剂,诸如柠檬酸盐/葡萄糖、碳酸氢钠和氯化铵。此类酸、碱和缓冲液的含量应使组合物的pH值保持在可接受的范围内。

[0171] 在一些实施方案中,药物组合物以使组合物的渗透压浓度达到可接受的范围所需的量包含一种或多种盐。此类盐包括具有钠、钾或铵阳离子以及氯化物、柠檬酸盐、抗坏血酸盐、硼酸盐、磷酸盐、碳酸氢盐、硫酸盐、硫代硫酸盐或亚硫酸氢盐阴离子的盐;合适的盐包括氯化钠、氯化钾、硫代硫酸钠、亚硫酸氢钠和硫酸铵。

[0172] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种防腐剂以抑制微生物活性。合适的防腐剂包括含汞物质,诸如硼酸苯汞和硫柳汞;稳定的二氧化氯;和季铵化合物,诸如苯扎氯铵、十六烷基三甲基溴化铵和西吡氯铵。

[0173] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种表面活性剂以增强物理稳定性或用于其它目的。合适的非离子表面活性剂包括聚氧乙烯脂肪酸甘油酯和植物油,例如,聚氧乙烯(60)氢化蓖麻油;以及聚氧乙烯烷基醚和烷基苯基醚,例如,辛苯昔醇10、辛苯昔醇40。

[0174] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种抗氧化剂以在需要时增强化学稳定性。合适的抗氧化剂包括,仅举例来说,抗坏血酸和焦亚硫酸钠。

[0175] 在某些实施方案中,水性混悬剂组合物被包装在单剂量不可再封闭的容器中。或者,使用多剂量可再封闭容器,在这种情况下,通常在组合物中包含防腐剂。

[0176] 在一些实施方案中,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽使用持续释放系统,诸如含有治疗剂的固体疏水聚合物的半透性基质递送。各种持续释放材料用于本文中。在一些实施方案中,缓释胶囊将工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽释放几周直至超过100天。根据治疗试剂的化学性质和生物稳定性,采用额外的蛋白质稳定策略。持续释放制剂的合适实例包括包含多肽的固体疏水性聚合物的半透性基质,所述基质呈成形制品例如膜或微胶囊的形式。在一些实施方案中,可注射组合物的延长吸收可通过在组合物中使用延迟吸收的剂,例如单硬脂酸铝、明胶或其组合来实现。

[0177] 在一些实施方案中,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可被包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊,例如,分别在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或粗滴乳状液中的羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中。此类技术公开于Remington's Pharmaceutical Sciences(第18版Mack Printing Company,1990)中。

[0178] 在一些实施方案中,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽也可被配制成贮库制剂。此类长效制剂可通过植入(例如皮下或肌内)或通过肌内注射来施用。因

此,例如,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可与合适的聚合或疏水材料(例如作为可接受的油中的乳液)或离子交换树脂一起配制,或作为微溶衍生物,例如作为微溶盐。

[0179] 包含本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的药物组合物可通过常规混合、溶解、乳化、包封、包埋或冻干方法制备。药物组合物可使用一种或多种生理上可接受的载剂、稀释剂、赋形剂或助剂以常规方式配制,所述载剂、稀释剂、赋形剂或助剂有助于将蛋白质加工成可药用的制剂。适当的制剂取决于所选择的施用途径。

[0180] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可被配制成呈游离酸或碱、中性或盐形式的组合物。药学上可接受的盐是基本上保持游离酸或碱的生物活性的盐。这些盐包括酸加成盐,例如与蛋白质性质组合物的游离氨基形成的盐,或与无机酸例如盐酸或磷酸形成的盐,或与有机酸诸如乙酸、草酸、酒石酸或扁桃酸形成的盐。用游离羧基形成的盐也可衍生自例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙或氢氧化铁的无机碱;或诸如异丙胺、三甲胺、组氨酸、普鲁卡因等的此类有机碱。药物盐往往比相应的游离碱形式更易溶于水性溶剂或其它质子溶剂。

[0181] 在一些实施方案中,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽被配制用于口服施用。在各种实施方案中,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽被配制成口服剂型,仅举例来说,包括片剂、粉剂、丸剂、锭剂、胶囊、液体、凝胶、糖浆、酏剂、浆料、混悬剂等。

[0182] 在某些实施方案中,通过将一种或多种固体赋形剂与一种或多种本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽混合,任选地研磨所得混合物,并在需要时在加入合适的助剂后加工颗粒混合物以获得片剂或糖衣丸芯来获得用于口服使用的药物制剂。合适的赋形剂特别是填充剂,诸如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇;纤维素制剂,诸如:例如,玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、微晶纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠;或其它填充剂,诸如:聚乙烯吡咯烷酮(PVP或聚维酮)或磷酸钙。在具体实施方案中,任选地加入崩解剂。仅作为实例,崩解剂包括交联的交联羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐诸如海藻酸钠。

[0183] 在一些实施方案中,提供具有一种或多种合适的包衣的剂型诸如糖衣丸芯和片剂。在具体实施方案中,浓缩糖溶液用于包被剂型。糖溶液任选地含有其它组分,诸如仅作为实例的阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波普凝胶、聚乙二醇和/或二氧化钛、漆溶液和合适的有机溶剂或溶剂混合物。出于识别目的,染料和/或色素也任选地被添加到包衣中。另外,染料和/或色素可选地用于表征活性剂剂量的不同组合。

[0184] 在某些实施方案中,将治疗有效量的本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽中的至少一种配制成其它口服剂型。口服剂型包括由明胶制成的推入适配胶囊(push-fit capsule),以及由明胶和增塑剂诸如甘油或山梨醇制成的软密封胶囊。在特定的实施方案中,推入适配胶囊包含与一种或多种填充剂混合的活性成分。填充剂包括乳糖、粘合剂诸如淀粉和/或润滑剂诸如滑石或硬脂酸镁,以及任选的稳定剂。在一些实施方案中,软胶囊包含一种或多种溶解或悬浮在合适液体中的活性剂。合适的液体可包括一种或多种脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇。此外,任选地加入稳定剂。

[0185] 在一些实施方案中,治疗有效量的本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽中的至少一种被配制用于口腔或舌下施用。适于口腔或舌下施用的制剂包括,仅举

例来说,片剂、锭剂或凝胶。

[0186] 在一些实施方案中,局部施用工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽。本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽被配制成各种可局部施用的组合物,诸如溶液、混悬剂、洗剂、凝胶、糊剂、药棒、香膏、乳膏或软膏。此类药物组合物任选含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0187] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽被配制用于透皮施用。在具体实施方案中,透皮制剂采用透皮给药装置和透皮递送贴剂,并且可以是溶解和/或分散在聚合物或粘合剂中的亲脂性乳剂或缓冲水溶液。在各种实施方案中,此类贴剂被构造用于药剂的连续、脉动或按需递送。在另外的实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的透皮递送通过离子电渗贴剂等方式完成。在某些实施方案中,透皮贴剂提供工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的受控递送。在具体实施方案中,通过使用速率控制膜或通过将工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽捕获在聚合物基质或凝胶中来减缓吸收速率。在替代实施方案中,吸收增强剂用于增加吸收。吸收增强剂或载剂包括有助于通过皮肤的可吸收的药学上可接受的溶剂。例如,在一个实施方案中,透皮装置呈绷带的形式,其包含背衬元件、含有工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽并任选地含有载剂的贮库、任选的以受控和预定的速率在延长的时间段内将工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽递送至宿主皮肤的速率控制屏障和将装置固定至皮肤的工具。

[0188] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽被配制成通过吸入施用。适于吸入施用的各种形式包括但不限于气雾剂、雾剂或粉剂。工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的药物组合物可方便地以气溶胶喷雾形式,使用合适的喷射剂(例如,二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它合适的气体)从加压包装或喷雾器中递送。在具体实施方案中,加压气溶胶的剂量单位可通过提供阀以递送计量的量来确定。在某些实施方案中,配制用于吸入器或吹入器的诸如(仅以举例的方式)明胶的胶囊和药筒,其包含工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的粉末混合物和合适的粉末基质,诸如乳糖或淀粉。

[0189] 在一些实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽被配制在诸如灌肠剂、直肠凝胶、直肠泡沫、直肠气溶胶、栓剂、果冻栓剂或保留灌肠剂等直肠组合物中,所述组合物包含诸如可可脂或其它甘油酯等常规栓剂基质,以及诸如聚乙烯吡咯烷酮、PEG等合成聚合物。在组合物的栓剂形式中,首先熔化低熔点蜡,诸如但不限于脂肪酸甘油酯任选地与可可脂组合的混合物。

[0190] 在某些实施方案中,本文所述的制剂包含一种或多种抗氧化剂、金属螯合剂、含硫醇化合物和/或其它通用稳定剂。此类稳定剂的实例包括但不限于:(a)约0.5%至约2%w/v甘油,(b)约0.1%至约1%w/v甲硫氨酸,(c)约0.1%至约2%w/v单硫代甘油,(d)约1mM至约10mM EDTA,(e)约0.01%至约2%w/v抗坏血酸,(f)0.003%至约0.02%w/v聚山梨醇酯80,(g)0.001%至约0.05%w/v聚山梨醇酯20,(h)精氨酸,(I)肝素,(j)硫酸葡聚糖,(k)环糊精,(l)戊聚糖多硫酸酯和其它类肝素,(m)诸如镁和锌等二价阳离子;或(n)其组合。

[0191] 在一些实施方案中,在本公开的药物组合物中提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的浓度低于100%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、

1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.09%、0.08%、0.07%、0.06%、0.05%、0.04%、0.03%、0.02%、0.01%、0.009%、0.008%、0.007%、0.006%、0.005%、0.004%、0.003%、0.002%、0.001%、0.0009%、0.0008%、0.0007%、0.0006%、0.0005%、0.0004%、0.0003%、0.0002%或0.0001%w/w、w/v或v/v。

[0192] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的浓度高于90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、19.75%、19.50%、19.25%19%、18.75%、18.50%、18.25%18%、17.75%、17.50%、17.25%17%、16.75%、16.50%、16.25%16%、15.75%、15.50%、15.25%15%、14.75%、14.50%、14.25%14%、13.75%、13.50%、13.25%13%、12.75%、12.50%、12.25%12%、11.75%、11.50%、11.25%11%、10.75%、10.50%、10.25%10%、9.75%、9.50%、9.25%9%、8.75%、8.50%、8.25%8%、7.75%、7.50%、7.25%7%、6.75%、6.50%、6.25%6%、5.75%、5.50%、5.25%5%、4.75%、4.50%、4.25%、4%、3.75%、3.50%、3.25%、3%、2.75%、2.50%、2.25%、2%、1.75%、1.50%、1.25%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.09%、0.08%、0.07%、0.06%、0.05%、0.04%、0.03%、0.02%、0.01%、0.009%、0.008%、0.007%、0.006%、0.005%、0.004%、0.003%、0.002%、0.001%、0.0009%、0.0008%、0.0007%、0.0006%、0.0005%、0.0004%、0.0003%、0.0002%或0.0001%w/w、w/v或v/v。

[0193] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的浓度在约0.0001%至约50%、约0.001%至约40%、约0.01%至约30%、约0.02%至约29%、约0.03%至约28%、约0.04%至约27%、约0.05%至约26%、约0.06%至约25%、约0.07%至约24%、约0.08%至约23%、约0.09%至约22%、约0.1%至约21%、约0.2%至约20%、约0.3%至约19%、约0.4%至约18%、约0.5%至约17%、约0.6%至约16%、约0.7%至约15%、约0.8%至约14%、约0.9%至约12%、约1%至约10%w/w、w/v或v/v的范围内。

[0194] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的浓度在约0.001%至约10%、约0.01%至约5%、约0.02%至约4.5%、约0.03%至约4%、约0.04%至约3.5%、约0.05%至约3%、约0.06%至约2.5%、约0.07%至约2%、约0.08%至约1.5%、约0.09%至约1%、约0.1%至约0.9%w/w、w/v或v/v的范围内。

[0195] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的量等于或少于10g、9.5g、9.0g、8.5g、8.0g、7.5g、7.0g、6.5g、6.0g、5.5g、5.0g、4.5g、4.0g、3.5g、3.0g、2.5g、2.0g、1.5g、1.0g、0.95g、0.9g、0.85g、0.8g、0.75g、0.7g、0.65g、0.6g、0.55g、0.5g、0.45g、0.4g、0.35g、0.3g、0.25g、0.2g、0.15g、0.1g、0.09g、0.08g、0.07g、0.06g、0.05g、0.04g、0.03g、0.02g、0.01g、0.009g、0.008g、0.007g、0.006g、0.005g、0.004g、0.003g、0.002g、0.001g、0.0009g、0.0008g、0.0007g、0.0006g、0.0005g、0.0004g、0.0003g、0.0002g或0.0001g。

[0196] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的量大于0.0001g、0.0002g、0.0003g、0.0004g、0.0005g、0.0006g、0.0007g、0.0008g、0.0009g、0.001g、0.0015g、0.002g、0.0025g、0.003g、0.0035g、0.004g、0.0045g、0.005g、0.0055g、0.006g、0.0065g、0.007g、0.0075g、0.008g、0.0085g、0.009g、0.0095g、

0.01g、0.015g、0.02g、0.025g、0.03g、0.035g、0.04g、0.045g、0.05g、0.055g、0.06g、0.065g、0.07g、0.075g、0.08g、0.085g、0.09g、0.095g、0.1g、0.15g、0.2g、0.25g、0.3g、0.35g、0.4g、0.45g、0.5g、0.55g、0.6g、0.65g、0.7g、0.75g、0.8g、0.85g、0.9g、0.95g、1g、1.5g、2g、2.5g、3g、3.5g、4g、4.5g、5g、5.5g、6g、6.5g、7g、7.5g、8g、8.5g、9g、9.5g或10g。

[0197] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中提供的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的量在0.0001g至10g、0.0005g至9g、0.001g至8g、0.005g至7g、0.01g至6g、0.05g至5g、0.1g至4g、0.5g至4g或1g至3g的范围内。

[0198] 治疗和使用的方法

[0199] 在本公开的一些实施方案中,本文提供了调节有需要的受试者的免疫反应的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的如本文前述的工程化的IL2多肽、工程化的IL2融合多肽或其药物组合物。在某些实施方案中,调节免疫反应包括以下至少一种:增强效应T细胞活性、增强NK细胞活性和抑制调节性T细胞活性。在本公开的一些实施方案中,本文提供了如前所述的工程化的IL2多肽、如前所述的融合多肽和/或如前所述的药物组合物,其用于调节有需要的受试者的免疫反应的方法。在一些实施方案中,调节免疫反应包括与WT IL2相比,增加STAT5的磷酸化。

[0200] 在本公开的一些实施方案中,所述实施方案是治疗有需要的受试者的疾病或疾患的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的如本文中前述的工程化的IL2多肽、工程化的IL2融合多肽或其药物组合物。在本公开的一些实施方案中,本文提供了如前所述的工程化的IL2多肽、如前所述的融合多肽和/或如前所述的药物组合物,其用于治疗受试者疾病的方法。所述方法中设想的疾病或疾患的非限制性实例包括增殖性病症(诸如癌症)和免疫抑制。

[0201] 在一些实施方案中,所述实施方案是治疗增殖性病症的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的如本文中前述的工程化的IL2多肽、工程化的IL2融合多肽或其药物组合物。在某些实施方案中,增殖性病症是癌症。癌症的非限制性实例包括膀胱癌、脑癌、头颈癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌、宫颈癌、子宫内膜癌、食道癌、结肠癌、结直肠癌、直肠癌、胃癌、胶质母细胞瘤、前列腺癌、血癌、皮肤癌、鳞状细胞癌、皮肤癌、黑色素瘤、骨癌、肾细胞癌和肾癌。还包括癌前状态或病变和癌症转移。其它细胞增殖性病症包括但不限于位于以下部位的肿瘤:腹部、骨骼、乳腺、消化系统、肝脏、胰腺、腹膜、内分泌腺(肾上腺、甲状旁腺、垂体、睾丸、卵巢、胸腺、甲状腺)、眼、头颈部、神经系统(中枢和外周)、淋巴系统、骨盆、皮肤、软组织、脾脏、胸部区域和泌尿生殖系统。类似地,还可治疗其它细胞增殖性病症诸如高丙种球蛋白血症、淋巴增殖性病症、副蛋白血症、紫癜、结节病、塞扎里综合征、瓦尔登斯特朗巨球蛋白血症(Waldenström's Macroglobulinemia)、戈谢病、组织细胞增多症以及除了瘤形成以外的位于上述器官系统中的任何其它细胞增殖性疾病。

[0202] 在一些实施方案中,治疗或调节免疫反应的方法还包括向受试者施用治疗有效量的至少一种附加治疗剂(例如,组合疗法)。在某些实施方案中,附加治疗剂是抗癌剂。抗癌剂的实例包括检查点抑制剂(例如,抗PD1抗体)、化学治疗剂、抑制肿瘤微环境的剂、癌症疫苗(例如,Sipuleucel-T)、溶瘤病毒(例如,拉他莫基)、表达嵌合抗原受体的免疫细胞和肿瘤浸润淋巴细胞。在某些实施方案中,另外的治疗剂是包括抗原结合部分在内的分子。在某些具体实施方案中,抗原结合部分选自单结构域抗体、Fab分子、scFv、双抗体、纳米抗体、双

特异性T细胞接合物或免疫球蛋白。在某些实施方案中,抗原结合部分对肿瘤抗原(例如,癌胚抗原、成纤维细胞活化蛋白- α 、CD20)或检查点蛋白(例如,CTLA-4、PD-1或PD-L1)是特异性的。在一些实施方案中,附加治疗剂包括表达嵌合抗原受体的免疫细胞、表达工程化的T细胞受体的免疫细胞或肿瘤浸润性淋巴细胞。在某些实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽可由被转染、转导或以其它方式引入表达嵌合抗原受体的免疫细胞、表达工程化的T细胞受体的免疫细胞或肿瘤浸润性淋巴细胞中的多核苷酸编码。在此类实施方案中,免疫细胞可以是表达装甲嵌合抗原受体的细胞(armored chimeric antigen receptor-expressing cell)。多核苷酸还可在工程化的IL2多肽编码序列的直接上游编码分泌信号(例如,天然IL2信号序列或来源于另一种蛋白质的信号序列),以允许细胞分泌工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽。

[0203] 在一些实施方案中,治疗或调节免疫反应的方法包括向受试者施用工程化的IL2多肽,该多肽具有SEQ ID NO:1的IL2R β 结合区2。在某些实施方案中,治疗或调节免疫反应的方法包括向受试者施用工程化的IL2多肽,该多肽具有SEQ ID NO:2-21中的任一个的IL2R β 结合区2。在某些实施方案中,该方法包括向受试者施用SEQ ID NO:23-42中的任一个、SEQ ID NO:44-63中的任一个、SEQ ID NO:147-170中的任一个的工程化的IL2多肽(任选包含C端组氨酸标签),或SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:144或SEQ ID NO:145的Fc融合多肽。在某些实施方案中,治疗或调节免疫反应的方法包括向受试者施用SEQ ID NO:22的或SEQ ID NO:23-42中的任一个的工程化的IL2多肽。在某些实施方案中,治疗或调节免疫反应的方法包括向受试者施用SEQ ID NO:51的工程化的IL2融合多肽。在某些实施方案中,治疗或调节免疫反应的方法包括向受试者施用SEQ ID NO:43的或SEQ ID NO:44-63中的任一个的工程化的IL2融合多肽。

[0204] 合适的施用途径包括但不限于静脉内、肠胃外、透皮、口服、经直肠、气溶胶、经眼、经肺、经粘膜、经阴道、经耳、经鼻和局部施用。另外,仅举例来说,肠胃外递送包括肌内、皮下、静脉内、髓内注射,以及硬膜内、直接脑室内、腹膜内、淋巴管内和鼻内注射。

[0205] 在某些实施方案中,全身施用工程化的IL2多肽或IL2融合多肽。在某些实施方案中,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽以局部而非全身方式,例如通过将工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽直接注射到器官、组织或肿瘤中来施用。在一些实施方案中,长效制剂通过植入(例如皮下或肌内)或通过肌内注射施用。此外,在一些实施方案中,将药物在靶向药物递送系统中递送,例如在包被有器官特异性或细胞特异性抗体的脂质体中施用。在此类实施方案中,脂质体被靶向器官并被器官选择性吸收。在一些实施方案中,本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽以快速释放制剂的形式、延长或持续释放制剂的形式、以中间释放制剂的形式或以贮库制剂的形式提供。在一些实施方案中,局部施用本文所述的工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽。

[0206] 工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽(单独的使用或与一种或多种其它附加治疗剂组合使用的)的适当剂量将取决于疾病或疾患的类型、施用途径、受试者的体重、疾病的严重程度和进展、多肽是出于预防还是治疗目的施用、先前或同时进行治疗干预、受试者的临床病史和对工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的反应以及主治医师的判断。负责施用的医生将能够确定组合物中一种或多种活性成分的浓度和用于待治疗受试者的适当给药。本文设想了包括但不限于在不同时间点单次或多次施用、推注施用和脉冲输

注的各种给药方案。

[0207] 工程化的IL2多肽的单次施用范围可以是约50,000IU/kg至约1,000,000IU/kg或更多的工程化的IL2多肽。这可以一天重复数次(例如,每天2-4次),持续数天(例如,连续3-5天),然后可以在休息一段时间(例如,7-14天)后重复一次或多次。因此,治疗有效量可以包括在一段时间内仅一次施用或多次施用(例如,在约5-20天内约10至30次单次施用,每次给予约600,000IU/kg的IL2)。当以融合多肽的形式施用时,工程化的IL2融合多肽的治疗有效量可以低于非融合工程化的IL2多肽(例如,10,000IU/kg至约600,000IU/kg)。类似地,如上所述,可将工程化的IL2融合多肽一次或通过一系列治疗向患者施用。

[0208] 在某些实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的日剂量范围为约1 μ g/kg至约100mg/kg或更高。对于数天或更长时间内的重复施用(这取决于疾患),将通常维持治疗直至疾病症状发生所需的抑制(例如,肿瘤皱缩)。在一些实施方案中,工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽的单剂量在约0.005mg/kg至约10mg/kg的范围内。在一些实施例中,剂量可以是每次施用约1 μ g/kg/体重、约5 μ g/kg/体重、约10 μ g/kg/体重、约50 μ g/kg/体重、约100 μ g/kg/体重、约200 μ g/kg/体重、约350 μ g/kg/体重、约500 μ g/kg/体重、约1mg/kg/体重、约5mg/kg/体重、约10mg/kg/体重、约50mg/kg/体重、约100mg/kg/体重、约200mg/kg/体重、约350mg/kg/体重、约500mg/kg/体重至约1000mg/kg/体重,以及可从其中导出的任何范围。在可从本文所列数字导出的范围的非限制性实例中,可基于上述数字,施用约5mg/kg/体重至约100mg/kg/体重、约5微克/kg/体重至约500mg/kg/体重等的范围。此类剂量可以间歇施用,例如每天2-3次、每周一次或每三周一次。可以施用初始较高的负荷剂量,然后施用一个或多个较低的剂量。然而,也可以使用其它给药方案。

[0209] 本文所述的工程化的IL2多肽和工程化的IL2融合多肽可以以有效实现预期目的的量使用。为了用于治疗或预防疾病状况,以治疗有效量施用工程化的IL2多肽或工程化的IL2融合多肽或其药物组合物。治疗有效量的确定,尤其是根据本文提供的细节的确定,在本领域技术人员的能力范围内。

[0210] 对于全身性施用,治疗有效量最初可以从体外测定诸如细胞培养测定中来估计。然后可在动物模型中配制剂量来实现包括如在细胞培养中测定的IC₅₀的循环血浆浓度范围。这样的信息可用于更准确地测定人中的有用剂量。还可使用本领域公知的技术,从体内数据(例如,动物模型)估计初始剂量。基于动物数据,本领域普通技术人员可以容易地优化向人的施用。剂量量和间隔可各自被调节,以提供足以维持治疗效果的工程化的IL2多肽和工程化的IL2融合多肽的血浆水平。血浆中的水平可以例如通过HPLC来测量。

[0211] 实施例

[0212] 实施例1

[0213] 鉴定IL2R α 减少的结合突变的文库策略

[0214] 基于IL2与IL2R α 相互作用的结构建模,合理设计了用于鉴定IL2R α 减少的结合剂的IL2突变文库(图1A及图1B)。简言之,IL2的K35、R38、F42和Y45残基被鉴定为与IL2R α 相互作用的重要残基(图1C)。在这些残基上携带两个、三个和四个随机突变的诱变寡核苷酸用于构建文库(表1)。

[0215] 表1. 合理设计的IL2R α 减少的诱变文库

[0216]

文库 1	两氨基酸诱 变	K35	R38	F42	Y45
		NNS	NNS	F	Y
		NNS	R	NNS	Y
		NNS	R	F	NNS
		K	NNS	NNS	Y
		K	NNS	F	NNS
文库 2	三氨基酸诱 变	K	R	NNS	NNS
		NNS	NNS	NNS	Y
		NNS	R	NNS	NNS
文库 3	四氨基酸混 合比诱变	K	NNS	NNS	NNS
		K50%/NNS50%	R50%/NNS50%	A50%/NNS50%	Y50%/NNS50%
		K70%/NNS30%	R70%/NNS30%	F70%/NNS30%	Y70%/NNS30%

[0217]

表2. 用于IL-2R α -减少的结合文库的诱变寡核苷酸设计

[0218]

寡核苷 酸编号	序列	SEQ ID NO:
1	aac tac aag aac ccc NNS ctg acc NNS atg ctg acc ttc aag ttc tac atg cct aag aag gcc acc	171
2	aac tac aag aac ccc NNS ctg acc cgg atg ctg acc NNS aag ttc tac atg cct aag aag gcc acc	172

[0219]	3	aac tac aag aac ccc NNS ctg acc cgg atg ctg acc ttc aag ttc NNS atg cct aag aag gcc acc	173
	4	aac tac aag aac ccc aag ctg acc NNS atg ctg acc NNS aag ttc tac atg cct aag aag gcc acc	174
	5	aac tac aag aac ccc aag ctg acc NNS atg ctg acc ttc aag ttc NNS atg cct aag aag gcc acc	175
	6	aac tac aag aac ccc aag ctg acc cgg atg ctg acc NNS aag ttc NNS atg cct aag aag gcc acc	176
	7	aac tac aag aac ccc NNS ctg acc NNS atg ctg acc NNS aag ttc tac atg cct aag aag gcc acc	177
	8	aac tac aag aac ccc NNS ctg acc cgg atg ctg acc NNS aag ttc NNS atg cct aag aag gcc acc	178
	9	aac tac aag aac ccc aag ctg acc NNS atg ctg acc NNS aag ttc NNS atg cct aag aag gcc acc	179
	10	aac tac aag aac ccc AAG ctg acc CGG atg ctg acc GCC aag ttc TAC atg cct aag aag gcc acc	180
	11	aac tac aag aac ccc AAG ctg acc CGG atg ctg acc GCC aag ttc TAC atg cct aag aag gcc acc	181

[0220] 大写的核苷酸三聚体以50%WT和50%NNS,或70%WT和30%NNS混合,其中“N”指任何核苷酸,“S”指G或C。通过以WT IL2序列作为模板对上述诱变寡聚物进行多步PCR和重叠PCR,构建了三个文库。文库1包括诱变寡核苷酸1-6,文库2包括诱变寡核苷酸7-9,文库3包括诱变寡核苷酸10-11(表2)。这些诱变文库已被进一步修饰,以在N末端处具有体外转录和翻译信号。为了选择和纯化的目的,flag-标签序列也被添加到C末端。

[0221] 实施例2

[0222] IL2R α 减少的结合克隆的选择和鉴定

[0223] 使用mRNA展示技术从三个IL2诱变文库中选择具有IL2R α 减少的结合的IL2突变体。简言之,首先将DNA文库转录成mRNA文库,然后通过嘌呤霉素接头共价偶联将其翻译成mRNA-IL2突变体融合文库。将文库纯化并转化为mRNA/cDNA融合文库。用人和小鼠IgG(阴性蛋白)反向选择融合文库以除去非特异性结合剂,然后针对IL2R α 反向选择三次。收集文库流过物(flow through)(未结合的分子),并进行PCR以回收IL2R α 未结合的分子,然后进行凝胶纯化。将回收的混合物克隆到pET22b载体中,并在大肠杆菌Rosetta II链中表达。在IL2R α 结合ELISA中测试单个克隆的上清液。图2A示出了所选IL2克隆的上清液对IL2R α 的ELISA结果。图2B示出了针对与上清液结合的IL2R α 绘制的克隆表达。图3示出了用IL2R α 减少的结合鉴定的克隆的序列比对。

[0224] 实施例3

[0225] IL2Rα减少的结合克隆的结合动力学分析

[0226] IL2Rα减少的结合克隆与IL2Rα的结合动力学使用SPR技术,利用Biacore T200软件版本2.0进行评估。对于每个循环,在蛋白质A传感器芯片上于1X HBSP缓冲液中,在流动池2上以10uL/min的流速捕获1ug/mL的人IL2Rα,持续60秒。将100nM的每种HIS和Flag标签纯化的IL2突变体以30uL/min的流速注射到参考流动池1和IL2Rα捕获流动池2上,持续150秒,然后洗涤300秒。然后用甘氨酸pH 2.0以30uL/min的流速再生流动池60秒。对于每个样品都包含HBSP+缓冲液作为基线对照。以96孔的形式设置了所述测定。动力学数据用Biacore T200评估软件3.0进行了分析。特异性结合反应单位是通过从IL2Rα流动池2中减去与参考流动池1的结合并减去缓冲液对照而获得的。将WT IL2包括作为对照。测定每个IL2Rα减少的结合克隆的相对反应(RU) (图4,表3)。

[0227] 表3. IL2Rα减少的结合克隆的结合动力学分析

[0228]	克隆	循环数	RU (在 100 nM 下)	与 WT IL2 的相关结合
--------	----	-----	-----------------	----------------

[0229]

			(%)
缓冲液	3	-0.1	0
WT IL2	44	142	100
EP001	50	2.2	1.55
EP003	52	40.8	28.73
EP101	4	2.5	1.76
EP120	6	3.6	2.54
EP121	8	3.4	2.39
EP125	10	6.1	4.29
EP119	12	2.7	1.9
EP115	14	2.4	1.69
EP126	16	2.6	1.83
EP117	18	2.5	1.76
EP122	20	2.5	1.76
EP108	22	2.4	1.69
EP100	24	1.7	1.19
EP110	26	2.6	1.83
EP105	28	2.1	1.48
EP113	30	2.6	1.83
EP123	32	5.3	3.73
EP111	34	2.8	1.97
EP104	36	2.8	1.97
EP103	38	2.9	2.04
EP112	40	2.9	2.04
EP102	42	2.7	1.9
EP225	46	7.4	5.21
EP226	48	3	2.11

[0230] 实施例4

[0231] 产生IL2R β 激动剂的文库策略

[0232] 工程化的IL2R β 结合激动剂通过理性IL2诱变文库设计产生,随后通过mRNA展示技术平台进行选择。简言之,通过结构分析,鉴定了IL2R β 的两个WT IL2结合区:IL2R β 结合区1“QLQLEHLLLDLQM”(SEQ ID NO:67)和IL2R β 结合区2“RPRDLISNINVIVLE”(SEQ ID NO:68)。为了产生包括针对IL2R β 结合区1、IL2R β 结合区2或IL2R β 结合区1和IL2R β 结合区2的突变的诱变文库,设计了编码这两个区域的序列的两个诱变寡核苷酸(寡核苷酸1、寡核苷酸2)(表4)。对于寡核苷酸1和寡核苷酸2序列,具有以小写字母显示的核苷酸的每个密码子三聚体是50%WT和50%NNS的混合物(其中“N”指任何核苷酸,“S”指G或C)。编码WT IL2序列的其它寡核苷酸(寡核苷酸3至寡核苷酸12)是从用于诱变文库组装的WT区域设计的(表4)。使用这些寡核苷酸构建了三个诱变文库(图5)。使用利用诱变寡核苷酸1和寡核苷酸3-12的重叠PCR策略构建了文库4。使用利用诱变寡核苷酸2和寡核苷酸3-9、11和12的重叠PCR策略构建了文库5。使用利用诱变寡核苷酸1和2以及寡核苷酸3-8、11和12的重叠PCR策略构建了文库

6。这三个诱变文库被进一步修饰,使其在N末端具有体外转录和翻译信号,并在C末端具有Flag-标签,以便用mRNA展示进行选择。

[0233] 表4.用于IL-2R β 激动剂文库的诱变寡核苷酸设计

寡核苷酸编号	序列	SEQ ID NO:
1	AGT TCT ACA AAG AAA ACA cag cta caa ctg gag cat tta ctg ctg gat tta cag atg ATT TTG AAT GGA ATT AAT	69
2	AGC AAA AAC TTT CAC TTA aga ccc agg gac tta atc agc aat atc aac gta ata gtt ctg gaa CTA AAG GGA TCT GAA ACA	70
3	AATTACTATTTACAATTACAATGGCTAGC GCACCTACTTC AAGTTCTACAAAGAAAACA	71
4	CTTGGGCATGTAAACTTAAATGTGAGC ATCCTGGTGAG TTTGGGATTCTTGTAATTATTAATTCCATT CAAAAT	72
5	AAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACA GAACTGAAACAT CTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAA CCTC	73
6	TAAGTGAAAGTTTTTGCTTTGAGCTAAA TTTAGCACTTCC TCCAGAGGTTTGA	74

寡核苷酸编号	序列	SEQ ID NO:
	GTTCTTC	
7	CTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGT GTGAATATGCT GATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTC TGAACAGA	75
8	AGATGGTGCAGCCACAGTTCGAGTCAG TGTTGAGATGAT GCTTTGACAAAAGGTAATCCATCTGTTC AGAAATTCTAC	76
9	AGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAA CTGGAGCATTTA CTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGG AATTAAT	77
10	AGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGG GACTTAATCAG CAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTA AAGGGATCTGAAACA	78
11	AAGTTTTACATGCCCAAG	79
12	TAAGTGAAAGTTTTTGC	80

[0236] 实施例5

[0237] IL2R β 激动剂克隆的选择和鉴定

[0238] mRNA展示技术平台被用于从三个IL2诱变文库鉴定IL2R β 激动剂。首先将DNA文库转录成mRNA文库,然后通过嘌呤霉素通过接头通过共价偶联将其翻译成mRNA-IL2突变体融合文库。然后将文库纯化并转化为mRNA/cDNA融合文库(参见,例如,美国专利第6,258,558号,据此通过引用并入)。首先用人IgG(阴性蛋白)对融合文库进行反向选择以去除非特异性结合物,然后进行反向选择以去除IL2R α 结合剂,随后针对捕获在蛋白G磁珠上的重组IL2R β /Fc蛋白进行选择。回收IL2R β 结合剂并通过PCR扩增进行富集。总共进行了五轮选择来产生与IL2R β 结合的高度富集的工程化的IL2突变体。

[0239] 经五轮选择后,将富集的文库克隆到细菌周质表达载体pET22b中,并将其转化到TOP10感受态大肠杆菌细胞中。每种工程化的IL2分子被工程化为具有C末端flag标签和6xHIS标签以用于纯化和测定检测。汇集来自TOP10细胞的克隆,制备miniprep DNA,随后将其转化到大肠杆菌Rosetta II菌株中进行表达。挑选、生长单个克隆,并用0.25mM IPTG在96孔平板中诱导表达。在30℃下诱导16至24小时后收集上清液,用于鉴定结合剂的测定。

[0240] 用夹心ELISA测定评估含有工程化的IL2突变体的上清液以筛选表达。简言之,将抗HIS标签抗体(R&D Systems)在每孔50 μ L的总体积中以2 μ g/mL的于1X PBS的终浓度固定在96孔平板中。将平板在4℃孵育过夜,然后用每孔200 μ L的superblock封闭1小时。向每个孔中加入100 μ L的1:10 1X PBST稀释的上清液,并振荡孵育1小时。通过加入50 μ L的以1:

5000在1X PBST中稀释的抗Flag HRP进行1小时来检测工程化的IL2突变体的表达水平。在每个步骤之间,使用洗板机用1X PBST洗涤平板三次。然后用50 μ L TMB底物对平板显影5分钟,并通过加入50 μ L 2N硫酸停止显影。使用Biotek平板读取器在OD_{450 nm}处读取平板,并用Prism 8.1软件分析数据。

[0241] 接下来筛选了单个克隆的IL2R β 结合。IL2R β 结合筛选ELISA被开发用来鉴定单个工程化的IL2突变体。简言之,分别以2 μ g/mL的于1X PBS中的终浓度用总体积为每孔50 μ L的人Fc和人IL2R β 固定96孔平板。将平板在4 $^{\circ}$ C孵育过夜,然后用每孔200 μ L的superblock封闭1小时。将100 μ L上清液加入到Fc和IL2R β 固定的孔中,并振荡孵育1小时。通过加入50 μ L的以1:5000于1X PBST中稀释的抗Flag HRP来检测工程化的IL2突变体结合。在每一步之间,在洗板机中用1X PBST洗涤平板三次。然后用50 μ L TMB底物对平板显影5分钟,并通过加入50 μ L 2N硫酸停止显影。使用Biotek平板读数器在OD_{450 nm}处读取平板,并分析结合和选择性。用Prism8.1软件绘制表达与IL2R β 结合的相关性。

[0242] 从文库5中鉴定出高IL2R β 结合克隆(显示在垂直OD_{450 nm}截止线的右侧),以进一步表征为工程化的IL2R β 激动剂(图6)。克隆的IL2R β 结合活性通常与克隆的表达水平相关。与IL2 WT相比,IL2R β 结合区2的多重序列比对揭示了高度保守和高度变化的氨基酸,以及独立鉴定多次的克隆序列(图7)。从文库4和6中没有鉴定出特异性IL2R β 结合克隆。

[0243] 实施例6

[0244] IL2R β 激动剂克隆在大肠杆菌和哺乳动物细胞中的产生

[0245] 为了在大肠杆菌中产生IL2R β 激动剂,将每个工程化的激动剂克隆的甘油原液接种到TB培养基中进行过夜生长。第二天,将来自过夜培养物的细胞接种到TB培养基中,并生长至OD₆₀₀为0.6至0.8的细胞密度。加入IPTG直至终浓度为1mM,以在30 $^{\circ}$ C过夜培养期间诱导表达。通过离心收集上清液。根据制造商的方案,通过Ni-Sepharose (GE Healthcare)亲和柱纯化工程化的激动剂。工程化的激动剂的纯度通过Flag-标签亲和柱纯化(Sigma)来进一步提高。将每种激动剂浓缩并装载到AKTA中的Sephadex 200Increase 10/300GL柱中,用于尺寸排阻色谱柱纯化。将激动剂的高度均一的单体峰级分各自汇集并浓缩。根据标准方案,使用内毒素去除树脂(Pierce)进一步去除内毒素。最终的内毒素水平低于10EU/mg。通过LC-MS光谱分析和SDS凝胶证实了蛋白质纯度(图8)。将蛋白质各自储存在1X PBS缓冲液中,用于结合和功能分析。

[0246] 为了在哺乳动物细胞中产生IL2R β 激动剂,对对应于氨基酸序列的DNA序列进行了密码子优化、合成所述DNA序列并将其亚克隆到pCDNA3.4 (Invitrogen)中。根据标准方案,将每个工程化的IL2多肽在游离型系统(Invitrogen)中的ExpiHEK293-F细胞中进行了瞬时表达。将细胞在上述条件下生长了七天,然后进行收获。通过离心收集上清液,并通过0.2 μ m PES膜进行了过滤。激动剂首先通过Ni Sepharose Excel树脂柱(GE Healthcare)纯化,然后用7k Da Zeba柱将缓冲液交换成PBS pH 7.4+300mM NaCl(总计)中。然后将每种多肽浓缩至1mL,通过Superdex 200Increase 10/300GL柱(GE Healthcare)纯化至均一。将单体峰级分汇集并浓缩。最终纯化的蛋白质含有少于10EU/mg的内毒素。通过LC-MS光谱分析确认IL2多肽身份,并通过SDS凝胶电泳分析纯度。将蛋白质在1X PBS/300nM NaCl缓冲液中储存,用于结合、功能和机制分析。

[0247] 实施例7

[0248] 使用表面等离子体共振对IL2R β 激动剂克隆进行结合动力学分析

[0249] 大肠杆菌产生的WT IL2和EP001-EP007的结合动力学利用用于大肠杆菌细胞中产生的工程化的IL2多肽和哺乳动物细胞中产生的工程化的IL2多肽的Biacore T200,通过表面等离子体共振技术进行评估。使用Biacore T200控制软件2.0版运行测定。对于每个循环,在蛋白质A传感器芯片上于1X HBST缓冲液中,在流动池2上以10 μ L/min的流速捕获1 μ g/mL的人IL2R β 或IL2R α ,持续60秒。将二倍系列稀释的HIS标签纯化的工程化的IL2突变体以30 μ L/min的流速注射到参考流动池1和IL2R β 或IL2R α 捕获流动池2上持续150秒,然后洗涤300秒。然后用甘氨酸pH 2以30 μ L/min的流速再生流动池持续40秒。对于每个IL2R β 激动剂克隆96孔平板形式,测定从0nM至100nM的8个浓度点。动力学数据用Biacore T200评估软件3000进行分析。特异性结合反应单位是从靶流动池2减去与参考流动池1的结合而得到的。

[0250] WT IL2用于验证结合方案,并作为对照包含在每次运行中(图9A及图9B)。显示了大肠杆菌和哺乳动物产生的IL2R β 激动剂与IL2R α (图10A至图10H针对大肠杆菌产生的,图12A至图12D针对哺乳动物产生的)和IL2R β (图11A至图11H针对大肠杆菌产生的,图13A至图13D针对哺乳动物产生的)结合的结合动力学的代表性传感图。概述了大肠杆菌产生的IL2(表5)和哺乳动物产生的IL2(表6)的结合动力学。

[0251] IL2R β 激动剂EP001、EP006和EP007未显示出可检测的IL2R α 结合或IL2R α 结合的显著减少(大于20倍的减少),但与WT IL2相比,IL2R β 结合显著增加(表5,表6)。相反地,与野生型IL2相比,IL2R β 激动剂EP002、EP003、EP004和EP005并未显示IL2R α 结合的显著减少(小于20倍的减少),但与WT IL2相比,IL2R β 结合显著增加(表5,表6)。

[0252] 表5. 大肠杆菌产生的IL2R β 激动剂克隆的IL2R结合动力学概述

克隆	IL2 α	IL2R β			相对活性	
	KD* (M)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)	KD (M)	IL2R α (KD: 倍数)	IL2R β (KD: 倍数)
WT IL2	9.51E-09	5.83E+04	0.253	4.34E-06	-	-
[0253] EP001	ND	3.26E+06	0.003646	1.12E-09	NA	3888
EP002	1.01E-07	1.15E+06	0.002734	2.37E-09	-10.6	1834
EP003	2.14E-08	2.18E+06	2.70E-04	1.23E-10	-2.3	35194
EP004	4.05E-08	3.05E+06	0.001892	6.20E-10	-4.3	7007
EP005	1.26E-08	6.10E+06	0.005397	8.85E-10	-1.3	4909
EP006	4.81E-07	8.19E+05	0.002541	3.10E-09	-50.6	1399
EP007	ND	7.09E+05	2.63E-04	3.70E-10	NA	11728

[0254] 表6. 哺乳动物产生的IL2R β 激动剂克隆的IL2R结合动力学概述

克隆	IL2 α	IL2R β			相对活性	
	KD* (M)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)	KD (M)	IL2R α (KD: 倍数)	IL2R β (KD: 倍数)
[0255] WT IL2	1.35E-08	3.26E+03	0.00329	1.01E-06	-	-
EP001	ND	5.61E+06	0.00417	7.43E-10	NA	1359
EP003	3.02E-07	2.59E+06	0.000376	1.45E-10	-22.4	6966
EP004	2.88E-08	5.18E+06	2.15E-03	4.14E-10	-2.1	2422

[0256] 实施例8

[0257] 人PBMC的IL2R β 激动剂P-STAT5的活化

[0258] 从三个独立供体的外周血中分离出人PBMC,并将其在75 μ L的培养基中以250,000个细胞/孔铺在96孔平板中。将细胞在37 $^{\circ}$ C下静置1h。在37 $^{\circ}$ C下于25 μ L中用4倍浓度的人WT IL2和工程化的His-Flag标记的IL2刺激细胞20min。立即对受刺激的PBMC进行固定,透化,对细胞谱系标志物(CD3、CD56、CD4、CD8、FOXP3)和p-STAT5进行染色,并在Attune流式细胞仪上进行可视化。CD8+T细胞被定义为CD3+CD56-CD4-CD8+。NK细胞被定义为CD3-CD56+。调节性T细胞被定义为CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3+。测定p-STAT5+细胞的百分比,并将其相对于每次IL2滴定绘图(图14A至图14C针对供血者1,图14D至图14F针对供血者2,图14G至图14I针对供血者3)。使用Prism软件确定P-STAT5活化的EC50值(表7)。

[0259] 表7. 人CD8+T细胞、NK细胞和Treg的P-STAT5活化的概述

		EC50 (nM)			
		WT	EP001	EP003	EP004
[0260] 供血者 1	CD8+ T 细胞	8.9E-01	1.9E-02	1.1E-02	2.1E-02
	NK 细胞	1.5E-01	1.4E-03	3.1E-04	1.4E-03
	调节性 T 细胞	9.5E-05	2.2E-03	<1.0E-5	<1.0E-5
供血者 2	CD8+ T 细胞	5.6E-01	1.6E-02	1.7E-02	7.1E-03
	NK 细胞	1.5E-01	1.1E-03	4.2E-04	7.1E-04
	调节性 T 细胞	4.2E-05	1.4E-03	<1.0E-5	<1.0E-5
供血者 3	CD8+ T 细胞	1.1E+00	2.3E-02	2.6E-02	1.2E-02
	NK 细胞	2.6E-01	3.3E-03	1.4E-03	1.8E-03
	调节性 T 细胞	2.0E-05	3.2E-03	<1.0E-5	<1.0E-5

[0261] 实施例9

[0262] IL2R β 激动剂回复突变克隆的合理生成

[0263] 进行了合理设计的IL2R β 激动剂回复突变策略,以产生一系列IL2R β 激动剂候选突变。EP001含有R81T、P82A、L85A、I86V、S87D、I89M、N90R、V93I和L94Q突变。为每个候选者设

计了4个至WT IL2的回复突变。对于所有突变,I86和I89都回复突变为WT IL2的86I和89I。然后将系统性回复突变与86I和89I组合应用于另外两个残基。总共设计了21个回复突变组合,突变是以EP001为模板通过定点诱变产生的(表8)。诱变后对IL2R β 激动剂回复突变克隆进行序列验证。

[0264] 表8. 引入EP0001的回复突变

[0265]

	81	82	85	86	87	89	90	93	94
WT IL2	R	P	L	I	S	I	N	V	L
EP001	T	A	A	V	D	M	R	I	Q
EP242	T	A	A	I	S	I	R	V	Q
EP243	R	P	A	I	D	I	R	I	Q
EP244	R	A	L	I	D	I	R	I	Q
EP245	R	A	A	I	S	I	R	I	Q
EP246	R	A	A	I	D	I	N	I	Q
EP247	R	A	A	I	D	I	R	V	Q
EP248	R	A	A	I	D	I	R	I	L
EP249	T	P	L	I	D	I	R	I	Q
EP250	T	P	A	I	S	I	R	I	Q
EP251	T	P	A	I	D	I	N	I	Q
EP252	T	P	A	I	D	I	R	V	Q
EP253	T	P	A	I	D	I	R	I	L
EP254	T	A	L	I	S	I	R	I	Q
EP255	T	A	L	I	D	I	N	I	Q
EP256	T	A	L	I	D	I	R	V	Q
EP257	T	A	L	I	D	I	R	I	L
EP258	T	A	A	I	S	I	N	I	Q
EP260	T	A	A	I	S	I	R	I	L
EP261	T	A	A	I	D	I	N	V	Q
EP262	T	A	A	I	D	I	N	I	L
EP263	T	A	A	I	D	I	R	V	L

[0266] 实施例10

[0267] IL2R β 激动剂回复突变克隆的表征

[0268] 通过ELISA表征了EP001回复突变克隆的与IL2R β 和IL2R α 受体的结合活性。简言之,在25uL/孔的总体积中以2ug/mL的于1XPBS中的终浓度用人IL2R α 和IL2R β Fc融合蛋白固定384孔平板。将平板在4C下孵育过夜,并用每孔80uL的superblock封闭1小时。将纯化的EP001回复突变克隆从100nM连续稀释至0nM。将每种稀释液以一式两份平行加入至IL2R α 或IL2R β 孔中。通过在1X PBST中加入25uL以1:5000稀释的抗Flag HRP来检测IL2突变体结合。在每个步骤之间,使用洗板机用1X PBST洗涤平板三次。然后用25uL TMB底物对平板显影5分钟,并通过加入25uL 2N硫酸停止显影。使用Biotek平板读数器在OD450 nm处读取平板,并用Prism 8.1软件分析EC50,以生成EC50值(图15A针对IL2R α ,图15B针对IL2R β ,概述于表

9中)。

[0269] 表9.回复突变克隆的结合活性

克隆	IL2R α 结合	IL2R β 结合
	EC50 (nM)	EC50 (nM)
WT IL2	1.2	ND
EP001	259.0	0.7
EP003	538.5	1.8
EP242	8.7	5.7
EP243	6.7	217.1
EP244	10.2	2830.0
EP245	4.8	122.8
EP246	7.0	269.0
EP247	8.3	4.7
EP248	13.4	188.0
EP249	20.2	576.1
EP250	13.2	23.4
EP251	16.8	2.5
EP252	13.0	2.2
EP253	48.5	4.8
EP254	4.3	556.1
EP255	4.3	359.5

克隆	IL2R α 结合	IL2R β 结合
	EC50 (nM)	EC50 (nM)
EP256	5.3	361.9
EP257	5.6	ND
EP258	2.5	6.5
EP260	5.4	1.1
EP261	2.9	124.5
EP262	32.1	53.2
EP263	4.9	1.3

[0272] 实施例11

[0273] 利用表面等离子体共振研究IL2R β 激动剂回复突变克隆的结合动力学

[0274] EP001回复突变克隆的结合动力学分析已用Biacore T200通过SPR技术进行了评估。使用Biacore T200控制软件2.0版运行测定。对于每个循环,在蛋白质A传感器芯片上于1X HBSP缓冲液中,在流动池2上以10uL/min的流速捕获1ug/mL的人IL2R β ,持续60秒。将100nM的HIS和Flag标签纯化的每种IL2突变体进行2倍连续稀释,并以30uL/min的流速注射到参考流动池1和IL2R β 捕获流动池2上持续150秒,然后洗涤300秒。然后用甘氨酸pH2以30uL/min的流速再生流动池60秒。以96孔形式用8个连续稀释浓度点设置了所述测定。动力学数据用Biacore T200评估软件3.0进行了分析。特异性结合反应单位是从靶流动池2减去

与参考流动池1的结合而得到的(图16A至图16F,表10)。

[0275] 表10.回复突变克隆的结合动力学的概述。(NA:数据不可用;*:从稳态亲和拟合测量的KD)

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
[0276]	EP001	3.86E+06	5.89E-03
	EP242	3.36E+06	2.41E-02
	EP247	4.20E+06	3.04E-02
	EP252	NA	NA
	EP253	NA	NA
[0277]	EP258	3.42E+06	3.01E-02
	EP260	1.06E+07	2.24E-02
	EP263	6.84E+06	1.91E-02

[0278] 实施例12

[0279] 具有降低的IL2R α 活性的工程化的IL2R β 激动剂

[0280] 首先在大肠杆菌中表达了通过mRNA文库选择和筛选产生的具有潜在减少或消除的IL2R α 结合的IL2突变,并根据制造商的方案通过Ni-Sepharose (GE Healthcare) 亲和柱和Flag标签亲和柱纯化(Sigma)对其进行了纯化。然后选择通过Biacore SPR结合和ELISA结合两者证实的IL2R α 结合活性显著降低的IL2突变来产生IL2R α 结合活性降低的IL2R β 激动剂。简言之,通过定点诱变技术将突变引入pCDNA3.4哺乳动物表达载体中的IL2R β 激动剂构建体,并通过DNA序列分析进行确认(表11)。根据标准方案,将每个工程化的IL2多肽在游离型系统(Invitrogen)中的ExpiHEK293-F细胞中进行了瞬时表达。将细胞在上述条件下生长5天,然后收获。通过离心收集上清液,并通过0.2 μ m PES膜进行了过滤。首先通过Ni-Sepharose Excel树脂柱(GE Healthcare)纯化激动剂,然后通过Superdex 200Increase 10/300GL柱(GE Healthcare)进一步纯化至超过95%的均一性(图17)。最终纯化的蛋白质的内毒素含量低于10EU/mg。将蛋白质在1X PBS缓冲液中储存,用于结合、功能和机制分析。

[0281] 表11.具有IL2R α 减少的结合突变的工程化的IL2R β 激动剂

	具有 IL2R α 降低的活性的工程化的 IL2R β 激动剂	亲代 IL2R α -减少的结合克隆	IL2R α 突变	亲代 IL2R β 激动剂克隆
[0282]	EP329	EP103	K35G/R38E	EP260
	EP330		K35G/R38E	EP258
	EP331		K35G/R38E	EP252
	EP332		K35G/R38E	EP253
	EP333	EP104	K35S,F42G	EP260

[0283]	EP334		K35S,F42G	EP258
	EP335		K35S,F42G	EP252
	EP336		K35S,F42G	EP253
	EP337	EP110	K35L/R38D/F42R	EP260
	EP338		K35L/R38D/F42R	EP258
	EP339		K35L/R38D/F42R	EP252
	EP340		K35L/R38D/F42R	EP253
	EP341	EP112	R38D/Y45S	EP260
	EP342		R38D/Y45S	EP258
	EP343		R38D/Y45S	EP252
	EP344		R38D/Y45S	EP253
	EP345	EP121	R38V/Y45S	EP260
	EP346		R38V/Y45S	EP258
	EP347		R38V/Y45S	EP252
	EP348		R38V/Y45S	EP253
	EP349	EP239	F42A	EP260
	EP350		F42A	EP258
	EP351		F42A	EP252
	EP352		F42A	EP253

[0284] 实施例13

[0285] 使用表面等离子体共振对工程化的IL2R α /IL2R β 克隆进行结合动力学分析

[0286] IL2R β 激动剂与IL2R α 活性降低突变的受体结合活性的动力学分析已利用Biacore T200通过SPR技术进行了评估。使用Biacore T200控制软件2.0版运行测定。对于每个循环，在蛋白质A传感器芯片上于1XHBSP缓冲液中，在流动池2上以10ul/min的流速捕获1ug/mL的人IL2R β ，持续60秒。将100nM的HIS和Flag标签纯化的每种IL2突变体进行2倍连续稀释，并以30ul/min的流速注射到参考流动池1和IL2R β 捕获流动池2上持续150秒，然后洗涤300秒。然后用甘氨酸pH2以30ul/min的流速再生流动池60秒。以96孔形式用8个连续稀释浓度点设置了所述测定。动力学数据用Biacore T200评估软件3.0进行了分析。特异性结合反应单位是从靶流动池2减去与参考流动池1的结合而得到的。图18A至图18H示出了工程化的IL2R β / α 克隆与IL2R α 的滴定结合，图19A至图19H示出了工程化的IL2R β / α 克隆与IL2R β 的滴定结合。克隆的描述以及动力学数据的概述示于表12中。

[0287] 表12. 工程化的IL2R β /IL2R α 克隆与人IL2R α 的结合动力学概述

克隆	IL2R α 结合突变	IL2R β 结合突变	IL2R α	IL2R β		
			结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
EP397	K35G/R38E	WT	NA	NA	NA	NA
EP398	K35G/R38E	EP001	NA	NA	NA	NA
EP399	K35G/R38E	EP003	NA	NA	NA	NA
EP400	K35S/F42G	WT	NA	NA	NA	NA
EP401	K35S/F42G	EP001	ND	7.21E+06	0.006164	8.55E-10
EP402	K35S/F42G	EP003	ND	3.68E+06	3.97E-04	1.08E-10
EP403	K35L/R38D/F42R	WT	NA	NA	NA	NA
EP404	K35L/R38D/F42R	EP001	NA	NA	NA	NA
EP405	K35L/R38D/F42R	EP003	NA	NA	NA	NA
EP406	R38D/Y45S	WT	ND	NA	NA	NA
EP407	R38D/Y45S	EP001	ND	8.34E+06	0.005094	6.11E-10
EP408	R38D/Y45S	EP003	ND	2.56E+06	5.98E-04	2.33E-10
EP409	R38V/Y45S	WT	低	1.49E+05	0.005308	3.57E-08
EP410	R38V/Y45S	EP001	低	7.19E+06	0.00594	8.27E-10
EP411	R38V/Y45S	EP003	低	1.82E+06	8.39E-04	4.61E-10

[0289] NA:数据不可用。ND:无法检测的结合。低:低于10RU的结合信号。

[0290] 图20A至图20G示出了IL2R α 单一浓度结合,图21A至图21G示出了IL2R β 单一浓度结合,图22A和图22B示出了IL2R α 多浓度结合,这概述于表13中)。

[0291] 表13.通过SPR研究的工程化的IL2R β /IL2R α 克隆与人IL2R的结合动力学的概述

	WT IL2	单一浓度 KD (M)						多浓度 KD (M)			
		EP3 29	EP3 33	EP3 37	EP3 41	EP3 45	EP3 49	EP3 37	EP3 38	EP3 39	EP 340
IL2R α	1.05E-08	极低	极低	ND	ND	低	低	ND	ND	ND	ND
IL2R β	NA#	1.22	1.41	3.80	2.54	1.25	2.79	1.44	3.83	3.59	NA

		E-09	E-09	E-09	E-09	E-08	E-09	E-08	E-08	E-08	#
										8	

[0294] ND:无法检测的结合。低:低于5RU的结合信号

[0295] 实施例14

[0296] 工程化的IL2R α /IL2R β 克隆的ELISA结合分析

[0297] 将重组Fc标记的人IL2R α 和IL2R β 在25uL 1X PBS中加入384孔平板的孔中,并在4℃下孵育过夜以包被平板。用0.05% Tween20/1X PBS洗涤平板三次。在RT下用100uL SuperBlock封闭平板1h,然后用0.05% Tween20/1X PBS洗涤3次。将IL2突变体在0.05% Tween 20/1X PBS中从1000nM稀释至0nM,并在室温下加入至平板中进行2h。然后用0.05% Tween20/1X PBS洗涤平板6次。将抗HisTag-HRP在0.05% Tween20/1X PBS中以1:5000稀释,并在RT下加入到平板中1h。然后用0.05% Tween 20/1X PBS洗涤平板6次,并加入TMB以显蓝色。用2N硫化氢停止反应,在BioTek平板读数器上读取450nm处的吸光度。绘制了人IL2R α 的单点吸光度以及人IL2R α 和IL2R β 的滴定(图23A至图23E针对IL2R α ,图24A至24D针对IL2R β)。显示了ELISA结合的EC50值的概述(表14)。

[0298] 表14. 与人IL2R α 和IL2R β 的ELISA结合的概述

	EC50 (nM)								
	WT IL2	EP001	EP252	EP331	EP335	EP339	EP343	EP347	EP351
IL2R α	11.5	ND	13.81	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IL2R β	ND	8.1	24.5	39.3	59.1	96.3	19.7	77.6	21.2
			EP253	EP332	EP336	EP340	EP344	EP348	EP352
IL2R α			8.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IL2R β			52.8	44.0	133.0	185.0	50.7	123.7	33.8
			EP258	EP330	EP334	EP338	EP342	EP346	EP350
IL2R α			9.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IL2R β			119.2	ND	28.6	105.3	58.9	ND	39.9
			EP260	EP329	EP333	EP337	EP341	EP345	EP349
IL2R α			12.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IL2R β			295.9	11.4	11.4	137.9	64.1	152.1	947.8

[0300] 实施例15

[0301] 工程化的IL2R α /IL2R β 克隆对人PBMC的P-STAT5活化

[0302] 从两个供体的外周血中分离出人PBMC,并将其在75 μ L的培养基中以250,000个细胞/孔铺在96孔平板中。将细胞在37 $^{\circ}$ C下静置1h。在37 $^{\circ}$ C下于25 μ L中用4倍浓度的人IL2 WT和工程化的His-Flag标记的IL2刺激细胞20min。立即对受刺激的PBMC进行固定,透化,对细胞谱系标志物(CD3、CD56、CD4、CD8、FOXP3)和p-STAT5进行染色,并在Attune流式细胞仪上进行可视化。CD8 $^{+}$ T细胞被定义为CD3 $^{+}$ CD56 $^{-}$ CD4 $^{+}$ CD8 $^{+}$ 。NK细胞被定义为CD3 $^{-}$ CD56 $^{+}$ 。调节性T细胞被定义为CD3 $^{+}$ CD56 $^{-}$ CD4 $^{+}$ CD8 $^{-}$ FOXP3 $^{+}$ 。测定p-STAT5 $^{+}$ 细胞的百分比,并将其相对于每次IL2滴定绘图(图25A至图25D针对供体656CD8 $^{+}$ T细胞,图26A至图26D针对供体648CD8 $^{+}$ T细胞,图27A至图27D针对供体656NK细胞,图28A至图28D针对供体648NK细胞,图29A至图29D针对供体656调节性T细胞,图30A至图30D针对供体648调节性T细胞)。每种细胞类型的P-STAT5活化的EC50值的概述示于表15(针对供血者1)和表16(针对供血者2)中。

[0303] 表15. 供体1的人CD8 $^{+}$ T细胞、NK细胞和Treg的P-STAT5活化的概述。

	EC50 (nM)								
	供血者 1								
	WT	EP001	EP252	EP331	EP335	EP339	EP343	EP347	EP351
CD8 $^{+}$ T 细胞	6.1E-01	4.7E-02	2.4E-02	5.6E-01	3.6E-01	1.2E-01	1.9E-01	9.4E-02	9.7E-02
NK 细胞	2.8E-01	1.0E-02	1.1E-02	1.3E-01	8.2E-02	3.8E-02	1.3E-02	1.2E-02	9.9E-03
调节性T 细胞	2.0E-03	1.8E-02	2.5E-05	2.9E-01	6.1E-02	1.0E-01	4.3E-02	7.6E-03	1.1E-02
	WT	EP001	EP253	EP332	EP336	EP340	EP344	EP348	EP352
CD8 $^{+}$ T 细胞	6.1E-01	4.7E-02	4.5E-02	8.1E-01	1.0E-01	3.1E-01	4.0E-01	4.8E-01	1.4E-01

[0305]

NK 细胞	2.8E-01	1.0E-02	1.1E-02	3.2E-01	1.5E-02	1.0E-01	5.5E-02	1.2E-01	1.3E-02
调节性 T 细胞	2.0E-03	1.8E-02	3.7E-04	3.2E-01	1.3E-02	1.3E-01	9.1E-02	3.9E-02	1.2E-02
	WT	EP001	EP258	EP330	EP334	EP338	EP342	EP346	EP350
CD8+ T 细胞	2.7E-01	8.6E-02	2.2E-02	8.0E+00	4.7E-01	3.3E-01	4.0E-01	1.3E-01	2.0E-01
NK 细胞	8.7E-01	1.7E-02	1.3E-02	ND	ND	3.8E-02	5.7E-02	3.4E-02	1.8E-02
调节性 T 细胞	2.4E-04	1.9E-02	<1E-4	2.8E-01	2.7E-02	9.6E-02	9.1E-02	N.D.	2.1E-02
	WT	EP001	EP260	EP329	EP333	EP337	EP341	EP345	EP349
CD8+ T 细胞	2.7E-01	8.6E-02	1.7E-02	1.6E-01	2.5E-01	6.3E-02	1.0E-01	5.2E-01	8.4E-02
NK 细胞	8.7E-01	1.7E-02	1.5E-01	1.4E-01	5.0E-02	ND	1.2E-02	8.1E-02	2.8E-02
调节性 T 细胞	2.4E-04	1.9E-02	<1E-4	2.8E-01	2.7E-02	9.6E-02	9.1E-02	ND	2.1E-02

[0306] 表16. 供体2的人CD8+T细胞、NK细胞和Treg的P-STAT5活化的概述。

[0307]

	EC50 (nM)								
	供血者 2								
	WT	EP001	EP252	EP331	EP335	EP339	EP343	EP347	EP351
CD8+ T 细胞	9.9E+00	6.8E-02	3.5E-01	5.7E-01	2.6E-01	3.0E-01	1.5E-01	1.7E-01	1.1E-01
NK 细胞	1.3E+00	1.0E-02	1.2E-02	7.6E-02	2.1E-02	5.0E-02	1.1E-02	2.1E-02	1.8E-02
调节性 T 细胞	3.8E-03	1.3E-02	2.5E-06	7.0E-02	1.1E-02	1.7E-01	1.7E-01	1.0E-02	1.8E-02
	WT	EP001	EP253	EP332	EP336	EP340	EP344	EP348	EP352
CD8+ T 细胞	9.9E+00	6.8E-02	1.6E-01	5.6E-01	1.2E-01	6.5E-01	8.0E-01	6.2E-01	3.8E-01
NK 细胞	1.3E+00	1.0E-02	4.5E-02	8.6E-02	1.2E-02	9.2E-02	2.9E-01	1.3E-01	7.1E-02
调节性 T 细胞	3.8E-03	1.3E-02	1.8E-06	7.0E-02	1.1E-02	1.7E-01	1.7E-01	1.0E-02	1.8E-02

	EC50 (nM)								
	供血者 2								
	WT	EP001	EP252	EP331	EP335	EP339	EP343	EP347	EP351
	WT	EP001	EP258	EP330	EP334	EP338	EP342	EP346	EP350
[0308]	CD8+ T 细胞	7.5E-01	3.1E-01	8.8E-02	1.6E+00	3.4E+00	9.1E-01	2.9E+00	3.2E-01
	NK 细胞	3.2E-01	1.0E-02	7.6E-02	2.9E-01	ND	8.7E-02	1.2E+01	3.2E-02
	调节性 T 细胞	4.5E-05	1.4E-02	<1E-4	9.1E-01	6.6E-02	1.2E-01	3.0E-01	5.8E-03
		WT	EP001	EP260	EP329	EP333	EP337	EP341	EP345
	CD8+ T 细胞	7.5E-01	3.1E-01	1.9E-02	9.6E-02	7.7E+00	6.6E-01	3.4E-01	1.6E+00
	NK 细胞	3.2E-01	1.0E-02	2.7E-03	4.8E-03	7.5E-01	1.5E-02	1.7E-02	3.6E-01
	调节性 T 细胞	4.5E-05	1.4E-02	<1E-4	2.0E-02	3.4E-01	3.2E-02	4.5E-02	1.2E-01
									ND

[0309] 实施例16

[0310] 工程化的IL2R α /IL2R β 克隆对鼠细胞的P-STAT5活化

[0311] 将鼠脾细胞在75 μ L培养基中以250,000个细胞/孔铺在96孔平板中。将细胞在37℃下静置1h。在37℃下于25 μ L中用4倍浓度的人IL2 WT和工程化的His-Flag标记的IL2刺激细胞20min。立即对受刺激的小鼠腺细胞进行固定,透化,对细胞谱系标志物(CD3、CD56、CD4、CD8、FOXP3)和p-STAT5进行染色,并在Attune流式细胞仪上进行可视化。CD8+T细胞被定义为CD3+CD56-CD4-CD8+。测定p-STAT5+细胞的百分比,并将其相对于每次IL2滴定作图(图31A至图31D)。每种细胞类型的P-STAT5活化的EC50值的概述示于图34中。

[0312] 将分离的NK细胞或小鼠调节性T细胞在75 μ L培养基中以20,000个细胞/孔铺在96孔平板中。将细胞在37℃下静置1h。在37℃下于25 μ L中用4倍浓度的人IL2 WT和工程化的His-Flag标记的IL2刺激细胞20min。立即对受刺激的小鼠NK细胞或小鼠调节性T细胞进行固定,透化,对P-STAT5进行染色,并在Attune流式细胞仪上进行可视化。测定p-STAT5+细胞的百分比,并将其相对于每次IL2滴定作图(图32A至图32D、图33A至图33D)。

[0313] 每种细胞类型的P-STAT5活化的EC50值的概述示于图34中。

[0314] 实施例17

[0315] IL2R β 激动剂Fc融合蛋白的设计

[0316] 为了产生二价IL2R β 激动剂Fc-融合蛋白,将编码EP003(SEQ ID NO:2)、EP007(SEQ ID NO:4)、EP002(SEQ ID NO:6)、EP004(SEQ ID NO:9)、EP001(SEQ ID NO:11)、EP006(SEQ ID NO:16)、EP009(SEQ ID NO:18)和EP005(SEQ ID NO:19)的工程化的IL2多肽的蛋白质序列与人IgG1同种型的恒定框架序列的N-末端位点融合,以产生工程化的激动剂-Fc融合蛋

白 (SEQ ID NO:44、46、48、51、53、58和61)。引入人IgG1中的L234A、L235A和P329G突变以消除补体结合和Fc- γ 依赖性抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 效应 (Lo等人, JBC 2017) (图35A)。

[0317] 为了产生单价IL2R β 激动剂Fc-融合蛋白, 将编码EP003 (SEQ ID NO:2)、EP007 (SEQ ID NO:4)、EP002 (SEQ ID NO:6)、EP004 (SEQ ID NO:09)、EP001 (SEQ ID NO:11)、EP006 (SEQ ID NO:16)、EP009 (SEQ ID NO:18) 和EP005 (SEQ ID NO:19) 的工程化的IL2多肽的蛋白质序列与相应的人IgG1和IgG4同种型的恒定框架序列的N-末端位点融合, 以产生工程化的激动剂-Fc融合蛋白 (SEQ ID NO:44、46、48、51、53、58和61)。将S354C、T366W和K409A的杵突变 (knob mutation) 引入构建体。将Y349C、T366S、L368A、F405K、Y407V的臼突变 (hole mutation) 分别引入IgG1和IgG4的CH2和CH3片段。引入人IgG1中的L234A、L235A和P329G突变以消除补体结合和Fc- γ 依赖性抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 效应 (Lo等人, JBC, 2017年) (图35B及图35C)。然后用针对哺乳动物细胞表达优化的密码子合成编码完整Fc融合激动剂蛋白的DNA, 并将其亚克隆到pCDNA3.4 (Invitrogen) 中。

[0318] 实施例18

[0319] IL2R β 激动剂FC融合蛋白的产生

[0320] 对于二价IL2-Fc融合蛋白的产生, 根据标准方案, 将激动剂在游离型系统 (Invitrogen) 中的ExpiHEK293-F细胞中瞬时表达。将细胞在上述条件下生长七天, 然后进行收获。通过离心收集上清液, 并通过0.2 μ m PES膜进行了过滤。首先通过MabSelect PrismA蛋白A树脂 (GE Health) 纯化了Fc融合激动剂。用100mM Gly pH2.5+150mM NaCl洗脱蛋白质, 并用20mM柠檬酸盐pH 5.0+300mM NaCl进行快速中和。然后将激动剂蛋白浓缩至1mL, 并通过Superdex 200Increase 10/300GL柱进一步纯化。将单体峰级分汇集并浓缩。最终纯化的蛋白质的内毒素含量低于10EU/mg, 并保存在20mM柠檬酸盐pH 5.0+300mM NaCl中。将纯化的IL2-Fc融合激动剂在SDS凝胶 (4-12%Bis-Tris Bolt凝胶, 含有MES运行缓冲液) 上运行, 比较在还原条件对比非还原条件下处理的每个样品 (图36A)。

[0321] 对于单价IL2-Fc融合蛋白的产生, 将相应IgG1和IgG4骨架形式的“杵”和“臼”构建体以1:1的比率转染至ExpiHEK293-F细胞中。将细胞在上述条件下生长5天, 然后收获。通过离心收集上清液, 并通过0.2 μ m PES膜进行了过滤。首先通过MabSelect PrismA蛋白A树脂 (GE Health) 纯化了Fc融合激动剂。用100mM Gly pH2.5+150mM NaCl洗脱蛋白质, 并用20mM柠檬酸盐pH 5.0+300mM NaCl进行快速中和。然后将激动剂蛋白浓缩至1mL, 并通过Superdex 200Increase 10/300GL柱进一步纯化。将单体峰级分汇集并浓缩。最终纯化的蛋白质的内毒素含量低于10EU/mg, 并保存在20mM柠檬酸盐pH 5.0+300mM NaCl中。将纯化的单价IL2-Fc融合激动剂在SDS凝胶 (4-12%Bis-Tris Bolt凝胶, 含有MES运行缓冲液) 上运行, 比较在还原条件对比非还原条件下处理的每个样品 (图36B)。

[0322] 实施例19

[0323] IL2R β 激动剂FC-融合蛋白的ELISA结合分析

[0324] 对于二价Fc融合蛋白, 将人IL2R α 和人IL2R β 在25 μ L/孔的总体积中以2 μ g/mL的于1x PBS中的终浓度固定在384孔平板中。将平板在4 $^{\circ}$ C孵育过夜, 然后用每孔80 μ L的superblock封闭1小时。将100nM的纯化的工程化的IL2突变Fc融合蛋白以3倍连续稀释12次。将每种稀释液平行加入IL2R α 和IL2R β 孔中。通过加入50 μ L的以1:5000在1x PBST中稀释

的抗人Fc HRP来检测工程化的IL2突变体结合。在每个步骤之间,用1x PBST在洗板机中洗涤平板3次。然后用25 μ l TMB底物对平板显影5分钟,并通过加入25 μ l 2N硫酸停止显影。使用Biotek平板读取器在OD450 nm处读取平板,并用Prism 8.1软件分析EC50。绘制人IL2R α 和IL2R β 的吸光度相对于IL-2浓度的关系图(图37A至图37G)。显示了ELISA结合的EC50值的概述(表17)。

[0325] 表17. 二价IL2R β Fc融合蛋白的受体结合分析的概述

克隆	IL2 α	IL2 β	相对活性	
	EC50	EC50	IL2R α	IL2R β
	(nM)	(nM)	(EC50: 倍数)	(EC50: 倍数)
EP085	5.0E-02	3.0E02*	1	1
EP079	6.4E-01	4.1E-01	-12.7	727
EP083	4.6E-02	2.8E-01	1.09	1079
EP082	2.8E-02	2.5E-01	1.78	1189
EP078	4.1E-02	2.1E+00	1.24	142
EP084	4.1E-02	2.6E+00	1.23	117
EP081	8.7E-02	2.0E-01	-1.73	1528
EP080	5.6E-02	2.3E-01	-1.17	1278

[0327] 对于单价Fc融合蛋白,将重组His标记的人IL2R α 和IL2R β 于25 μ l 1X PBS中加入到384孔平板的孔中,并在4 $^{\circ}$ C孵育过夜以包被平板。用0.05%Tween20/1X PBS洗涤平板三次。在RT下用100 μ l SuperBlock封闭平板1h,然后用0.05%Tween20/1X PBS洗涤3次。将IL2突变体在0.05%Tween 20/1X PBS中从1000nM稀释至0nM,并在室温下加入至平板中进行2h。然后用0.05%Tween20/1X PBS洗涤平板6次。将抗HisTag-HRP在0.05%Tween20/1X PBS中以1:5000稀释,并在RT下加入到平板中1h。然后用0.05%Tween20/1X PBS洗涤平板6次,加入TMB以显蓝色。用2N硫化氢停止反应,在BioTek平板读数器上读取450nm处的吸光度。绘制人IL2R α 和IL2R β 的吸光度相对于IL2浓度的关系图(图38A至图38B)。显示了ELISA结合的EC50值的概述(表18)。

[0328] 表18. 单价IL2R β Fc融合蛋白的受体结合分析的概述

		EC50 (nM)	
		hIL2R α	hIL2R β
[0329]	WT-Fc, 单价(EP290/EP280)	1.9E-02	9.4E+00
	EP001, 单价(EP297/EP280)	2.7E+00	3.8E+00
	EP003, 单价(EP291/EP280)	3.6E-01	6.0E-01

[0330] 实施例20

[0331] 单价IL2R β FC融合蛋白的结合动力学

[0332] 单价IL2R β Fc融合蛋白的结合动力学已利用Biacore T200通过SPR技术进行了分析。简言之,将抗hFc抗体固定在流动池1和流动池2上。对于每个循环,在固定有抗hFc的芯片上于1XHBSP缓冲液中,在流动池2上以10 μ l/min的流速捕获1 μ g/mL的人IL2 Fc融合蛋白,

持续60秒。将100nM IL2R α -HIS标记的或IL2R β -HIS标记的进行2倍连续稀释并注射到参照流动池1上,并在流动池2中以30uL/min的流速捕获IL2 Fc融合蛋白150秒。最后一次注射后应用300秒洗涤。以96孔形式用8个连续稀释浓度点设置了所述测定。动力学数据用Biacore T200评估软件3.0进行了分析。特异性结合反应单位是从靶流动池2减去与参考流动池1的结合而得到的(图39A至39D)。

[0333] 实施例21

[0334] IL2R β 激动剂Fc融合蛋白对人PBMC的P-STAT5活化

[0335] 从外周血中分离出人PBMC,并将其在75 μ L的培养基中以250,000个细胞/孔铺在96孔平板中。将细胞在37 $^{\circ}$ C下静置1h。在37 $^{\circ}$ C下于25 μ L中用4倍浓度的人WT IL2和IL2R β 激动剂Fc-融合蛋白刺激细胞20min。立即对受刺激的PBMC进行固定,透化,对细胞谱系标志物(CD3、CD56、CD4、CD8、FOXP3)和p-STAT5进行染色,并在Attune流式细胞仪上进行可视化。CD8 $^{+}$ T细胞被定义为CD3 $^{+}$ CD56 $^{-}$ CD4 $^{-}$ CD8 $^{+}$ 。NK细胞被定义为CD3 $^{-}$ CD56 $^{+}$ 。调节性T细胞被定义为CD3 $^{+}$ CD56 $^{-}$ CD4 $^{+}$ CD8 $^{-}$ FOXP3 $^{+}$ 。测定p-STAT5 $^{+}$ 细胞的百分比,并将其相对于每次IL2滴定绘图(图40A至图40C针对二价融合蛋白,图41A至图41C针对二价融合蛋白;关于概述参见表19)。

[0336] 表19. IL2R β 激动剂Fc融合蛋白对人PBMC的P-STAT5活化的概述

		EC50 (nM)		
		CD8+ T 细胞	NK 细胞	调节性 T 细胞
[0337]	WT-Fc, 二价 (EP085)	1.4E+01	7.7E-02	2.8E-04
	EP001-Fc, 二价 (EP079)	1.1E-01	1.5E-02	2.7E-02
	EP003-Fc, 二价 (EP082)	3.4E-01	2.9E-02	1.9E-03
	EP004-Fc, 二价 (EP078)	8.4E-02	8.5E-03	5.9E-04
	WT-Fc, 单价 (EP290/EP280)	>5.0+01	>5.0+01	1.3E-02
	EP001, 单价 (EP297/EP280)	7.4E-01	1.6E-01	5.7E-02
[0338]	EP003, 单价 (EP291/EP280)	4.1E-01	9.4E-02	1.1E-02

[0339] 实施例22

[0340] IL2R β 激动剂的小鼠体内药代动力学分析

[0341] 向C57BL/6小鼠i.v.或i.p.注射了10ug的于200uL盐水中的IL2-WT、EP001或EP003。在0min、10min、30min、1h、2h、4h、8h、16h、24h和48h时收集血液,并立即离心分离出血浆。为了测定IL2-WT和EP001的血浆浓度,连续稀释血浆,并使用Duoset IL2ELISA试剂盒(R&D Systems)按照说明分析血浆。通过比较来自血浆与在同等稀释的未处理C57BL/6小鼠

血浆中制备的掺加对照的吸光度值,测定IL2-WT、EP001和EP001浓度。将IL2浓度相对于时间以对数标度绘图(图42A至图42B;表20)。

[0342] 表20.

[0343]

	给药(i.v.)				给药(i.p.)		
	WT IL2	EP00 1	EP00 3		WT IL2	EP00 1	EP00 3
AUC (ng.h/mL)	81.9	266.7 1	170.3 7	AUC (ng.h/mL)	195.5 9	445.3 8	101.3
清除速率 (mL/min/kg)	113. 1	34.72	54.35	Cmax (ng/mL)	122.7	335.6 6	85.13
分配体积 (L/kg)	10.8 5	3.16	5.25	Tmax (h)	2	1	1
T1/2 (h)	1.11	1.05	1.12	T1/2 (h)	0.47	0.56	0.61

[0344] 实施例23

[0345] IL2R β 激动剂小鼠体内肿瘤细胞浸润

[0346] 将100,000个于50%基质凝胶中的MC38细胞皮下注射到7周龄雌性C57BL/6小鼠的背侧。用测径器测量肿瘤。当达到100mm³的平均体积时,用32ug的WT IL2、EP001、EP003或EP004 BID处理小鼠5天。第6天,处死小鼠,并通过流式细胞术分析肿瘤浸润性免疫细胞。对用于流式细胞术的肿瘤切片进行称重以获得归一化的细胞计数。CD4⁺T细胞被定义为CD45⁺CD3⁺CD49b⁻CD4⁺CD8⁻。CD8⁺T细胞定义为CD45⁺CD3⁺CD49b⁻CD4⁻CD8⁺。NK细胞被定义为CD45⁺CD3⁻CD49b⁺。调节性T细胞NK细胞被定义为CD45⁺CD3⁺CD49b⁻CD4⁺CD8⁻FOXP3⁺。原初T细胞被定义为CD44^{lo}CD62L^{hi}。效应T细胞被定义为CD44^{hi}CD62L^{lo},并且中央记忆T细胞定义为CD44^{hi}CD62L^{hi}。将肿瘤浸润免疫细胞的归一化计数(图43A至图43D)、效应细胞与调节性细胞的比率(图44A及图44B)和T细胞亚型(图45A至图45C)相对于IL2克隆治疗组作图。

序列表

<110> 艾佩斯瑞生物制药公司 (Elpis Biopharmaceuticals)

〈120〉 工程化的白细胞介素-2受体 β 激动剂

<130> 300096.401W0

<140> PCT

<141> 2020-08-13

<150> US 62/886,148

<151> 2019-08-13

 $\langle 160 \rangle$ 220

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

 $\langle 210 \rangle$ 1

<211> 15

⟨212⟩ PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成序列

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 变体

 $\langle 222 \rangle$ 1, 3, 6, 8, 12, 13

〈223〉 Xaa = 任何氨基酸

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 变体

 $\langle 222 \rangle$ 2, 4, 10

〈223〉 Xaa = 任何不带电荷的氨基酸

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 变体

$\langle 222 \rangle$ 5, 7, 9, 11

〈223〉 Xaa = 不带电荷的非极性氨基酸

 $\langle 400 \rangle$ 1

Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

15

 $\langle 210 \rangle$ 2

<211> 15

<212> PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成序列 (EP003 IL2Rβ BR2)

 $\langle 400 \rangle$ 2

Gly Val Thr Asp Ser Ile Ser Asn Ala Ile Val Leu Ala Arg Glu
1 5 10 15
<210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP008 IL2R β BR2)
<400> 3
Lys Trp Gly Asp Ala Val Ser Asn Ala Arg Val Leu Ala Gly Glu
1 5 10 15
<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP007 IL2R β BR2)
<400> 4
Lys Trp Gly Asp Ala Val Ser Asn Ala Arg Val Leu Ala Gly Ala
1 5 10 15
<210> 5
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP0021 IL2R β BL2)
<400> 5
Thr Leu Met Asp Thr Thr Asp Asn Ile Gly Val Leu Val Arg Glu
1 5 10 15
<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP002 IL2R β BR2)
<400> 6
Glu Pro Ser Asp Val Ile Ser Asn Ile Asn Val Leu Val Gln Glu
1 5 10 15
<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列(EP018 IL2R β BR2)

<400> 7

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

1 5 10 15

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列(EP011 IL2R β BR2)

<400> 8

Trp Ala Ser Asp Ser Ile Glu Asn Ile Thr Leu Leu Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 9

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列(EP004 IL2R β BR2)

<400> 9

Cys Pro Thr Asp Thr Ile Glu Asn Ile Thr Val Leu Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 10

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列(EP016 IL2R β BR2)

<400> 10

Arg Tyr Lys Asp Ser Leu Glu Asn Met Gln Ile Ile Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列 (EP001 IL2R β BR2)

<400> 11

Thr	Ala	Arg	Asp	Ala	Val	Asp	Asn	Met	Arg	Val	Ile	Ile	Gln	Glu
1				5				10					15	

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列 (EP017 IL2R β BR2)

<400> 12

Thr	Pro	Arg	Asp	Val	Val	Glu	Asn	Met	Asn	Val	Leu	Val	Leu	Glu
1				5				10					15	

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列 (EP012 IL2R β BR2)

<400> 13

Thr	Pro	Ser	Asp	Val	Ile	Glu	Asn	Met	Glu	Val	Leu	Ile	Leu	Asp
1				5				10					15	

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列 (EP013 IL2R β BR2)

<400> 14

Thr	Pro	Ser	Asp	Ala	Ile	Glu	Asn	Ile	Asn	Val	Leu	Ile	Arg	Glu
1				5				10					15	

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列 (EP015 IL2R β BR2)

<400> 15

Thr Pro Ser Asp Val Ile Glu Asn Ile Thr Val Leu Val Gln Glu
1 5 10 15
<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP006 IL2R β BR2)
<400> 16
Gly Val Gly Asp Thr Ile Asp Asn Ile Asn Val Leu Val Lys Glu
1 5 10 15
<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP019 IL2R β BR2)
<400> 17
Ile Gly Arg Asp Ser Ile Asp Asn Ile Lys Val Ile Val Gln Glu
1 5 10 15
<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP009 IL2R β BR2)
<400> 18
Trp Ala Thr Asp Thr Ile Arg Asn Val Glu Val Leu Val Gln Glu
1 5 10 15
<210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列 (EP005 IL2R β BR2)
<400> 19
Thr Ala Glu Asp Val Val Thr Asn Ile Thr Val Leu Val Gln Glu
1 5 10 15
<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列(EP010 IL2R β BR2)

<400> 20

Thr Ala Glu Asp Val Ile Ser Asn Ile Arg Val Asn Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列(EP014 IL2R β BR2)

<400> 21

Thr Pro Ser Asp Val Ile Asp Asn Val Ser Ile Thr Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 22

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列(IL2R β 激动剂)

<220>

<221> 变体

<222> 81, 83, 86, 88, 92, 93

<223> Xaa = 任何氨基酸

<220>

<221> 变体

<222> 82, 84, 90

<223> Xaa = 任何不带电荷的氨基酸

<220>

<221> 变体

<222> 85, 87, 89, 91

<223> Xaa = 任何不带电荷的非极性氨基酸

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20							25					30					
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	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	
Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Xaa	Xaa	Xaa	Asn	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	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 (Artificial Sequence)										
<220>																	
<223>							合成序列EP003										
<400>							23										
Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His		
1							5					10				15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys		
20							25					30					
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys		
35							40					45					
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys		
50							55					60					
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu		
65							70					75				80	
Gly	Val	Thr	Asp	Ser	Ile	Ser	Asn	Ala	Ile	Val	Leu	Ala	Arg	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(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列EP008
<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 Glu
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
Lys Trp Gly Asp Ala Val Ser Asn Ala Arg Val Leu Ala Gly 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> 133
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列EP007
<400> 25
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Glu Thr Gln Leu Gln Leu Lys 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
 Lys Trp Gly Asp Ala Val Ser Asn Ala Arg Val Leu Ala Gly Ala 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> 26

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP020

<400> 26

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu 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
 Thr Leu Met Asp Thr Thr Asp Asn Ile Gly Val Leu Val Arg 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> 27

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP002

<400> 27

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Glu 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
Glu Pro Ser Asp Val Ile Ser Asn Ile Asn Val Leu Val Gln 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> 28

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP018

<400> 28

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Glu Thr Gln Leu Gln Leu Lys 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
Ser Pro Gln Asp Ser	Ile Glu Asn Ile	Ser Val Leu Val	Arg 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> 29

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP011

<400> 29

Ala Pro Thr Ser Ser	Ser Thr Lys Lys	Thr Gln Leu Gln	Leu Glu His
1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp Leu	Gln Met Ile Leu	Asn Gly Ile Asn	Asn Tyr Lys
	20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr	Arg Met Leu Thr	Phe Lys Phe Tyr	Met Pro Lys
	35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu	Lys His Leu Gln	Cys Leu Glu Glu	Glu Leu Lys
	50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val	Leu Asn Leu Ala	Gln Ser Lys Asn	Phe His Leu
65	70	75	80
Trp Ala Ser Asp Ser	Ile Glu Asn Ile	Thr Leu Leu Ile	Gln 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> 30

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP004

<400> 30

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
Cys	Pro	Thr	Asp	Thr	Ile	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Leu	Ile	Gln	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> 31

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP016

<400> 31

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	Tyr	Lys	Asp	Ser	Leu	Glu	Asn	Met	Gln	Ile	Ile	Ile	Gln	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> 32

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP001

<400> 32

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
Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln 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> 33

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP017

<400> 33

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
Thr Pro Arg Asp Val Val Glu Asn Met Asn Val Leu 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> 34			
<211> 133			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列EP012			
<400> 34			
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
Thr Pro Ser Asp Val Ile Glu Asn Met Glu Val Leu Ile Leu Asp 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> 35		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP013		
<400> 35		
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		
Thr Pro Ser Asp Ala Ile Glu Asn Ile Asn Val Leu Ile Arg 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> 36		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP015		
<400> 36		
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
 Thr Pro Ser Asp Val Ile Glu Asn Ile Thr Val Leu Val Gln 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> 37

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP006

<400> 37

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
 Gly Val Gly Asp Thr Ile Asp Asn Ile Asn Val Leu Val Lys 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> 38

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP019

<400> 38

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
Ile	Gly	Arg	Asp	Ser	Ile	Asp	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Val	Gln	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> 39

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP009

<400> 39

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
Trp Ala Thr Asp Thr	Ile Arg Asn Val Glu Val Leu Val Gln Glu Leu	80
	85	90
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		95
	100	105
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile		110
	115	120
Ile Ser Thr Leu Thr		125
130		
<210> 40		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP005		
<400> 40		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		15
	20	25
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		30
	35	40
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		45
50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		
65	70	75
Thr Ala Glu Asp Val Val Thr Asn Ile Thr Val Leu Val Gln Glu Leu		80
	85	90
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		95
	100	105
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile		110
	115	120
Ile Ser Thr Leu Thr		125
130		
<210> 41		
<400> 41		
000		

<210> 42
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列EP014
<400> 42
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
Thr Pro Ser Asp Val Ile Asp Asn Val Ser Ile Thr Val Gln 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> 43
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列IL2R β 激动剂-Fc融合物
<220>
<221> 变体
<222> 81, 83, 86, 88, 92, 93
<223> Xaa = 任何氨基酸
<220>
<221> 变体
<222> 82, 84, 90
<223> Xaa = 任何不带电荷的氨基酸

<220>

<221> 变体

<222> 85, 87, 89, 91

<223> Xaa = 任何不带电荷的非极性残基

<400> 43

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	
Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Xaa	Xaa	Xaa	Asn	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
		130					135				140				
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
145				150					155					160	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
			165					170					175		
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
		180					185					190			
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
		195					200					205			
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
	210					215				220					
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
225				230					235					240	
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
			245					250					255		
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
			260					265				270			

Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
275				280				285							
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
290				295				300							
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
305				310				315				320			
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
				325				330				335			
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
				340				345				350			
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
355				360				365							

<210> 44

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP003-Fc融合物, EP082

<400> 44

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						
Gly	Val	Thr	Asp	Ser	Ile	Ser	Asn	Ala	Ile	Val	Leu	Ala	Arg	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
130				135				140							
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
145	150				155				160						

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

<210> 45

<211> 367

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP008-Fc融合物, EP086

<400> 45

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

355	360	365
<210> 46		
<211> 365		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP007-Fc融合物, EP080		
<400> 46		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Glu Thr Gln Leu Gln Leu Lys 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		
Lys Trp Gly Asp Ala Val Ser Asn Ala Arg Val Leu Ala Gly Ala 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys		
130 135 140		
Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu		
145 150 155 160		
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
165 170 175		
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys		
180 185 190		
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
195 200 205		
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu		
210 215 220		
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
225 230 235 240		
Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		

245																250						255											
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser																		
260																265						270											
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys																		
275																280						285											
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln																		
290																295						300											
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly																		
305																310						315						320					
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln																		
325																330						335											
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn																		
340																345						350											
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys																					
355																360						365											
<210> 47																																	
<211> 365																																	
<212> PRT																																	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)																																	
<220>																																	
<223> 合成序列EP020-Fc融合物, EP098																																	
<400> 47																																	
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					
Thr	Leu	Met	Asp	Thr	Thr	Asp	Asn	Ile	Gly	Val	Leu	Val	Arg	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys																		

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

<210> 48

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP002-Fc融合物, EP083

<400> 48

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

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 340 345 350
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365
 <210> 49
 <211> 365
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列EP018-Fc融合物, EP096
 <400> 49
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Glu Thr Gln Leu Gln Leu Lys 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
 Ser Pro Gln Asp Ser Ile Glu Asn Ile Ser Val Leu Val Arg 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 130 135 140
 Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 145 150 155 160
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 165 170 175
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 180 185 190
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 195 200 205
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 210 215 220

Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
225					230					235					240
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				245						250					255
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
				260						265					270
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
				275						280					285
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
				290						295					300
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
305						310					315				320
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
						325					330				335
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
				340						345					350
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
				355						360					365

<210> 50

<211> 366

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP011-Fc融合物, EP089

<400> 50

Ala	Thr	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu
1				5					10					15	
His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr
				20				25					30		
Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro
				35				40					45		
Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu
				50				55				60			
Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His
65						70				75					80
Leu	Trp	Ala	Ser	Asp	Ser	Ile	Glu	Asn	Ile	Thr	Leu	Leu	Ile	Gln	Glu
				85						90					95
Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr
				100						105					110

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

<210> 51

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP004-Fc融合物, EP078

<400> 51

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
Thr	Ala	Glu	Asp	Val	Val	Thr	Asn	Ile	Thr	Val	Leu	Val	Gln	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
		130					135					140			
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
145					150				155						160
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
				165					170					175	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
			180					185					190		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
		195					200					205			
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
		210				215					220				
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
225					230				235						240
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				245					250					255	
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
			260					265					270		
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
		275					280					285			
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
		290				295				300					
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly

305	310	315	320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln			
	325	330	335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn			
	340	345	350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	355	360	365
<210> 52			
<211> 365			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列EP016-Fc融合物, EP094			
<400> 52			
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 Tyr Lys Asp Ser Leu Glu Asn Met Gln Ile Ile Ile Gln 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys			
130 135 140			
Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu			
145 150 155 160			
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu			
165 170 175			
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys			
180 185 190			
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys			

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

<210> 53

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP001-Fc融合物, EP079

<400> 53

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
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
Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln 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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys		
				130					135					140			
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu		
145						150					155				160		
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu		
						165					170				175		
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys		
						180					185				190		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys		
						195					200				205		
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu		
						210					215				220		
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys		
225						230					235				240		
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys		
						245					250				255		
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser		
						260					265				270		
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys		
						275					280				285		
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln		
						290					295				300		
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly		
305						310					315				320		
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln		
						325					330				335		
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn		
						340					345				350		
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					
						355					360				365		

<210> 54

<211> 367

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP017-Fc融合物, EP095

<400> 54

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

Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
290							295					300				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
305						310				315					320	
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
				325					330					335		
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
			340					345					350			
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
	355						360					365				
<210> 55																
<211> 365																
<212> PRT																
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)																
<220>																
<223> 合成序列EP012-Fc融合物, EP090																
<400> 55																
Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Glu	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Lys	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		
Thr	Pro	Ser	Asp	Val	Ile	Glu	Asn	Met	Glu	Val	Leu	Ile	Leu	Asp	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	
	130						135					140				
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	
145					150					155					160	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	
			165						170						175	

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

<210> 56

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP013-Fc融合物, EP091

<400> 56

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Glu 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
Thr	Pro	Ser	Asp	Ala	Ile	Glu	Asn	Ile	Asn	Val	Leu	Ile	Arg	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
				130				135					140		
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
145						150					155				160
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
						165				170					175
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
						180				185				190	
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
						195				200				205	
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
						210				215				220	
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
225						230					235				240
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
						245				250					255
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
						260				265				270	
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
						275				280				285	
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
						290				295				300	
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
305						310					315				320
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
						325				330					335
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
						340				345				350	
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
						355				360				365	

<210> 57

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP015-Fc融合物, EP093

<400> 57

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Glu	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Lys	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
Thr	Pro	Ser	Asp	Val	Ile	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Leu	Val	Gln	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
		130					135					140			
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
145					150					155					160
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
				165					170					175	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
			180						185				190		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
		195						200					205		
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
		210					215						220		
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
225					230					235					240
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				245						250				255	
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser

260	265	270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
275	280	285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
290	295	300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Ala Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
305	310	315
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
325	330	335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
340	345	350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	365
<210> 58		
<211> 366		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP006-Fc融合物, EP081		
<400> 58		
Ala Thr Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu		
1	5	10
His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr		
20	25	30
Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro		
35	40	45
Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu		
50	55	60
Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His		
65	70	75
Leu Gly Val Gly Asp Thr Ile Asp Asn Ile Asn Val Leu Val Lys Glu		
85	90	95
Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr		
100	105	110
Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser		
115	120	125
Ile Ile Ser Thr Leu Thr Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr		
130	135	140
Cys Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe		

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

<210> 59

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP019-Fc融合物, EP097

<400> 59

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys			
	20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys			

35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His	Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys	
50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		
65	70	75
Ile Gly Arg Asp Ser Ile Asp Asn Ile Lys Val Ile Val Gln 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys		
130	135	140
Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu		
145	150	155
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
165	170	175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys		
180	185	190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
195	200	205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu		
210	215	220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
225	230	235
Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
245	250	255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
260	265	270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
275	280	285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
290	295	300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Ala Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
305	310	315
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
325	330	335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
340	345	350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365
 <210> 60
 <211> 365
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列EP009-Fc融合物, EP087
 <400> 60
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Trp Ala Thr Asp Thr Ile Arg Asn Val Glu Val Leu Val Gln 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 130 135 140
 Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 145 150 155 160
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 165 170 175
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 180 185 190
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 195 200 205
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 210 215 220
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
245	250	255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
260	265	270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
275	280	285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
290	295	300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Ala Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
305	310	315
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
325	330	335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
340	345	350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	365

<210> 61

<211> 365

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP005-Fc融合物, EP084

<400> 61

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
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
Thr Ala Glu Asp Val Val Thr Asn Ile Thr Val Leu Val Gln 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys			
130	135	140	
Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu			
145	150	155	160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu			
165	170	175	
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys			
180	185	190	
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys			
195	200	205	
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu			
210	215	220	
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys			
225	230	235	240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys			
245	250	255	
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser			
260	265	270	
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys			
275	280	285	
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln			
290	295	300	
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Ala Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly			
305	310	315	320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln			
325	330	335	
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn			
340	345	350	
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
355	360	365	
<210> 62			
<211> 365			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列EP010-Fc融合物, EP088			
<400> 62			
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15

Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
20				25				30							
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	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			
Thr	Ala	Glu	Asp	Val	Ile	Ser	Asn	Ile	Arg	Val	Asn	Val	Gln	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	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
130				135				140							
Pro	Leu	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
145				150				155				160			
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
165				170				175							
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
180				185				190							
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
195				200				205							
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
210				215				220							
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
225				230				235				240			
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
245				250				255							
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
260				265				270							
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
275				280				285							
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
290				295				300							
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Ala	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
305				310				315				320			
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln

	325		330		335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn					
	340		345		350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	355		360		365
<210> 63					
<211> 365					
<212> PRT					
<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
<220>					
<223> 合成序列EP014-Fc融合物, EP092					
<400> 63					
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His					
1 5 10 15					
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys					
20 25 30					
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys					
35 40 45					
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys					
50 55 60					
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu					
65 70 75 80					
Thr Pro Ser Asp Val Ile Asp Asn Val Ser Ile Thr Val Gln 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys					
130 135 140					
Pro Leu Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu					
145 150 155 160					
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu					
165 170 175					
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys					
180 185 190					
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys					
195 200 205					
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu					

210	215	220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
225	230	235
Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		240
	245	250
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		255
	260	265
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		270
	275	280
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		285
	290	295
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Ala Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		300
305	310	315
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		320
	325	330
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		335
	340	345
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		350
	355	360
		365

<210> 64

<211> 232

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列Fc结构域

<400> 64

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Leu Cys Pro Ala		
1	5	10
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		15
	20	25
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		30
	35	40
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		45
	50	55
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		60
65	70	75
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		80
	85	90
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		95

100	105	110
Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro	
115	120	125
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr	Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr	
130	135	140
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser	
145	150	155
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr	
165	170	175
Lys Ala Thr Pro Pro Val Leu Asp	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr	
180	185	190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe	
195	200	205
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys	
210	215	220
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
225	230	
<210> 65		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 65		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr	Gln Leu Gln Leu Glu His	
1	5	10
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
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> 66
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 66
 Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110
 Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140
 Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 145 150
 <210> 67
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列WT IL2 IL2R β 结合环1
 <400> 67
 Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln
 1 5 10
 <210> 68
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列WT IL2 IL2R β 结合环2

<400> 68

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

1 5 10 15

<210> 69

<211> 75

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸1

<400> 69

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 60
ttgaatggaa ttaat 75

<210> 70

<211> 81

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸2

<400> 70

agcaaaaact ttcacttaag acccaggac ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg 60
gaactaaagg gatctgaaac a 81

<210> 71

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸3

<400> 71

caattactat ttacaattac aatggctagc gcacctactt caagttctac aaagaaaaca 60

<210> 72

<211> 75

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸4

<400> 72

cttgggcatg taaaacttaa atgtgagcat cctggtgagt ttgggattct tgtaattatt 60

aattccattc aaaat 75

<210> 73

<211> 70

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸5

<400> 73

aagttttaca tgcccaagaa ggccacagaa ctgaaacatc ttcagtgtct agaagaagaa 60

ctcaaacctc 70

<210> 74

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸6

<400> 74

taagtgaag tttttgcttt gagctaaatt tagcattcc tccagaggtt tgagttcttc 60

<210> 75

<211> 75

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸7

<400> 75

ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt gaatatgctg atgagacagc aaccattgta 60

gaatttctga acaga 75

<210> 76

<211> 78

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸8

<400> 76

agatggtgca gccacagttc gagtcaagt ttagatgatg ctttgacaaa aggtaatcca 60

tctgttcaga aattctac 78

<210> 77

<211> 75

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸9

<400> 77

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 60
ttgaatggaa ttaat 75

<210> 78

<211> 81

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸10

<400> 78

agcaaaaact ttcacttaag acccaggac ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg 60
gaactaaagg gatctgaaac a 81

<210> 79

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸11

<400> 79

aagttttaca tgcccaag 18

<210> 80

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列诱变寡核苷酸12

<400> 80

taagtgaag tttttgc 17

<210> 81

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP100

<400> 81

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 Val Leu Thr Arg Met Leu Thr Ile Lys Phe Tyr Met Pro Lys			
35	40	45	
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys			
50	55	60	
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu			
65	70	75	80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu			
85	90	95	
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
100	105	110	
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile			
115	120	125	
Ile Ser Thr Leu Thr			
130			

<210> 81

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP101

<400> 82

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 Leu Lys Phe Pro Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 83		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP102		
<400> 83		
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 Asp Leu Thr Ser Met Leu Ala Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		
35 40 45		
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		
50 55 60		
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		
65 70 75 80		
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		
85 90 95		
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100 105 110		
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115 120 125		
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 84		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP103		
<400> 84		
Ser 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 Gly Leu Thr Glu Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 85

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP104

<400> 85

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 Ser Leu Thr Arg Met Leu Thr Gly Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 86

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP105

<400> 86

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	Glu	Leu	Thr	Ile	Met	Leu	Thr	Pro	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
			35				40						45		
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
			50				55						60		
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70					75					80
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
			85						90						95
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100						105					110	
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
			115					120						125	
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
			130												

<210> 87

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP106

<400> 87

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	Cys	Leu	Thr	Ala	Met	Leu	Thr	Leu	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
Arg Pro Arg Asp Leu	Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu	80
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 88		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP107		
<400> 88		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		15
20	25	30
Asn Pro Cys Leu Thr Ala Met Leu Thr Leu 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
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		80
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 89		
<211> 133		
<212> PRT		

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP108

<400> 89

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	His	Lys	Phe	Val	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
		50				55					60				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70					75					80
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
				85					90					95	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120						125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
			130												

<210> 90

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP109

<400> 90

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	Cys	Leu	Thr	Asp	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
		50				55					60				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70					75					80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 91

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP110

<400> 91

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 Leu Leu Thr Asp Met Leu Thr Arg Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 92

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP111

<400> 92

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 Leu Leu Thr Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 93

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP112

<400> 93

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 Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

				100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile	
		115					120					125				
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr												
	130															
<210>	94															
<211>	133															
<212>	PRT															
<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	合成序列EP113															
<400>	94															
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	Tyr	Met	Leu	Thr	Arg	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	
	35						40					45				
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	
	50					55					60					
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	
65				70					75					80		
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	
			85						90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	
			100					105					110			
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile	
	115						120						125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr												
	130															
<210>	95															
<211>	133															
<212>	PRT															
<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	合成序列EP114															
<400>	95															
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 Cys Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 96

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP115

<400> 96

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 Leu Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Ser Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 97

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP116

<400> 97

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 Leu Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Ser Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser Met Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 98

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP117

<400> 98

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 Tyr Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser 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
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 99		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP118		
<400> 99		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Tyr Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser 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
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 100		

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP119

<400> 100

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	Gly	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Ser	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55					60				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70				75					80	
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120						125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
			130												

<210> 101

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP120

<400> 101

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	Val	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Thr	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				
					70					75					80				
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu				
					85					90					95				
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala				
					100					105					110				
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile				
					115					120					125				
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr															
					130														

$\langle 210 \rangle$ 102

⟨211⟩ 133

⟨212⟩ PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成序列EP121

<400> 102

[illegible]

⟨210⟩ 103

⟨211⟩ 133

<212> PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

$\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成序列EP122

<400> 103

[illegible]

104 $\langle 210 \rangle$

⟨211⟩ 133

<212> PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成序列EP123

$\langle 400 \rangle$ 104

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	Val	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Phe	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55					60				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70					75					80
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu

	85		90		95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala					
	100		105		110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile					
	115		120		125
Ile Ser Thr Leu Thr					
	130				
<210> 105					
<211> 133					
<212> PRT					
<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
<220>					
<223> 合成序列EP124					
<400> 105					
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 Cys Met Leu Thr Phe 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 Ser Gln Ser Ile					
	115		120		125
Ile Ser Thr Leu Thr					
	130				
<210> 106					
<211> 133					
<212> PRT					
<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
<220>					
<223> 合成序列EP125					
<400> 106					

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	Asn	Met	Leu	Thr	Phe	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	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120						125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
		130													

<210> 107

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP126

<400> 107

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	Asn	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Ser	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55					60				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70				75					80	
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130
 <210> 108
 <211> 362
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列EP213 (WT IL2-IgG4-Fc, 杵突变:S354C, T366W, K409A)
 <400> 108
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
 130 135 140
 Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 145 150 155 160
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 165 170 175
 Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 180 185 190
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 195 200 205
 Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 210 215 220

His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
225					230					235					240
Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
				245						250					255
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Gln	Glu	Glu
				260						265					270
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				275						280					285
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				290						295					300
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
305															320
Leu	Tyr	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn
				325						330					335
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
				340						345					350
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys						
				355						360					

<210> 109

<211> 229

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP214 (IgG4-Fc,白突变:Y349C, T366S, L368A, F405K, Y407V)

<400> 109

Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe
1				5						10					15
Glu	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
				20						25					30
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
				35						40					45
Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
				50						55					60
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Gln	Ser
65										70					75
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
				85						90					95
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser
				100						105					110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125
 Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 130 135 140
 Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Arg Leu
 180 185 190
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 195 200 205
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 210 215 220
 Leu Ser Leu Gly Lys
 225
 <210> 110
 <211> 362
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列EP215 (EP001-IgG4-Fc, 杵突变:S354C, T366W, K409A)
 <400> 110
 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 Glu 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
 Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys			
130	135	140	
Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
145	150	155	160
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
	165	170	175
Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp			
	180	185	190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
	195	200	205
Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
	210	215	220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
225	230	235	240
Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
	245	250	255
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Gln Glu Glu			
	260	265	270
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
	275	280	285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
	290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
305	310	315	320
Leu Tyr Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn			
	325	330	335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
	340	345	350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
	355	360	
<210> 111			
<211> 361			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列EP216 (EP003-IgG4-Fc, 杆突变:S354C, T366W, K409A)			
<400> 111			
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			
Gly	Val	Thr	Asp	Ser	Ile	Ser	Asn	Ala	Ile	Val	Leu	Ala	Arg	Glu	Leu
85				90				95							
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
100				105				110							
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
115				120				125							
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys
130				135				140							
Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Glu	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
145				150				155				160			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
165				170				175							
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp
180				185				190							
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
195				200				205							
Glu	Gln	Phe	Gln	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
210				215				220							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
225				230				235				240			
Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
245				250				255							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Gln	Glu	Glu
260				265				270							
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
275				280				285							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
290				295				300							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
305				310				315				320			
Leu	Tyr	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn

				325					330					335			
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr		
			340					345					350				
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly									
		355					360										
<210> 112																	
<211> 362																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)																	
<220>																	
<223> 合成序列EP219																	
<400> 112																	
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	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			
Gly	Val	Thr	Asp	Ser	Ile	Ser	Asn	Ala	Ile	Val	Leu	Ala	Arg	Glu	Leu		
			85					90					95				
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala		
		100					105					110					
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile		
	115					120					125						
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys		
	130					135					140						
Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Glu	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
145			150					155					160				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
			165					170					175				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp		
		180					185					190					
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
	195					200					205						
Glu	Gln	Phe	Gln	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		

210	215	220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
225	230	235
Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		240
	245	250
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Gln Glu Glu		255
	260	265
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		270
	275	280
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		285
	290	295
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		300
305	310	315
Leu Tyr Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn		320
	325	330
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		335
	340	345
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		350
	355	360

<210> 113

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP220

<400> 113

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		15
	20	25
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys		30
	35	40
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys		45
	50	55
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		60
65	70	75
Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu		80
	85	90
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		95

100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys		
130	135	140
Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
145	150	155
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
165	170	175
Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp		
180	185	190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
195	200	205
Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
210	215	220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
225	230	235
Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
245	250	255
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Gln Glu Glu		
260	265	270
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
275	280	285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
290	295	300
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
305	310	315
Leu Tyr Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn		
325	330	335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
340	345	350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
355	360	

<210> 114

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP221

<400> 114

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

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 305 310 315 320
 Leu Tyr Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
 325 330 335
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 340 345 350
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 355 360

<210> 115

<211> 362

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP221

<400> 115

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 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 Phe
 65 70 75 80
 Asp Pro Arg Asp Val Val Ser Asn Ile Asn Val Phe Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
 130 135 140
 Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 145 150 155 160
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 165 170 175
 Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 180 185 190

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

<210> 116

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP223

<400> 116

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 Phe
 65 70 75 80

Asp	Pro	Arg	Asp	Val	Val	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Phe	Val	Leu	Glu	Leu
				85					90					95	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
		130					135					140			

<210> 117

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP224

<400> 117

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	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	Phe
65					70					75				80	
Asp	Pro	Arg	Asp	Val	Val	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Phe	Val	Leu	Glu	Leu
				85					90					95	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
		130					135					140			

<210> 118

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP225

<400> 118

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile
 100 105 110
 Ile Gln 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
 Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
 145 150 155 160
 His

<210> 119

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP226

<400> 119

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 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

Gly Val Thr Asp Ser Ile Ser Asn Ala Ile Val Leu Ala Arg Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His
130 135 140

<210> 120

<211> 156

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP239

<400> 120

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 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 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Asp Tyr Lys Asp
130 135 140
Asp Asp Asp Lys Gly Gly His His His His His His His
145 150 155

<210> 121

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP242

<400> 121

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1           5           10           15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20           25           30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35           40           45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
          50           55           60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65           70           75           80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
          85           90           95
Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Arg Val Ile
          100          105          110
Val Gln 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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
145          150          155          160
His

```

<210> 122

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP243

<400> 122

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1           5           10           15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20           25           30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35           40           45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
          50           55           60

```

Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu
65					70					75					80
Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys
				85					90					95	
Asn	Phe	His	Leu	Arg	Ala	Arg	Asp	Leu	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile
			100					105					110		
Ile	Gln	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				
Ser	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His

145	150	155	160
His			
<210> 124			
<211> 161			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列EP245			
<400> 124			
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro			
1 5 10 15			
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu			
20 25 30			
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile			
35 40 45			
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe			
50 55 60			
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu			
65 70 75 80			
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys			
85 90 95			
Asn Phe His Leu Arg Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Arg Val Ile			
100 105 110			
Ile Gln 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			
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His			
145 150 155 160			
His			
<210> 125			
<211> 161			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列EP246			
<400> 125			
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro			
1 5 10 15			

Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110
 Ile Gln 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
 Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
 145 150 155 160
 His

<210> 126

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP247

<400> 126

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile

100	105	110
Val Gln 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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His		
145	150	155
His		160
<210> 127		
<211> 161		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP248		
<400> 127		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
1	5	10
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu		15
20	25	30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile		
35	40	45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe		
50	55	60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65	70	75
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		80
85	90	95
Asn Phe His Leu Arg Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile		
100	105	110
Ile 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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His		
145	150	155
His		160
<210> 128		
<211> 161		
<212> PRT		

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP249

<400> 128

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1           5           10           15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20           25           30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35           40           45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
          50           55           60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65           70           75           80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
          85           90           95
Asn Phe His Leu Thr Pro Arg Asp Leu Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile
          100          105          110
Ile Gln 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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
145          150          155          160
His

```

<210> 129

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP250

<400> 129

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1           5           10           15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20           25           30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35           40           45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

```

50	55	60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65	70	75
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
85	90	95
Asn Phe His Leu Thr Pro Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Arg Val Ile		
100	105	110
Ile Gln 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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His		
145	150	155
His		160
<210> 130		
<211> 161		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP251		
<400> 130		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
1	5	10
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu		
20	25	30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile		
35	40	45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe		
50	55	60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65	70	75
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
85	90	95
Asn Phe His Leu Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile		
100	105	110
Ile Gln 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

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
 145 150 155 160

His

<210> 131

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP252

<400> 131

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60

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

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95

Asn Phe His Leu Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile
 100 105 110

Val Gln 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

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
 145 150 155 160

His

<210> 132

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP253

<400> 132

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1	5	10	15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu			
20	25	30	
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile			
35	40	45	
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe			
50	55	60	
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu			
65	70	75	80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys			
85	90	95	
Asn Phe His Leu Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile			
100	105	110	
Ile 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	
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His			
145	150	155	160
His			

<210> 133

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP254

<400> 133

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro			
1	5	10	15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu			
20	25	30	
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile			
35	40	45	
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe			
50	55	60	
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu			
65	70	75	80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys			
85	90	95	

Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Arg Val Ile
100 105 110
Ile Gln 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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
145 150 155 160

His

<210> 134

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP255

<400> 134

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60

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

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85 90 95

Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Leu Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Ile Gln 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

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
145 150 155 160

His

<210> 135

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP256

<400> 135

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1           5           10           15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20           25           30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35           40           45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
          50           55           60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65           70           75           80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
          85           90           95
Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Leu Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile
          100          105          110
Val Gln 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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
145          150          155          160
His

```

<210> 136

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP257

<400> 136

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1           5           10           15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20           25           30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35           40           45

```

Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe
50						55					60				
Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu
65					70					75					80
Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys
				85					90					95	
Asn	Phe	His	Leu	Thr	Ala	Arg	Asp	Leu	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile
			100					105					110		
Ile	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				
Ser	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His
145					150					155					160
His															

<210> 137

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP258

<400> 137

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	
Gly	Ser	Thr	Gly	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu
			20					25					30		
Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile
			35				40					45			
Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe
50						55					60				
Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu
65					70					75					80
Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys
				85					90					95	
Asn	Phe	His	Leu	Thr	Ala	Arg	Asp	Ala	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile
			100					105					110		
Ile	Gln	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
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His		
145	150	155 160
His		
<210> 138		
<211> 161		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP260		
<400> 138		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
1 5 10 15		
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu		
20 25 30		
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile		
35 40 45		
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe		
50 55 60		
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65 70 75 80		
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
85 90 95		
Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile		
100 105 110		
Val Gln 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		
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His		
145 150 155 160		
His		
<210> 139		
<211> 161		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP261		
<400> 139		

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Arg Val Ile
 100 105 110
 Ile 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
 Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His
 145 150 155 160
 His

<210> 140

<211> 161

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP262

<400> 140

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys

	85		90		95
Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile					
100		105		110	
Ile 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	
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His					
145	150		155		160
His					
<210> 141					
<211> 161					
<212> PRT					
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)					
<220>					
<223> 合成序列EP263					
<400> 141					
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro					
1	5		10		15
Gly Ser Thr Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu					
20		25		30	
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile					
35		40		45	
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe					
50		55		60	
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu					
65	70		75		80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys					
85		90		95	
Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile					
100		105		110	
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala					
115		120		125	
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe					
130		135		140	
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His					
145	150		155		160
His					
<210> 142					

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP280 (IgG1_Fc;白突变:Y349C, T366S, L368A, F405K, Y407V;
ADCC突变:L234A, L235A, P329G)

<400> 142

```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1           5           10           15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
           20           25           30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
           35           40           45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
           50           55           60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65           70           75           80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
           85           90           95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
           100          105          110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
           115          120          125
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
           130          135          140
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145          150          155          160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
           165          170          175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
           180          185          190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
           195          200          205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
           210          215          220
Pro Gly Lys
225
<210> 143
<211> 360

```

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP290 (WT-IL2-IgG1-Fc, T3A, C125S; Fc杵突变:S354C, T366W, K409A; ADCC突变:L234A, L235A, P329G)

<400> 143

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

260	265	270
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
275	280	285
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
290	295	300
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
305	310	315
Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
325	330	335
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
340	345	350
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
355	360	
<210> 144		
<211> 360		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP291 (EP003-IL2-IgG1-Fc, T3A, C125S; Fc杆突变:S354C, T366W, K409A; ADCC突变:L234A, L235A, P329G		
<400> 144		
Ala Pro Ala 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 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		
Gly Val Thr Asp Ser Ile Ser Asn Ala Ile Val Leu Ala Arg Glu Leu		
85 90 95		
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100 105 110		
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115 120 125		
Ile Ser Thr Leu Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
130 135 140		

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

<210> 145

<211> 360

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP297 (EP001-IL2-IgG1-Fc, T3A, C125S; Fc杆突变:S354C, T366W, K409A; ADCC突变:L234A, L235A, P329G)

<400> 145

Ala	Pro	Ala	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 Glu 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
Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp	Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu	
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe	Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala	
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn	Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile	
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Asp Lys	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala	
130	135	140
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro	
145	150	155
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val	
165	170	175
Val Asp Val Ser His Glu Asp	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val	
180	185	190
Asp Gly Val Glu Val His Asn	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln	
195	200	205
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln	
210	215	220
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala	
225	230	235
Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro	
245	250	255
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr	Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr	
260	265	270
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser	
275	280	285
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr	
290	295	300
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr	
305	310	315
Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe	
325	330	335

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 340 345 350

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360

<210> 146

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP321 (具有C125S突变的WT-IL2)

<400> 146

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His
 130 135 140

<210> 147

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP329

<400> 147

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 Gly Leu Thr Glu 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
Thr Ala Arg Asp Ala Ile Asp	Asn Ile Asn Val Ile Val Gln	Glu Leu
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe	Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu	Thr Ala
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn	Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln	Ser Ile
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser	His His His His His His	
130	135	140

<210> 148

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP330

<400> 148

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr	Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu	Glu His
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met	Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn	Tyr Lys
20	25	30
Asn Pro Gly Leu Thr Glu 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
Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser	Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln	Glu Leu
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe	Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu	Thr Ala
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn	Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln	Ser Ile
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser	His His His His His His	

130	135	140
<210> 149		
<211> 141		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP331		
<400> 149		
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 Gly Leu Thr Glu 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		
Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu Leu		
85 90 95		
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100 105 110		
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115 120 125		
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His		
130 135 140		
<210> 150		
<211> 141		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP332		
<400> 150		
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 Gly Leu Thr Glu 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	
Thr	Pro	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile	Ile	Leu	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
130						135						140			

<210> 151

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP333

<400> 151

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	Ser	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Gly	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	
Thr	Ala	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Gln	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
130						135						140			

<210> 152

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP334

<400> 152

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	Ser	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Gly	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
Thr	Ala	Arg	Asp	Ala	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Ile	Gln	Glu	Leu
					85					90					95
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
				100						105				110	
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
				115						120				125	
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	His	His	
				130						135				140	

<210> 153

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP335

<400> 153

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	Ser	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Gly	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
Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu Leu			
	85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
	100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile			
	115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His			
	130	135	140

<210> 154

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP336

<400> 154

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 Ser Leu Thr Arg Met Leu Thr Gly 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
Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Ile Leu Glu Leu			
	85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
	100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile			
	115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His			
	130	135	140

<210> 155

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP337

<400> 155

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	Leu	Leu	Thr	Asp	Met	Leu	Thr	Arg	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
Thr	Ala	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Gln	Glu	Leu
				85					90					95	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120						125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
	130						135					140			

<210> 156

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP338

<400> 156

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	Leu	Leu	Thr	Asp	Met	Leu	Thr	Arg	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
Thr	Ala	Arg	Asp	Ala	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Ile	Gln	Glu	Leu
				85					90					95	

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His
 130 135 140

<210> 157

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP339

<400> 157

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 Leu Leu Thr Asp Met Leu Thr Arg 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
 Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His
 130 135 140

<210> 158

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP340

<400> 158

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 Leu Leu Thr	Asp Met Leu Thr	Arg 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
Thr Pro Arg Asp	Ala Ile Asp Asn	Ile Arg Val Ile	Ile Leu Glu Leu
85	90	95	
Lys Gly Ser Glu Thr	Thr Phe Met Cys	Glu Tyr Ala Asp	Glu Thr Ala
100	105	110	
Thr Ile Val Glu Phe	Leu Asn Arg Trp	Ile Thr Phe Ser	Gln Ser Ile
115	120	125	
Ile Ser Thr Leu Thr	Gly Ser His His	His His His His	
130	135	140	

<210> 159

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP341

<400> 159

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	Asp Met Leu Thr	Phe Lys Phe Ser	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	
Thr Ala Arg Asp	Ala Ile Asp Asn	Ile Asn Val Ile	Val Gln Glu Leu	
85	90	95		
Lys Gly Ser Glu Thr	Thr Phe Met Cys	Glu Tyr Ala Asp	Glu Thr Ala	
100	105	110		
Thr Ile Val Glu Phe	Leu Asn Arg Trp	Ile Thr Phe Ser	Gln Ser Ile	

115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His		
130	135	140
<210> 160		
<211> 141		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP342		
<400> 160		
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 Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser 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		
Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu Leu		
85 90 95		
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100 105 110		
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115 120 125		
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His		
130 135 140		
<210> 161		
<211> 141		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP343		
<400> 161		
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	Asp	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Ser	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	
Thr	Pro	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile	Val	Gln	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100				105					110			
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
			115				120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
130						135						140			

<210> 162

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP344

<400> 162

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	Asp	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Ser	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	
Thr	Pro	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile	Ile	Leu	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100				105					110			
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
			115				120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
130						135						140			

<210> 163

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP345

<400> 163

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	Val	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Ser	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
Thr	Ala	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Gln	Glu	Leu
			85					90						95	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120						125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
		130					135						140		

<210> 164

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP346

<400> 164

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	Val	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Ser	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
Thr Ala Arg Asp Ala	Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu Leu	80
	85	90
Lys Gly Ser Glu Thr	Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala	95
	100	105
Thr Ile Val Glu Phe	Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile	110
	115	120
Ile Ser Thr Leu Thr	Gly Ser His His His His His His	125
	130	135
		140
<210> 165		
<211> 141		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成序列EP347		
<400> 165		
Ala Pro Thr Ser Ser	Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His	
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu	Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys	15
	20	25
Asn Pro Lys Leu Thr	Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser Met Pro Lys	30
	35	40
Lys Ala Thr Glu Leu	Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys	45
	50	55
Pro Leu Glu Glu Val	Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu	60
65	70	75
Thr Pro Arg Asp Ala	Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu Leu	80
	85	90
Lys Gly Ser Glu Thr	Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala	95
	100	105
Thr Ile Val Glu Phe	Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile	110
	115	120
Ile Ser Thr Leu Thr	Gly Ser His His His His His His	125
	130	135
		140
<210> 166		
<211> 141		
<212> PRT		

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP348

<400> 166

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	Val	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Ser	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
Thr	Pro	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile	Ile	Leu	Glu	Leu
			85						90					95	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
	130					135					140				

<210> 167

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP349

<400> 167

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	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

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile Val Gln Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His
130 135 140

<210> 168

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP350

<400> 168

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 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
Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His
130 135 140

<210> 169

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP351

<400> 169

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	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	
Thr	Pro	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile	Val	Gln	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
			115					120					125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His			
		130					135					140			

<210> 170

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP352

<400> 170

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	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	
Thr	Pro	Arg	Asp	Ala	Ile	Asp	Asn	Ile	Arg	Val	Ile	Ile	Leu	Glu	Leu
			85					90					95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala

100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Ser His His His His His His		
130	135	140

<210> 171
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 171
aactacaaga accccnnsct gaccnnsatg ctgaccttca agttctacat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 172
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 172
aactacaaga accccnnsct gacccgatg ctgaccnnsa agttctacat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 173
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature

<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 173
aactacaaga accccnnsct gacccggatg ctgaccttca agttcnnsat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 174
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 174
aactacaaga accccaagct gaccnnsatg ctgaccnnsa agttctacat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 175
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 175
aactacaaga accccaagct gaccnnsatg ctgaccttca agttcnnsat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 176
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature

<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 176
aactacaaga accccaagct gacccggatg ctgaccnnsa agttcnnsat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 177
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 177
aactacaaga accccnnsct gaccnnsatg ctgaccnnsa agttctacat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 178
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature
<222> (1) ... (66)
<223> n = A,T,C或G
<400> 178
aactacaaga accccnnsct gacccggatg ctgaccnnsa agttcnnsat gcctaagaag 60
gccacc 66
<210> 179
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<220>
<221> misc_feature

<222> (1) ... (66)

<223> n = A,T,C或G

<400> 179

aactacaaga accccaagct gaccnnsatg ctgaccnnsa agttcnnsat gcctaagaag 60
gccacc 66

<210> 180

<211> 66

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 180

aactacaaga accccaagct gacccgatg ctgaccgcca agttctacat gcctaagaag 60
gccacc 66

<210> 181

<211> 66

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 181

aactacaaga accccaagct gacccgatg ctgaccgcca agttctacat gcctaagaag 60
gccacc 66

<210> 182

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 182

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr
1 5 10

<210> 183

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 183

Pro Val Leu Thr Arg Met Leu Thr Ile Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 184

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 184

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Leu Lys Phe Pro

1 5 10

<210> 185

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 185

Pro Asp Leu Thr Ser Met Leu Ala Phe Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 186

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 186

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

1 5 10

<210> 187

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 187

Pro Ser Leu Thr Arg Met Leu Thr Gly Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 188

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 188

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

1 5 10

<210> 189

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 189

Pro Cys Leu Thr Ala Met Leu Thr Leu Lys Phe Ala

1 5 10

<210> 190

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 190

Pro Cys Leu Thr Ala Met Leu Thr Leu Lys Phe Ala

1 5 10

<210> 191

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 191

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr His Lys Phe Val

1 5 10

<210> 192

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 192

Pro Cys Leu Thr Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 193

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 193

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

1 5 10

<210> 194

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 194

Pro Leu Leu Thr Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 195

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 195

Pro Lys Leu Thr Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 196

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 196

Pro Lys Leu Thr Tyr Met Leu Thr Arg Lys Phe Tyr
1 5 10
<210> 197
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<400> 197
Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Cys
1 5 10
<210> 198
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<400> 198
Pro Lys Leu Thr Ser Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser
1 5 10
<210> 199
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<400> 199
Pro Lys Leu Thr Ser Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser
1 5 10
<210> 200
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成序列
<400> 200
Pro Lys Leu Thr Tyr Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser
1 5 10
<210> 201

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 201

Pro Lys Leu Thr Tyr Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 202

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 202

Pro Lys Leu Thr Gly Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 203

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 203

Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Thr

1 5 10

<210> 204

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 204

Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 205

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 205

Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Pro
1 5 10

<210> 206

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 206

Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Phe
1 5 10

<210> 207

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 207

Pro Lys Leu Thr Cys Met Leu Thr Phe Lys Phe Ala
1 5 10

<210> 208

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 208

Pro Lys Leu Thr Asn Met Leu Thr Phe Lys Phe Ala
1 5 10

<210> 209

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 209

Pro Lys Leu Thr Asn Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 210

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP242 β 区2基序

<400> 210

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 211

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP247 β 区2

<400> 211

Arg Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 212

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP251 β 区2

<400> 212

Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 213

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP252 β 区2

<400> 213

Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 214

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP253 β 区2

<400> 214

Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Ile Leu Glu

1 5 10 15

<210> 215

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP258 β 区2

<400> 215

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 216

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP260 β 区2

<400> 216

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 217

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列EP263 β 区2

<400> 217

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

1 5 10 15

<210> 218

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 218

Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 219

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 219

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 220

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 220

Gly Gly Gly Ser

1

APTSSSTKKTQLOLEHLLLDLOMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFMPPKATELKHLOCLEE
ELKPLEEVNLIAQSKNFHLPRLISNINVIIVLELKGSETTFMCEYADETATIVFEFLNRWI
TFCQSIISTLT (SEQ ID NO: 22)

图1A

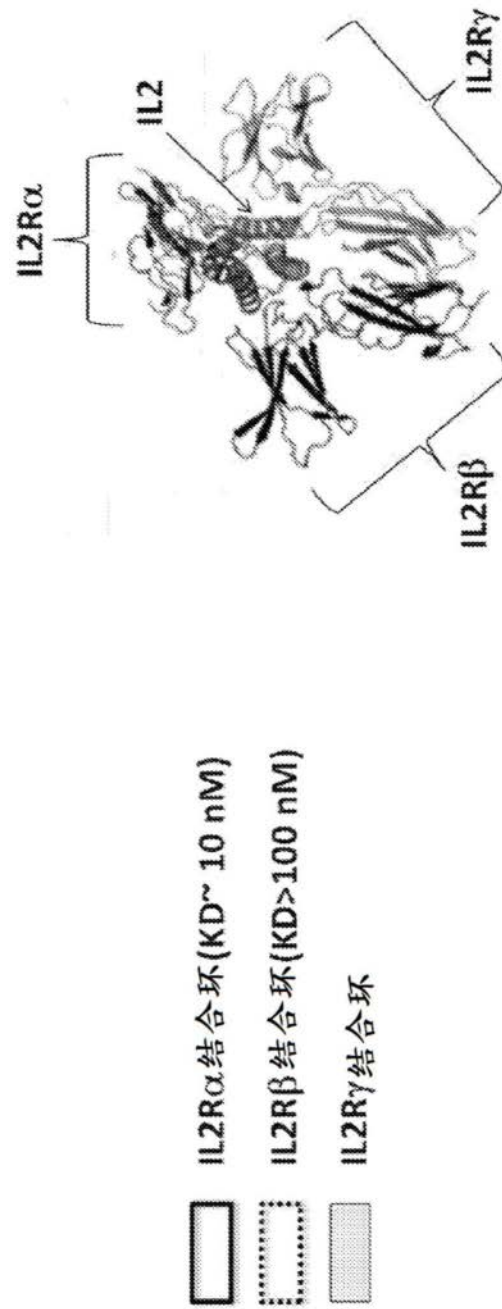


图1B

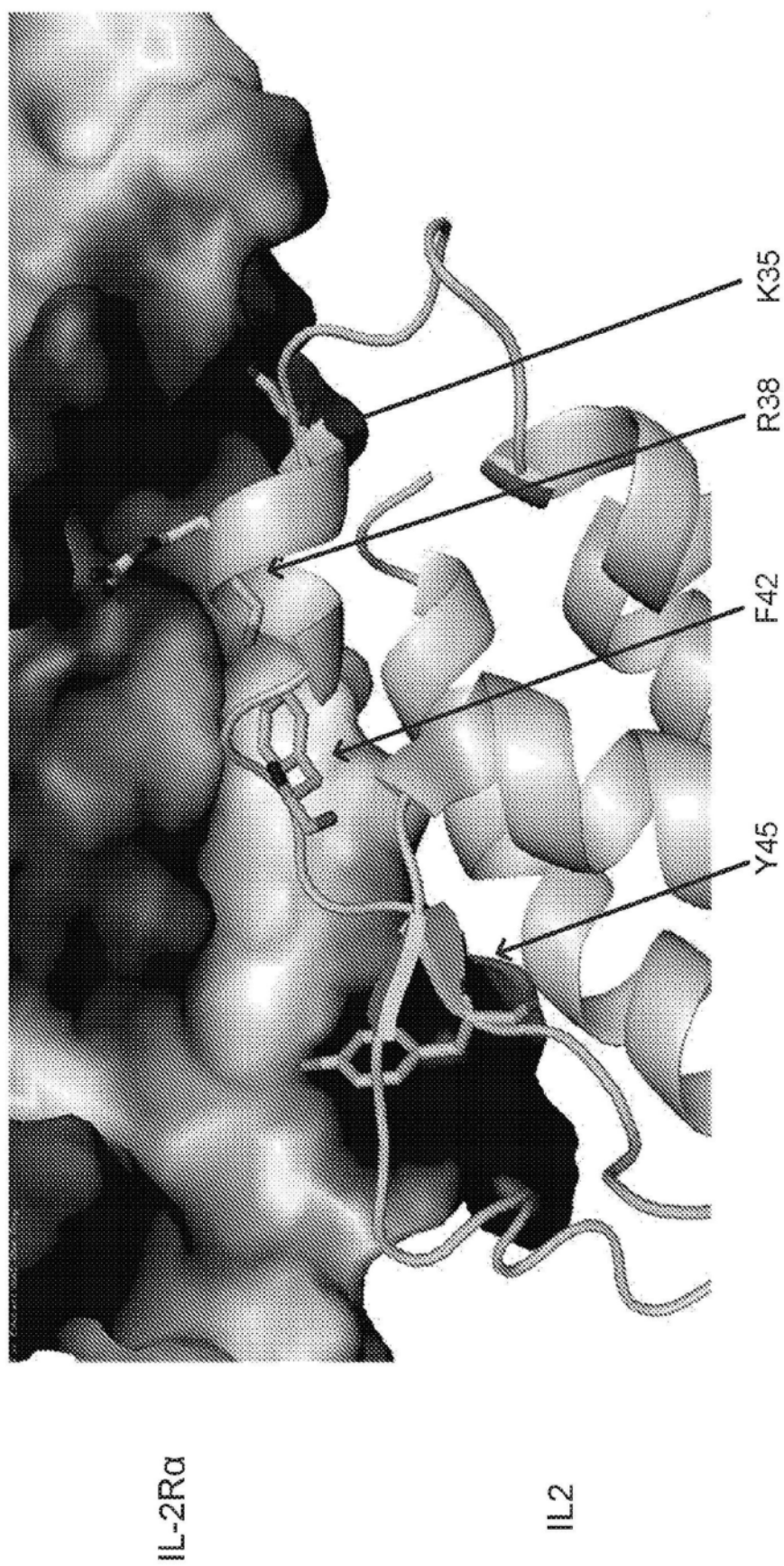


图1C

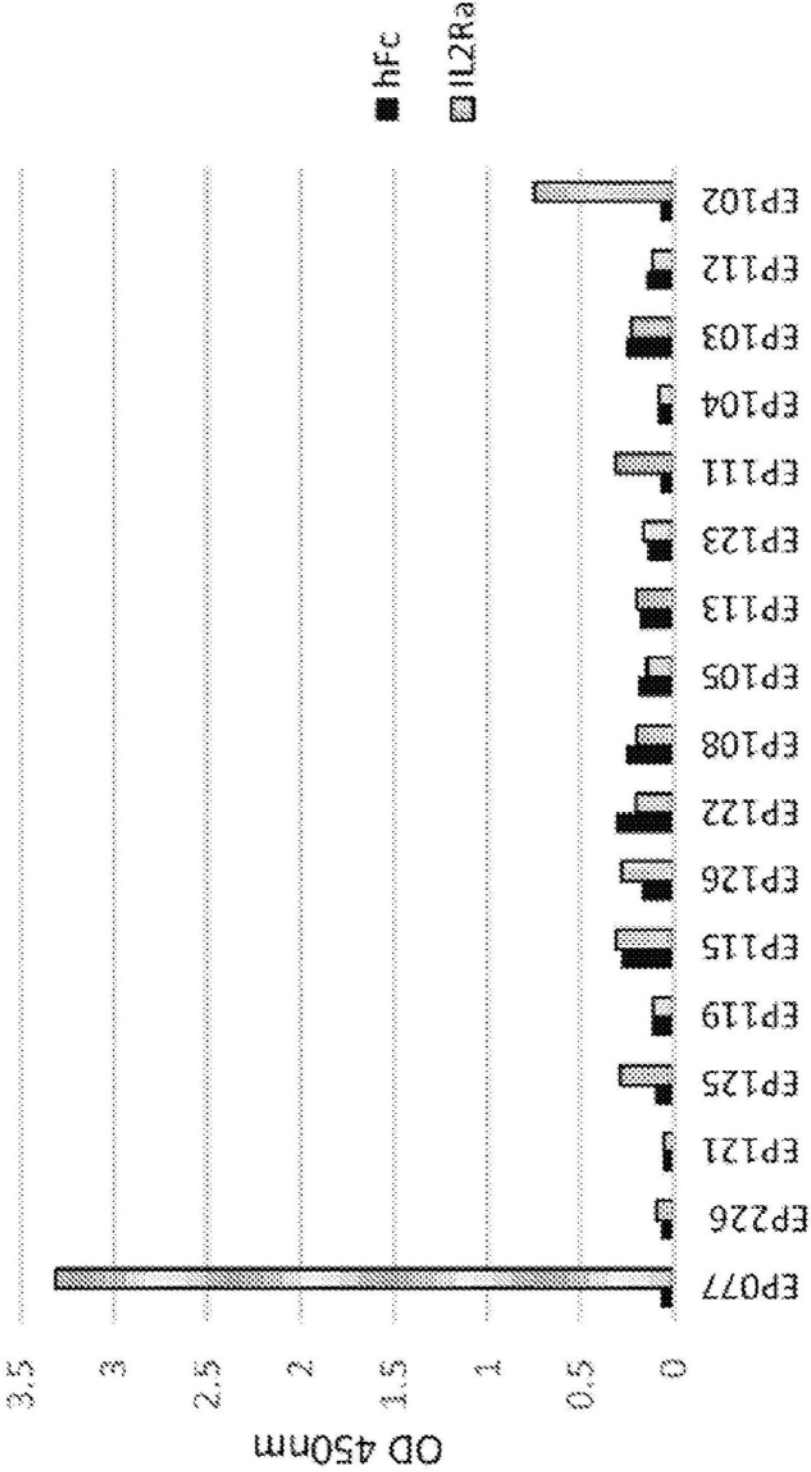


图2A

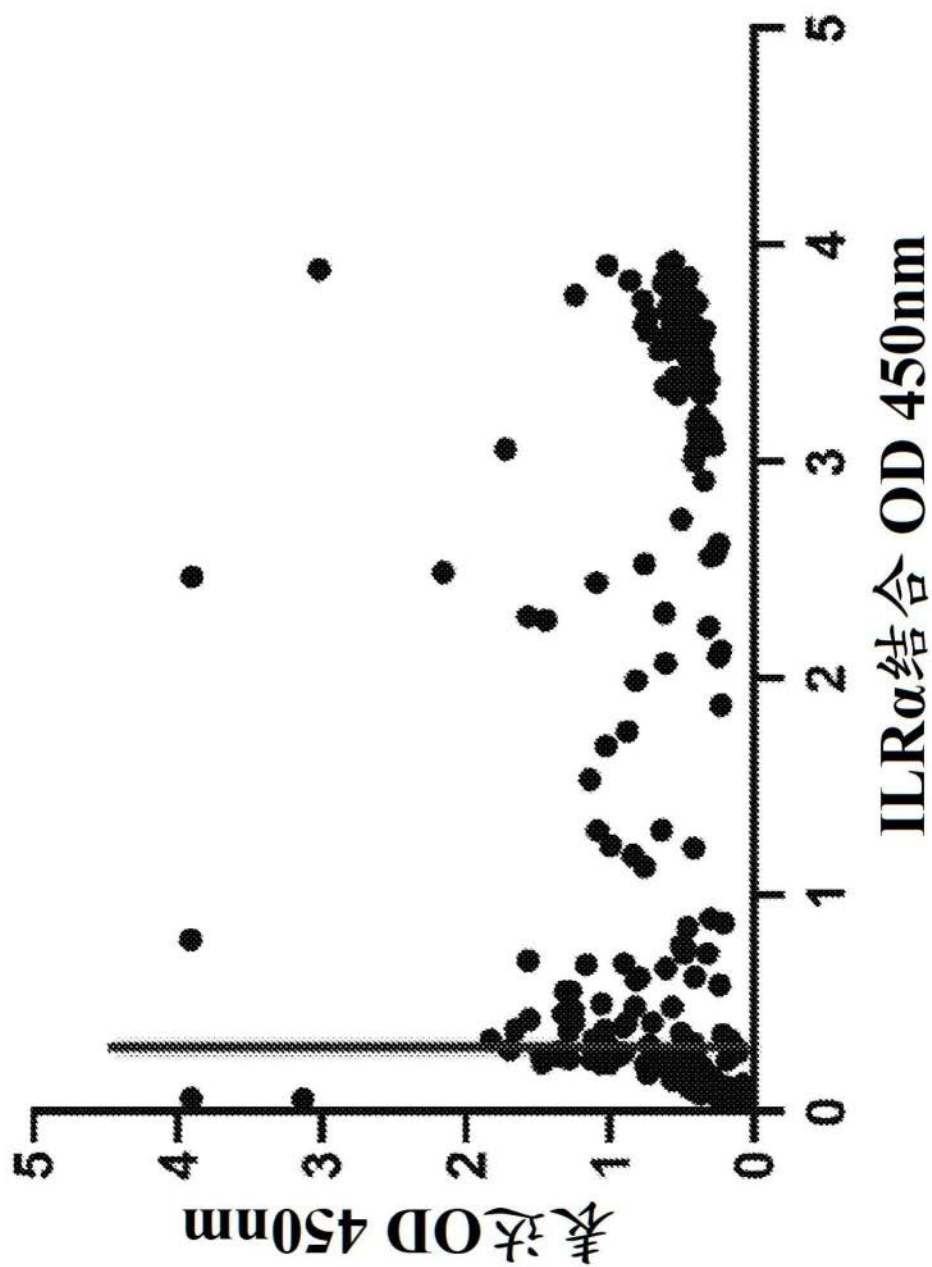


图2B

表3. 鉴定的IL2Ra减少的克隆的诱变位点序列比对

克隆名称	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	SEQ ID NO:
WT IL2	P	K	L	T	R	M	L	T	F	K	F	Y	182
EP100	P	V	L	T	R	M	L	T	I	K	F	Y	183
EP101	P	K	L	T	R	M	L	T	L	K	F	P	184
EP102	P	D	L	T	S	M	L	A	F	K	F	Y	185
EP103	P	G	L	T	E	M	L	T	F	K	F	Y	186
EP104	P	S	L	T	R	M	L	T	G	K	F	Y	187
EP105	P	E	L	T	I	M	L	T	P	K	F	Y	188
EP106	P	C	L	T	A	M	L	T	L	K	F	A	189
EP107	P	C	L	T	A	M	L	T	L	K	F	A	190
EP108	P	K	L	T	R	M	L	T	H	K	F	V	191
EP109	P	C	L	T	D	M	L	T	F	K	F	Y	192
EP110	P	L	L	T	D	M	L	T	R	K	F	Y	193
EP111	P	L	L	T	D	M	L	T	F	K	F	Y	194
EP112	P	K	L	T	D	M	L	T	F	K	F	S	195
EP113	P	K	L	T	Y	M	L	T	R	K	F	Y	196
EP114	P	K	L	T	R	M	L	T	F	K	F	C	197
EP115	P	K	L	T	S	M	L	T	F	K	F	S	198
EP116	P	K	L	T	S	M	L	T	F	K	F	S	199
EP117	P	K	L	T	V	M	L	T	F	K	F	S	200
EP118	P	K	L	T	Y	M	L	T	F	K	F	S	201
EP119	P	K	L	T	G	M	L	T	F	K	F	S	202
EP120	P	K	L	T	V	M	L	T	F	K	F	T	203
EP121	P	K	L	T	V	M	L	T	F	K	F	S	204
EP122	P	K	L	T	V	M	L	T	F	K	F	P	205
EP123	P	K	L	T	V	M	L	T	F	K	F	F	206
EP124	P	K	L	T	C	M	L	T	F	K	F	A	207
EP125	P	K	L	T	N	M	L	T	F	K	F	A	208
EP126	P	K	L	T	N	M	L	T	F	K	F	S	209

图3

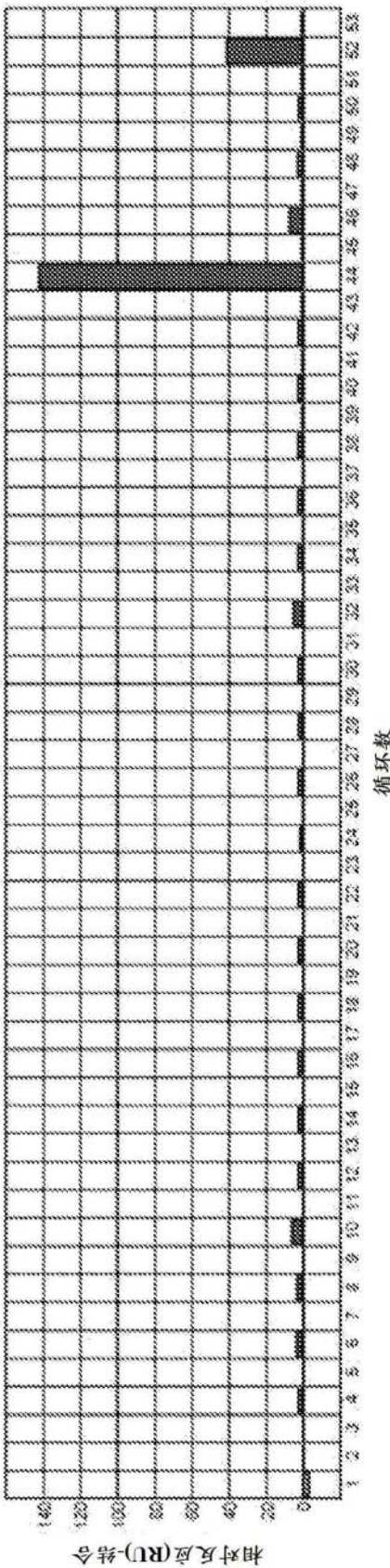


图4

诱变文库:

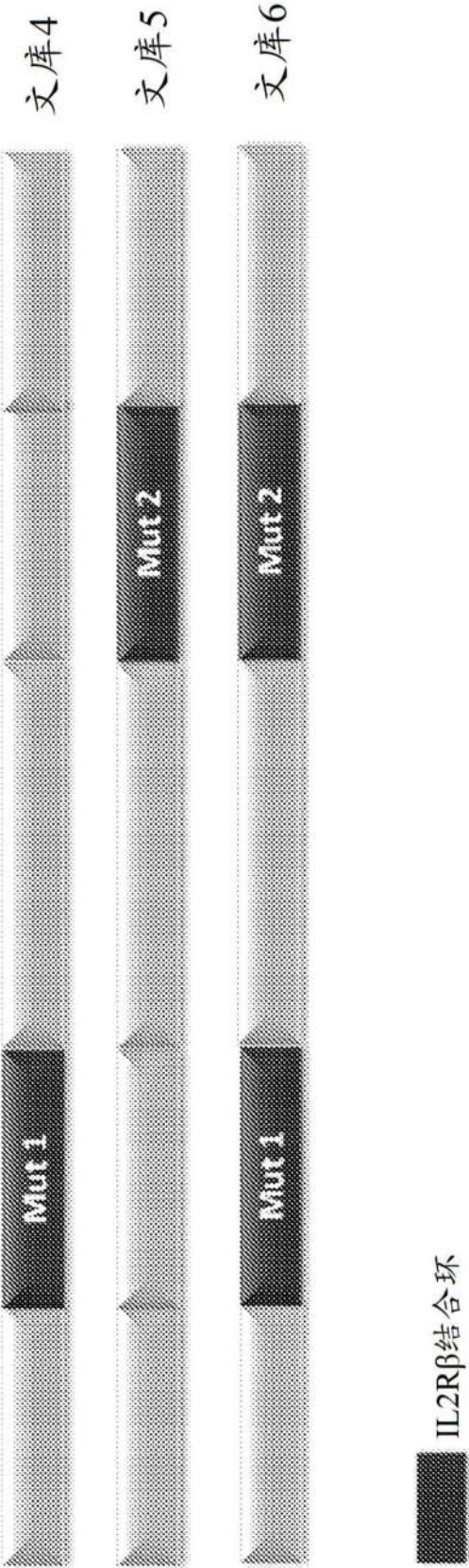


图5

IL2突变体文库2表达和结合

细菌上清液筛选

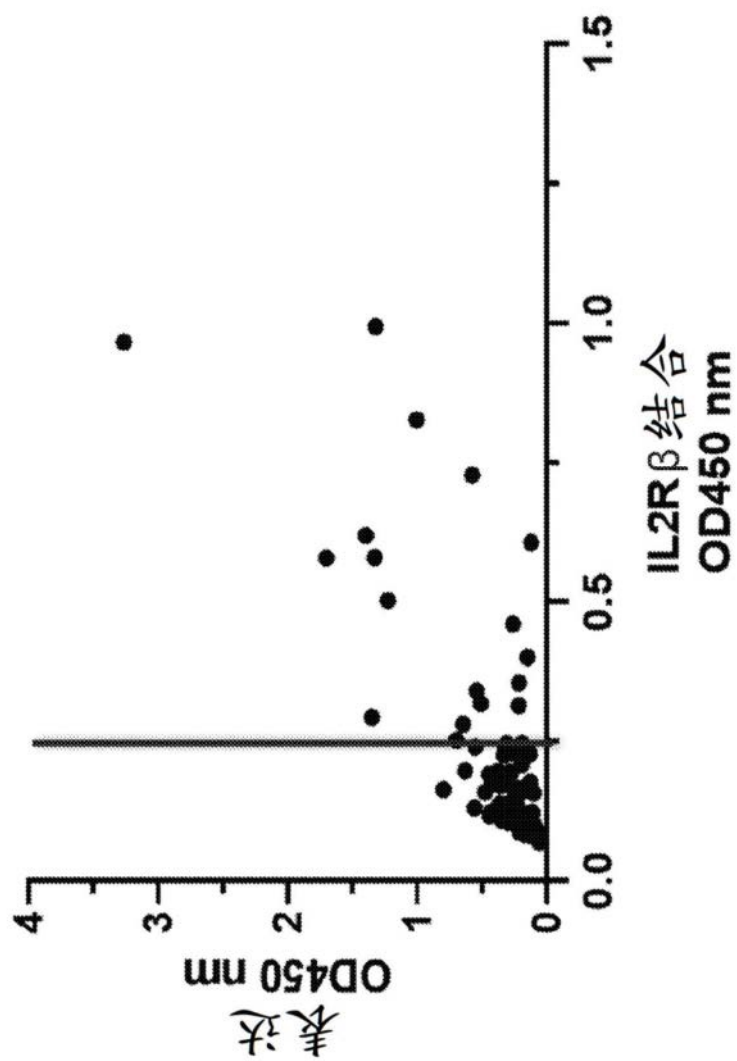


图9

鉴定的IL2Rβ激动剂克隆的诱变位点序列比对																					SEQ ID NO:
克隆名称	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95						
WT IL2	R	P	R	D	L	I	S	N	I	N	V	I	V	L	E						68
EP003	G	V	T	D	S	I	S	N	A	I	V	L	A	R	E						2
EP008	K	W	G	D	A	V	S	N	A	R	V	L	A	G	E						3
EP007	K	W	G	D	A	V	S	N	A	R	V	L	A	G	A						4
EP020	T	L	M	D	T	T	D	N	I	G	V	L	V	R	E						5
EP002	E	P	S	D	V	I	S	N	I	N	V	L	V	Q	E						6
EP018	S	P	Q	D	S	I	E	N	I	S	V	L	V	R	E						7
EP011	W	A	S	D	S	I	E	N	I	T	L	L	I	Q	E						8
EP004	C	P	T	D	T	I	E	N	I	T	V	L	I	Q	E						9
EP016	R	Y	K	D	S	L	E	N	M	Q	I	I	I	Q	E						10
EP001*	T	A	R	D	A	V	D	N	M	R	V	I	I	Q	E						11
EP001*	T	A	R	D	A	V	D	N	M	R	V	I	I	Q	E						11
EP001*	T	A	R	D	A	V	D	N	M	R	V	I	I	Q	E						11
EP017	T	P	R	D	V	V	E	N	M	N	V	L	V	L	E						12
EP012*	T	P	S	D	V	I	E	N	M	E	V	L	I	L	D						13
EP012*	T	P	S	D	V	I	E	N	M	E	V	L	I	L	D						13
EP013	T	P	S	D	A	I	E	N	I	N	V	L	I	R	E						14
EP015	T	P	S	D	V	I	E	N	I	T	V	L	V	Q	E						15
EP006	G	V	G	D	T	I	D	N	I	N	V	L	V	K	E						16
EP019	I	G	R	D	S	I	D	N	I	K	V	I	V	Q	E						17
EP009	W	A	T	D	T	I	R	N	V	E	V	L	V	Q	E						18
EP005	T	A	E	D	V	V	T	N	I	T	V	L	V	Q	E						19
EP010	T	A	E	D	V	I	S	N	I	R	V	N	V	Q	E						20
EP014	T	P	S	D	V	I	D	N	V	S	I	T	V	Q	E						21

*表示在筛选过程中发现了多于一次的序列

图7

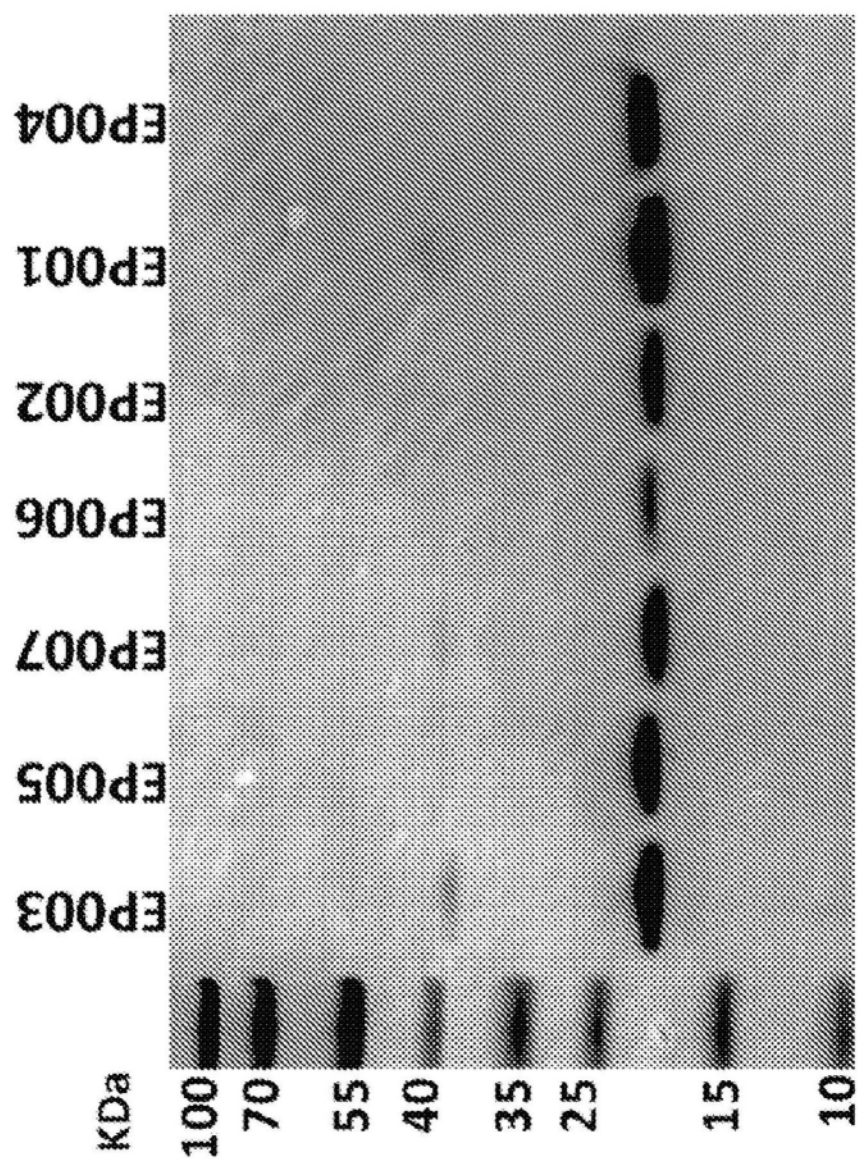


图8

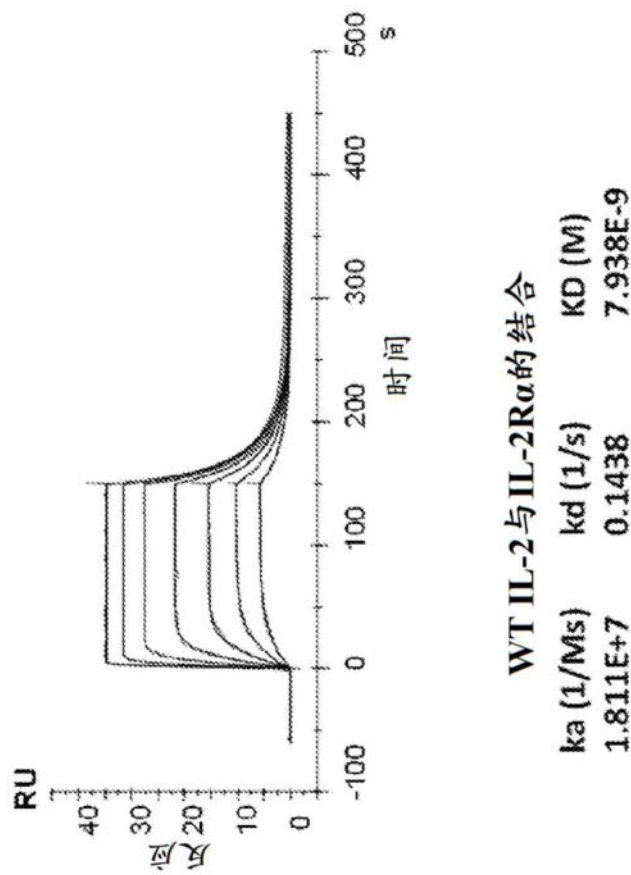
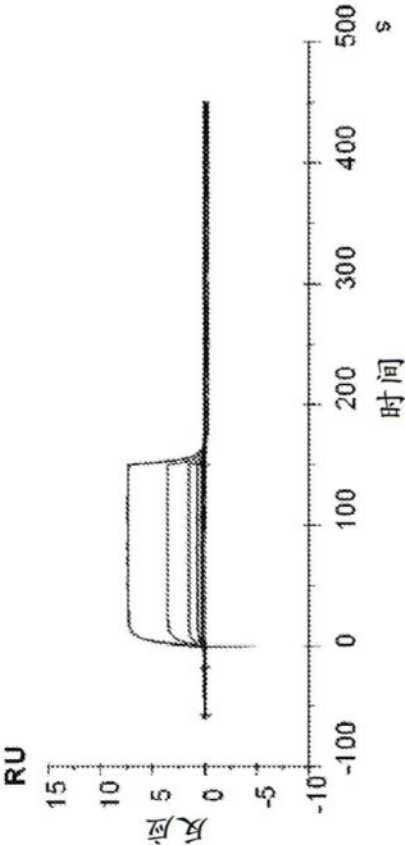


图9A



WT IL-2与IL-2Rβ的结合

ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
5.826E+4	0.2530	4.343E-6

图9B

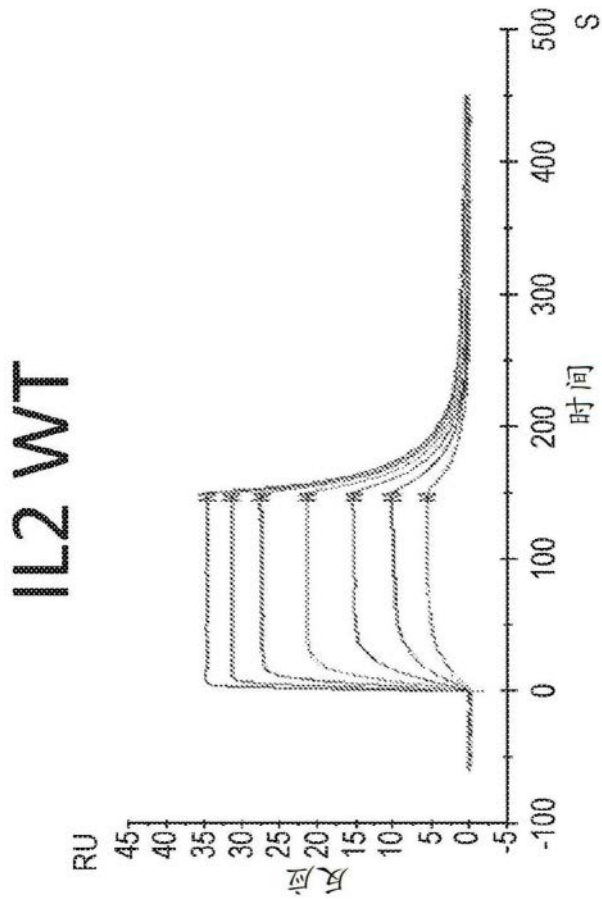


图10A

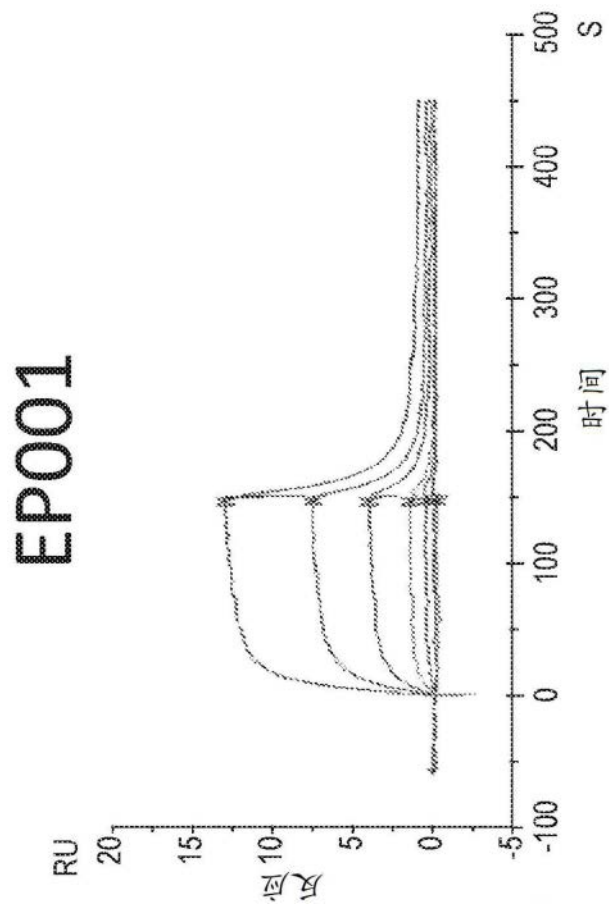


图10B

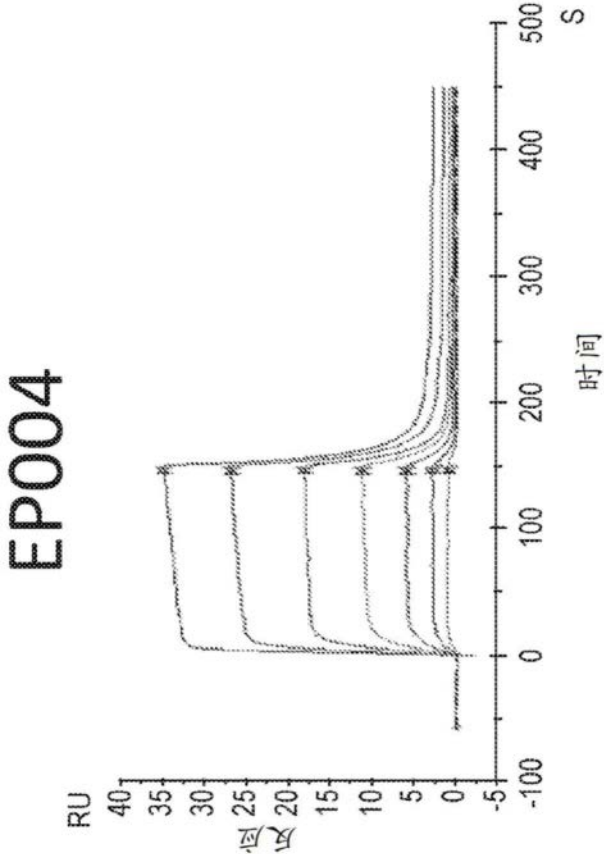


图10C

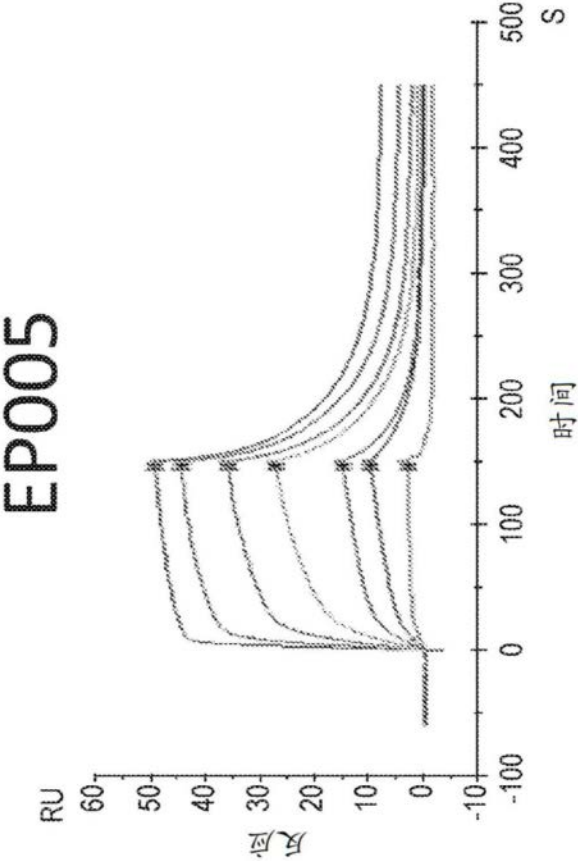


图10D

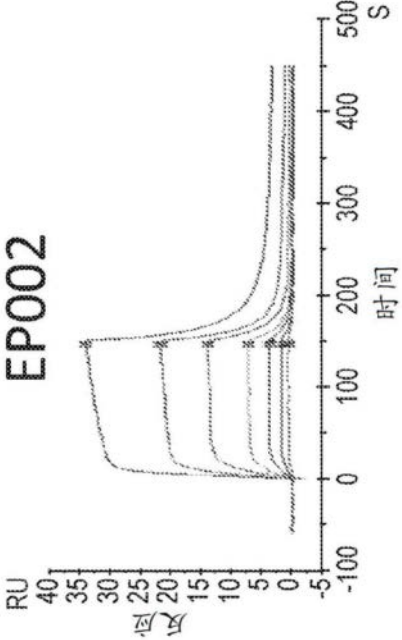


图10E

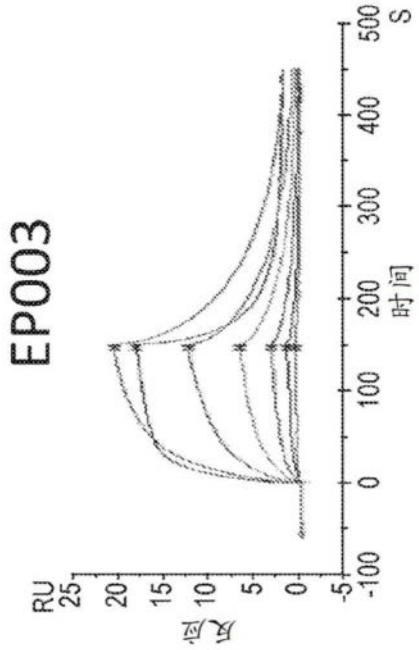


图10F

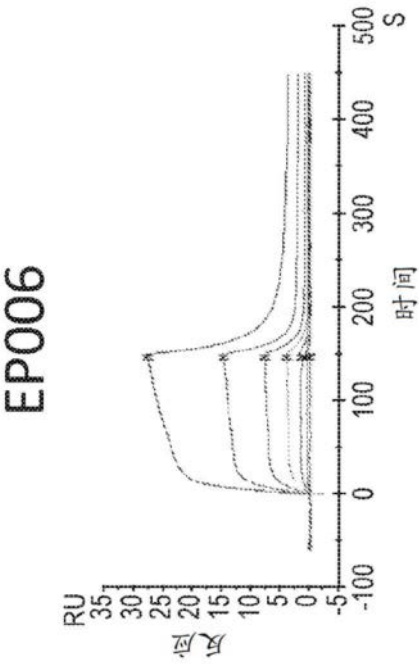


图10G

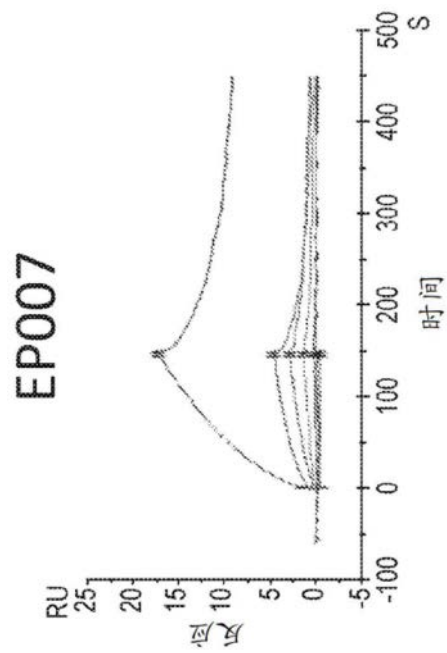


图10H

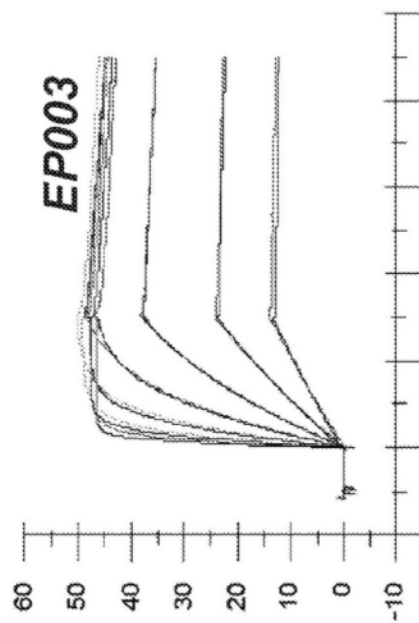


图11A

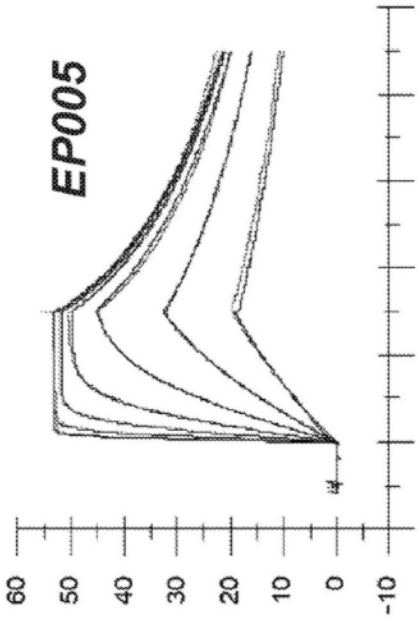


图11B

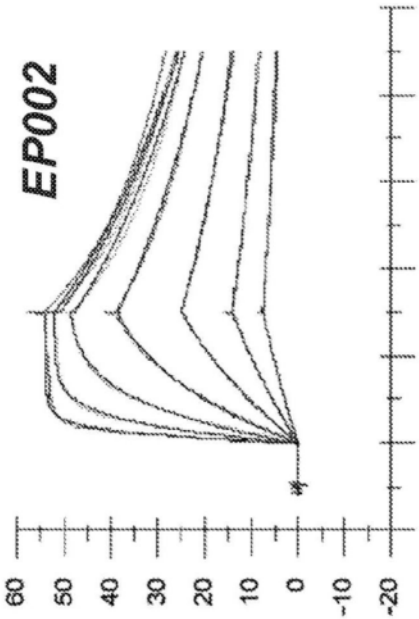


图11C

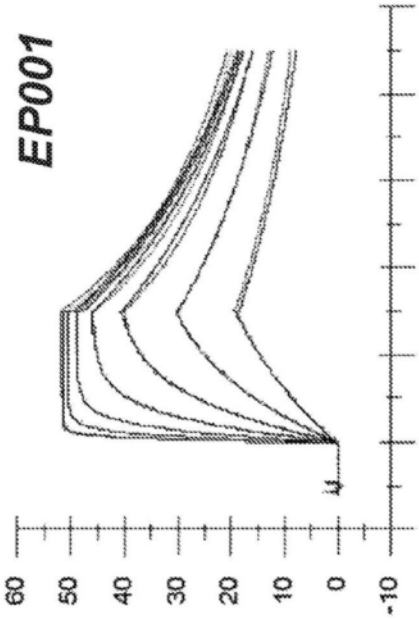


图11D

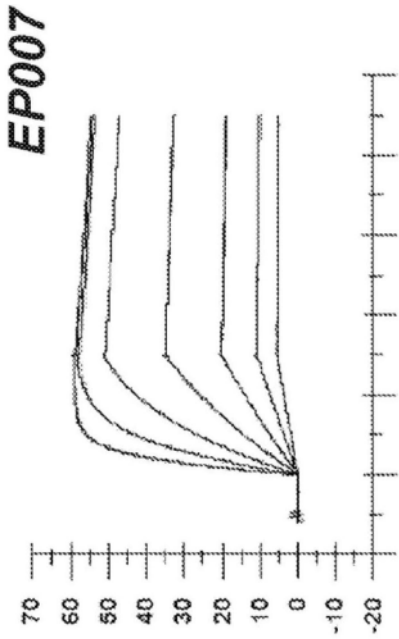


图11E

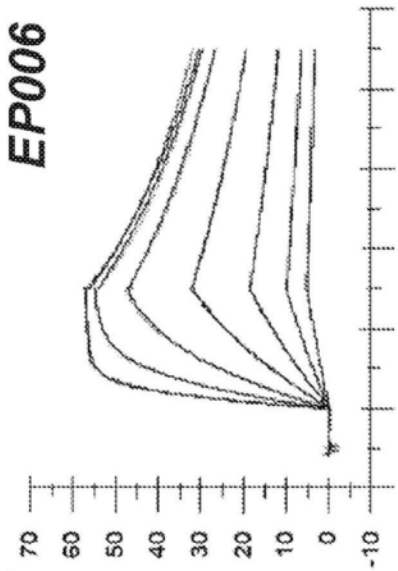


图11F

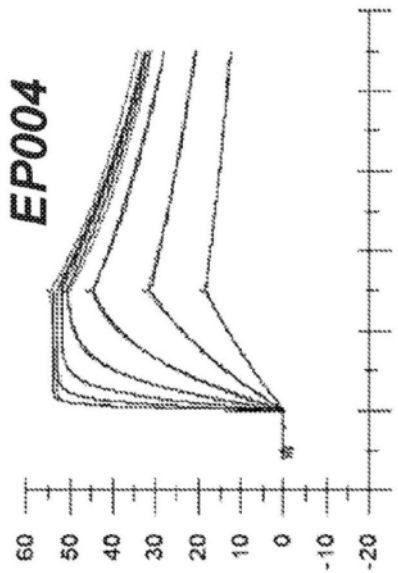


图11G

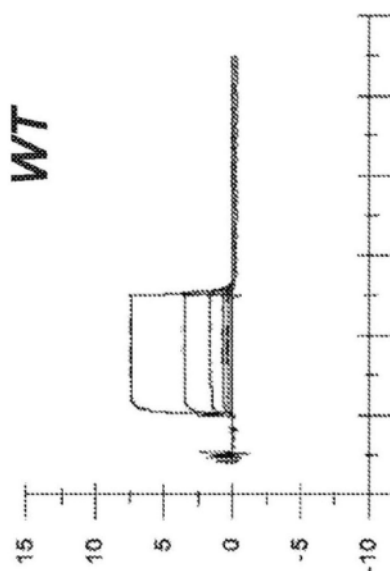


图11H

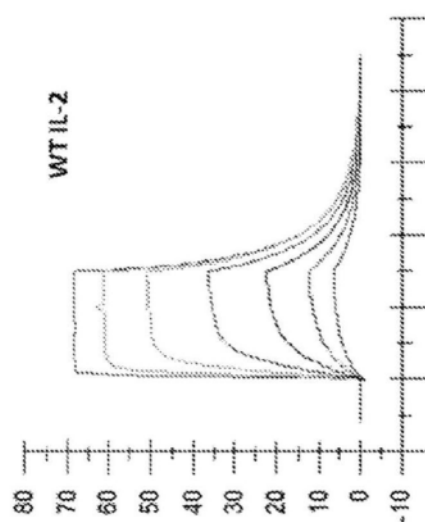


图12A

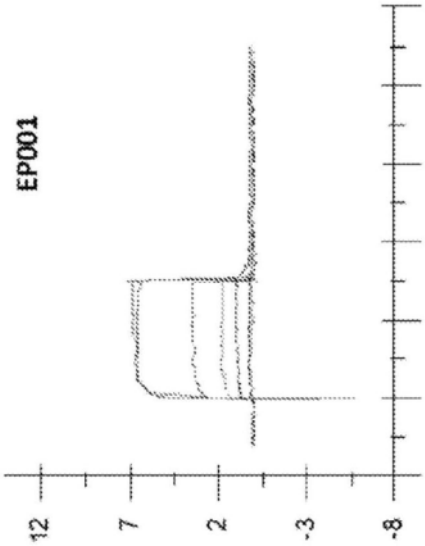


图12B

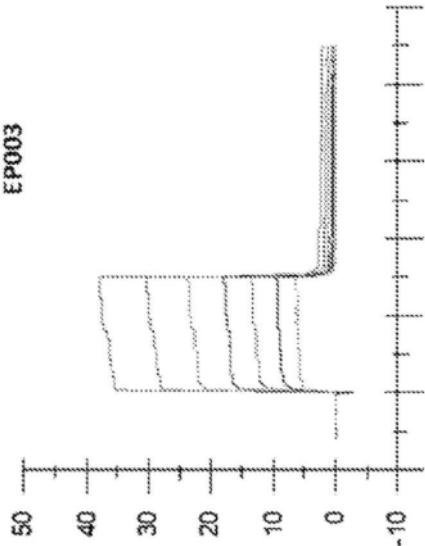


图12C

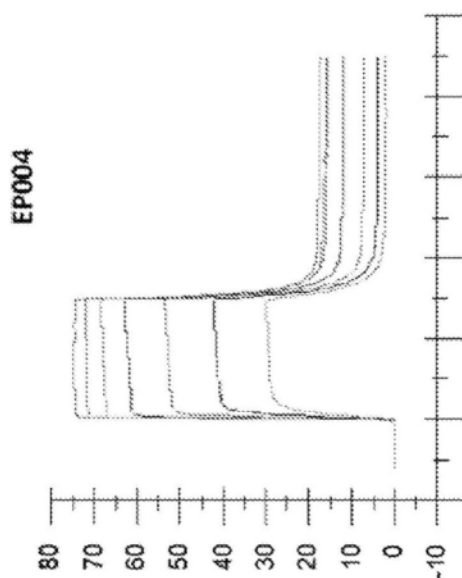


图12D

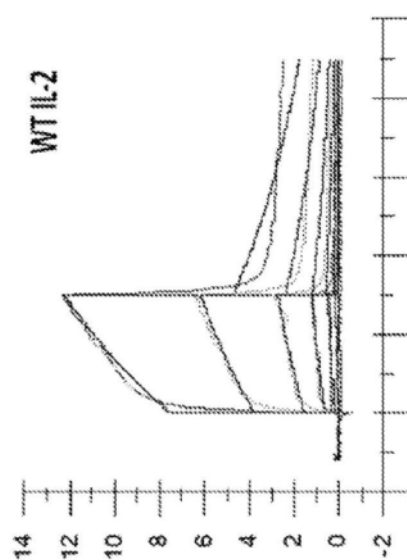


图13A

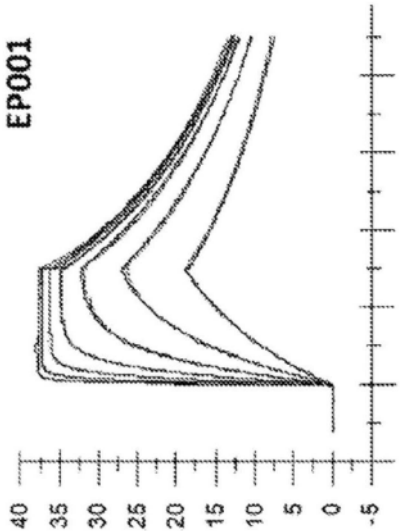


图13B

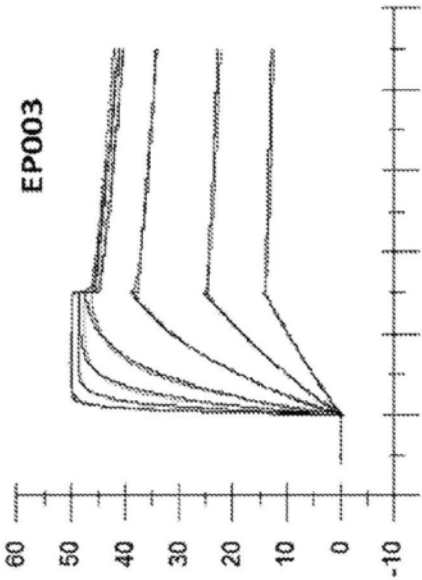


图13C

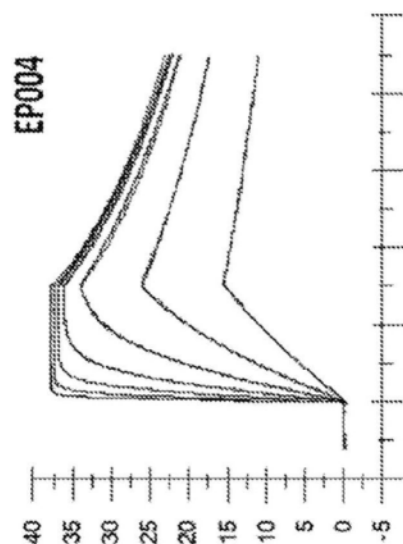


图13D

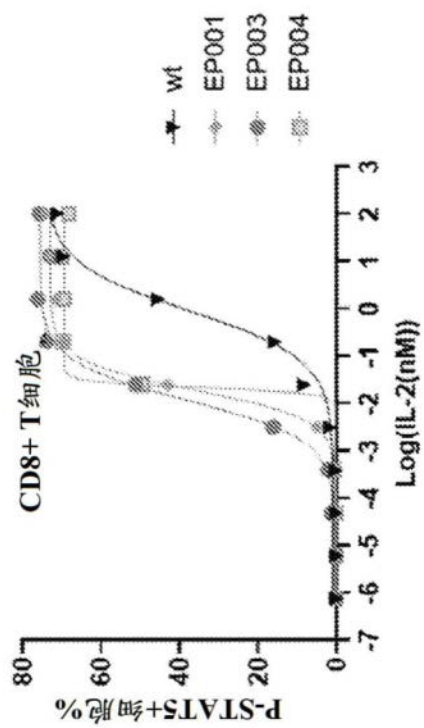


图14A

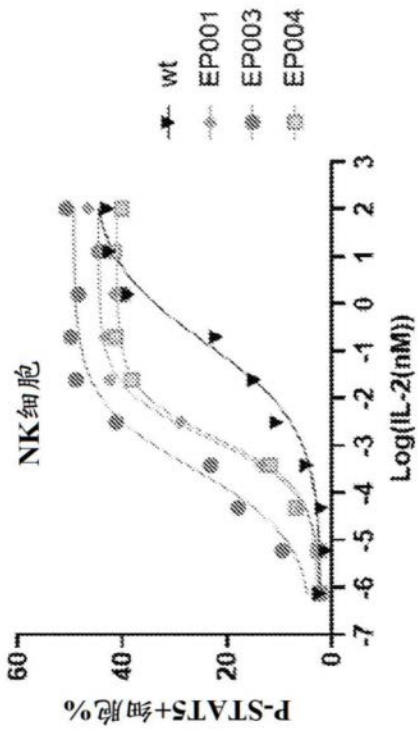


图14B

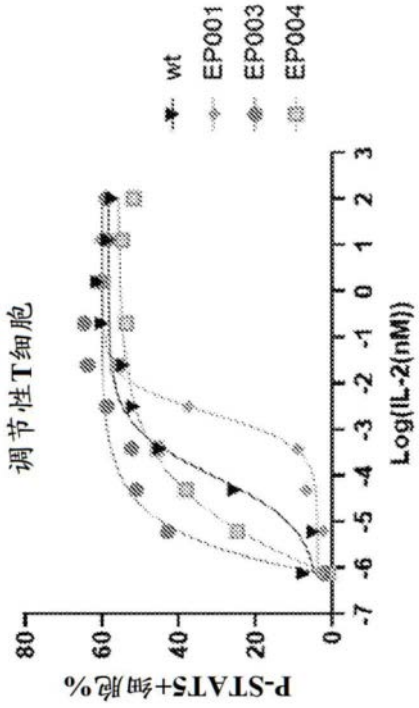


图14C

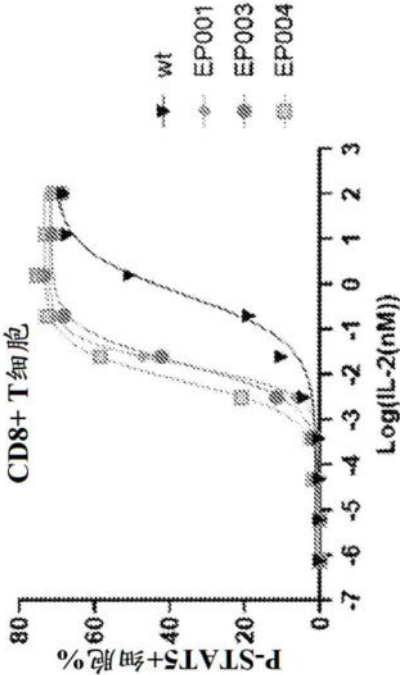


图14D

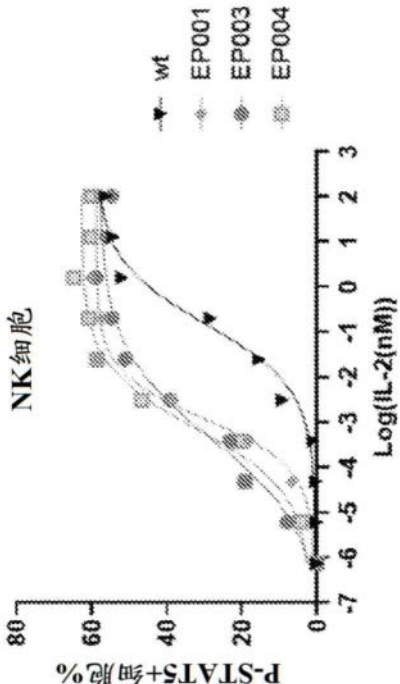


图14E

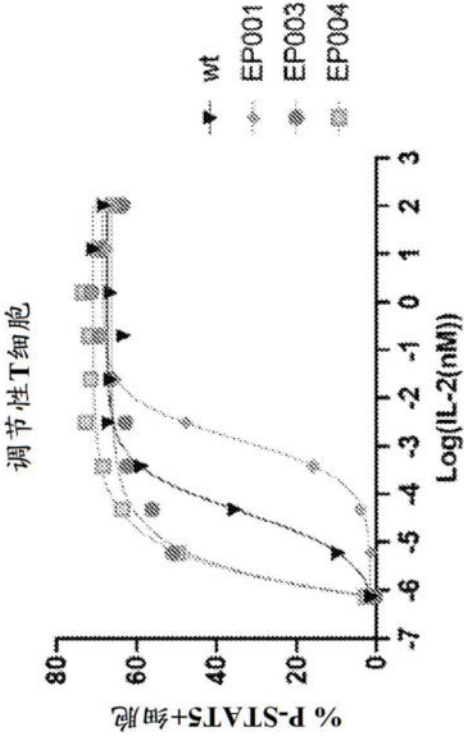


图14F

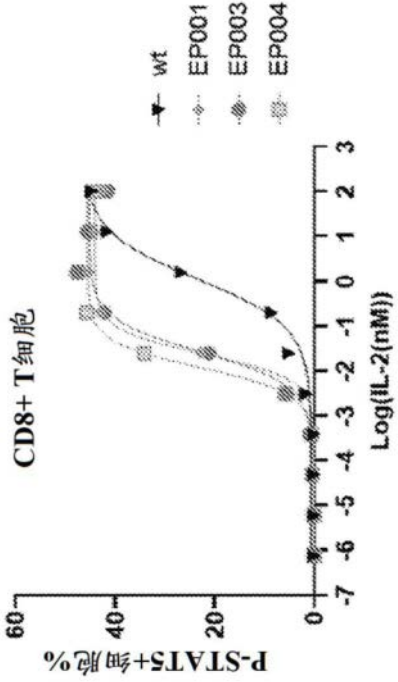


图14G

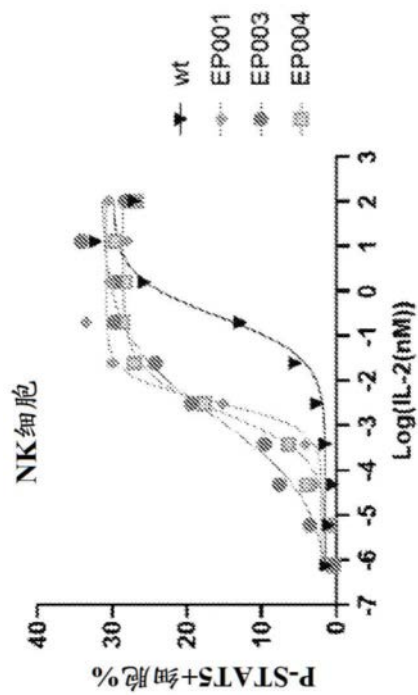


图14H

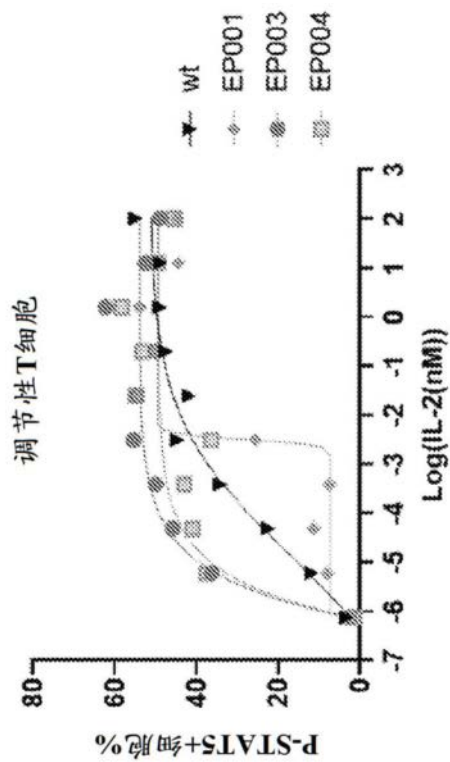


图14I

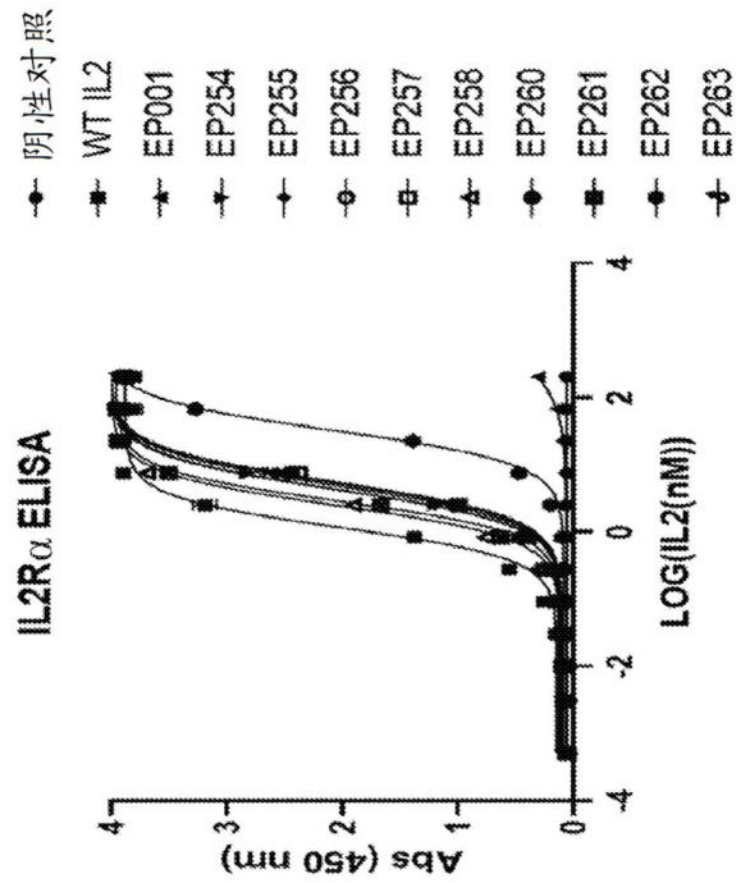


图15A

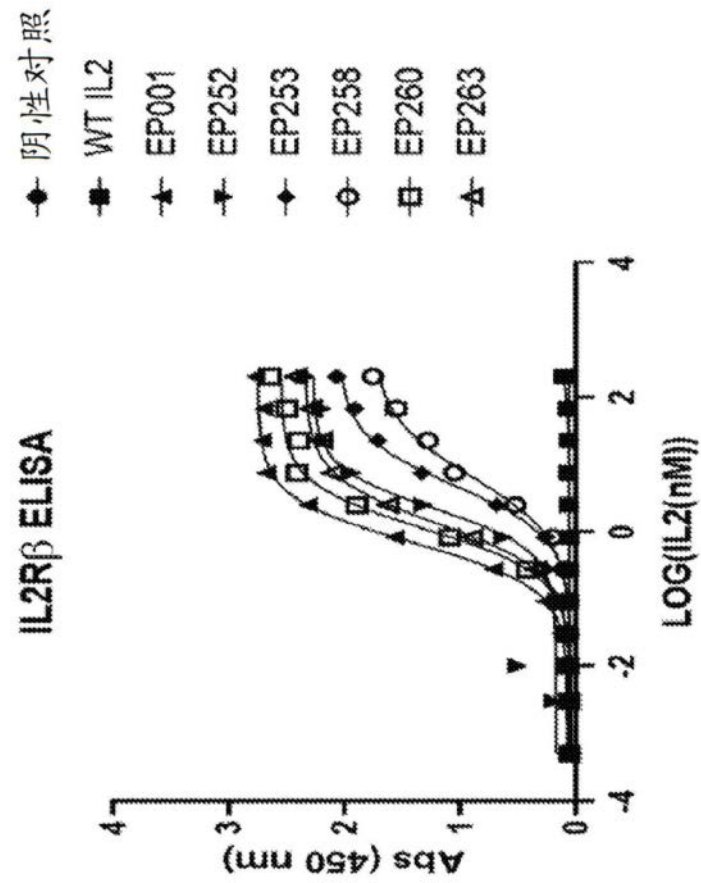


图15B

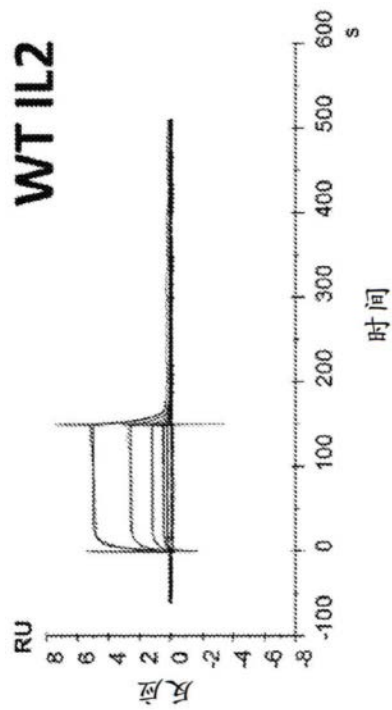


图16A

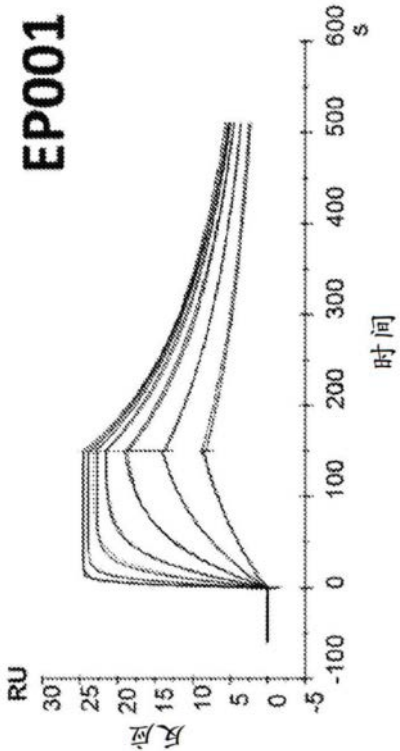


图16B

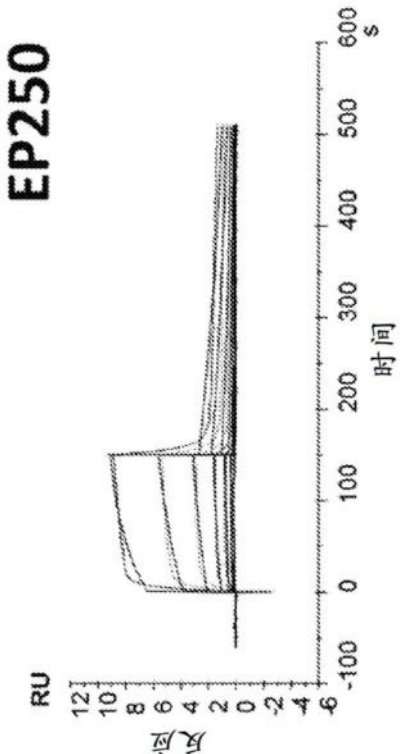


图16C

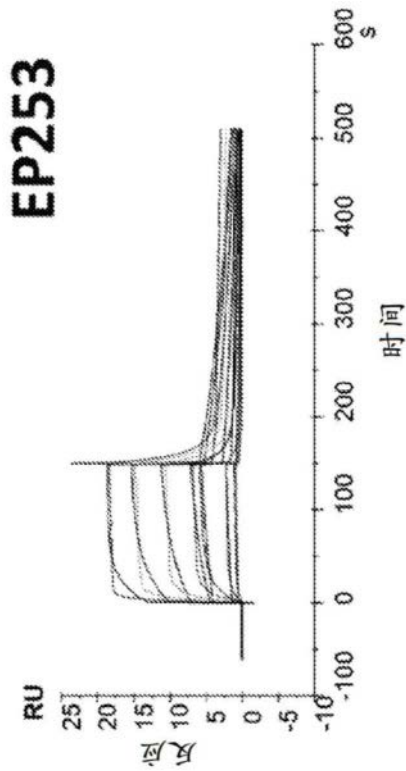


图16D

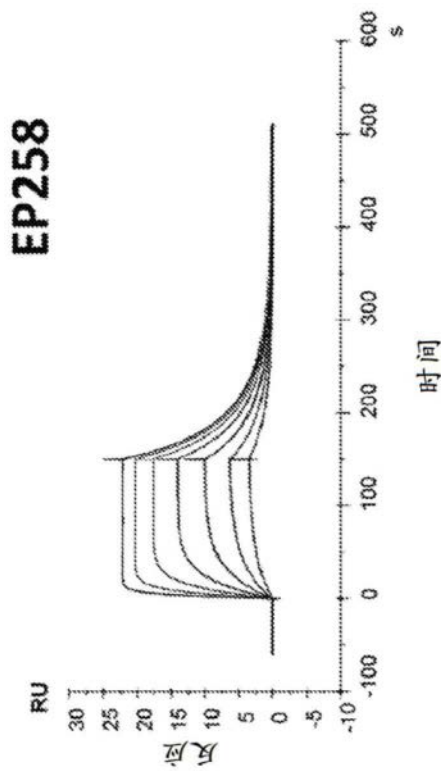


图16E

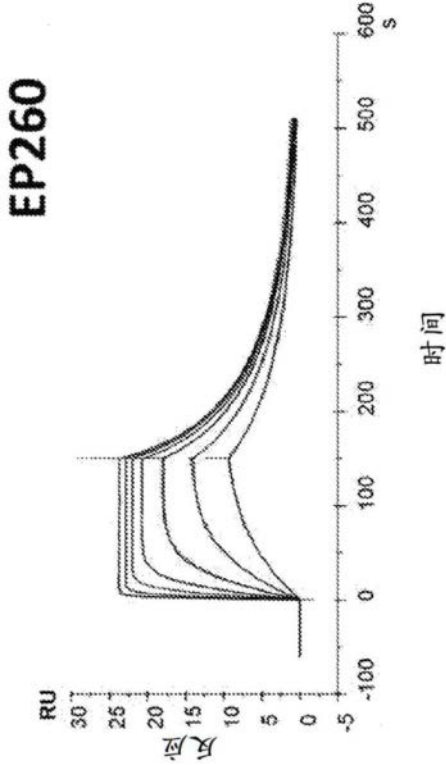


图16F

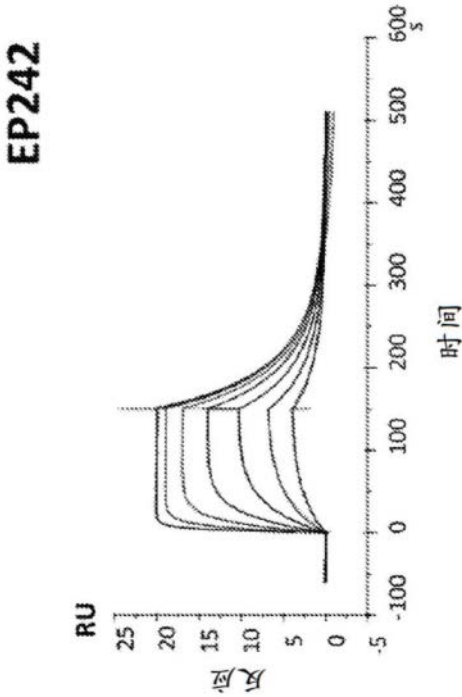


图16G

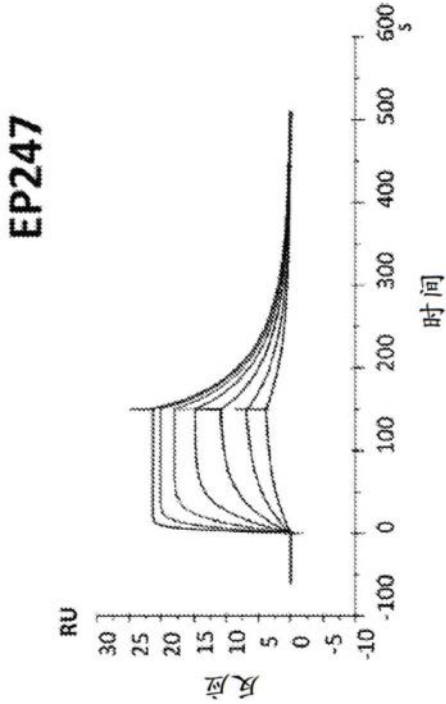


图16H

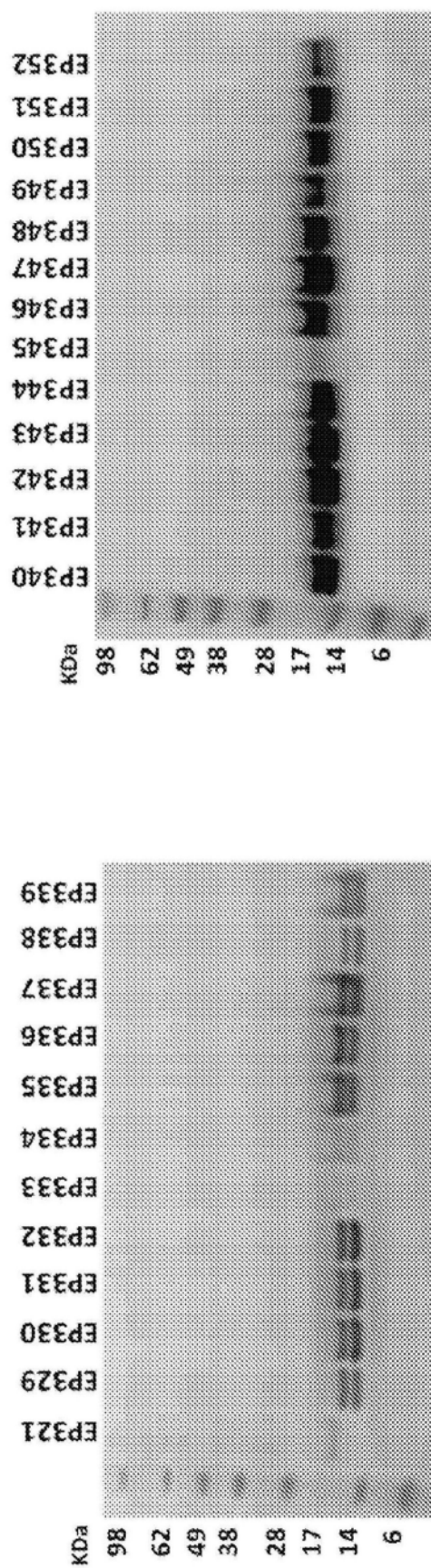


图17

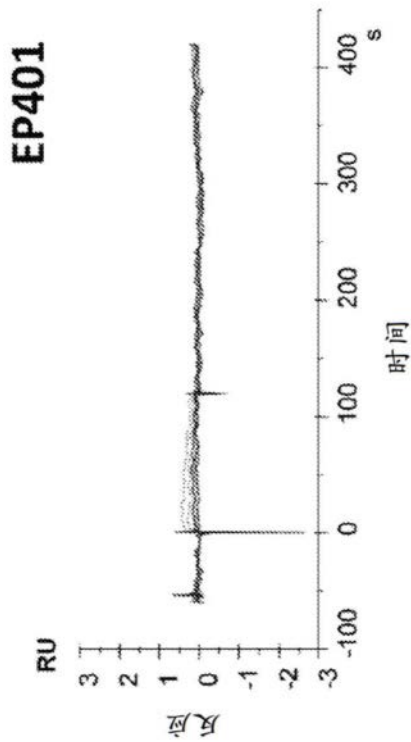


图18A

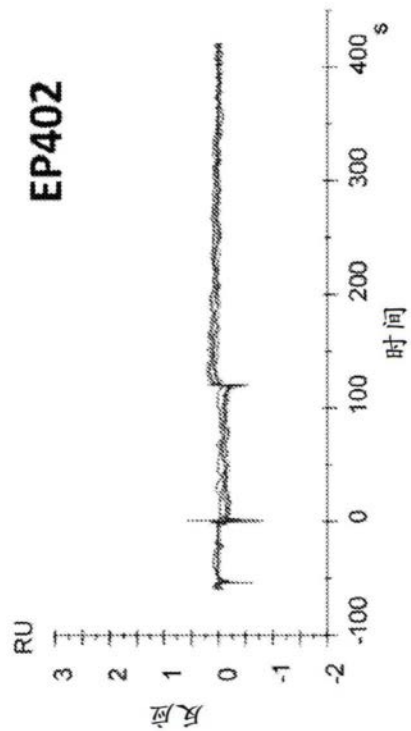


图18B

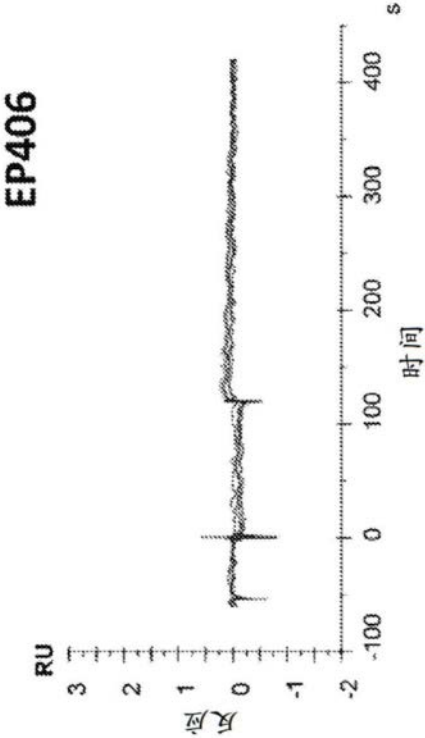


图18C

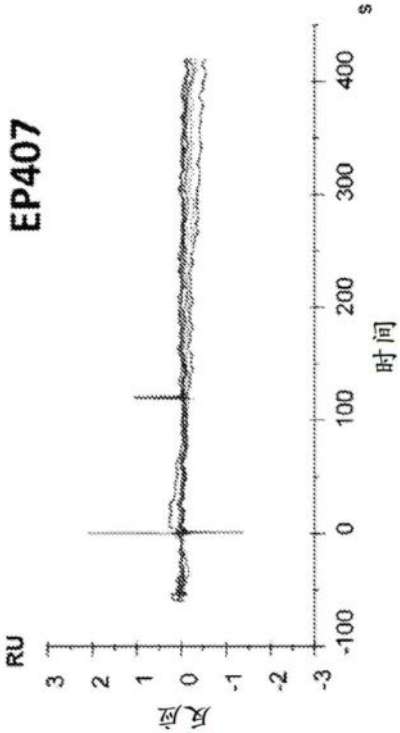


图18D

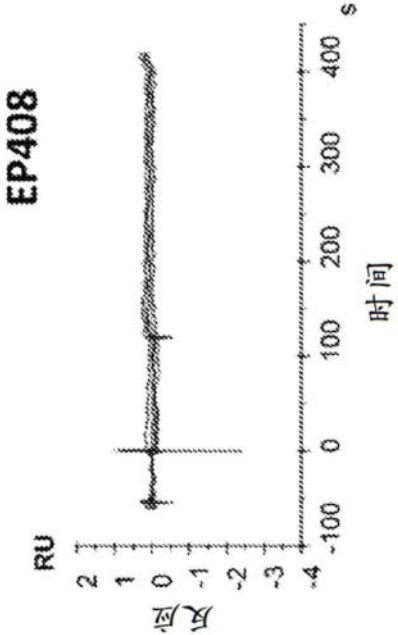


图18E

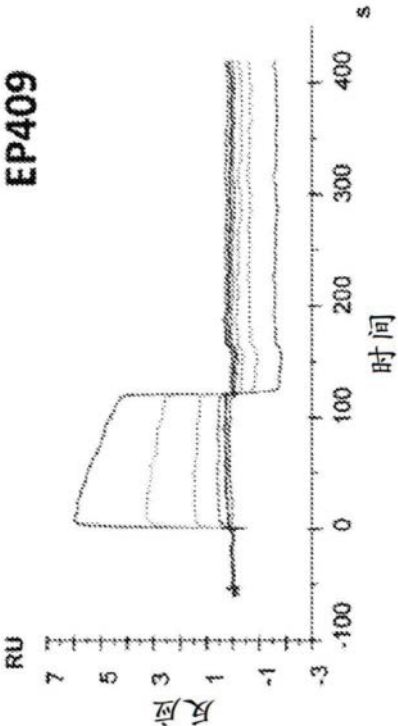


图18F

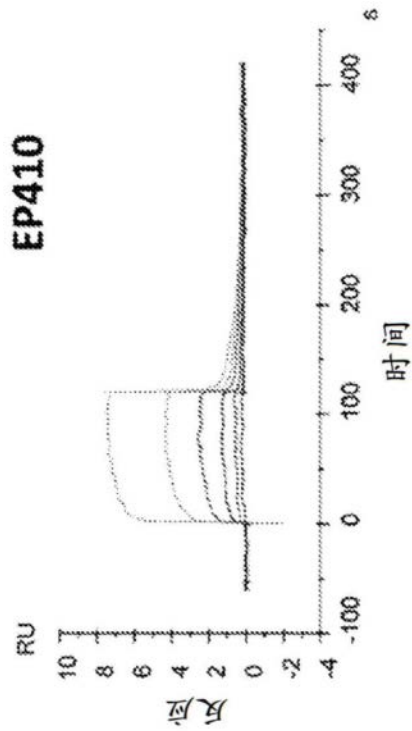


图18G

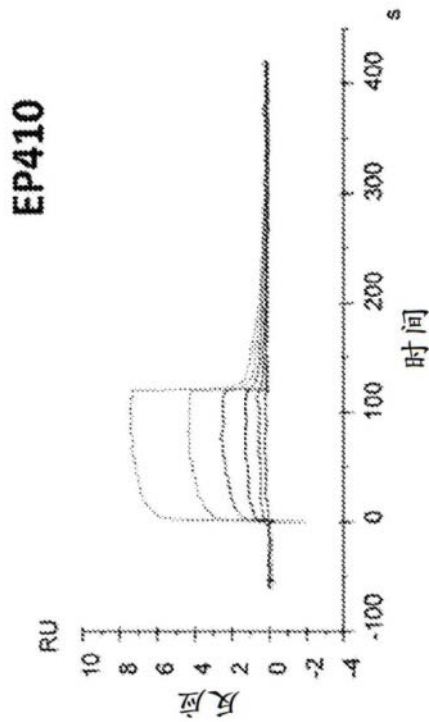


图18H

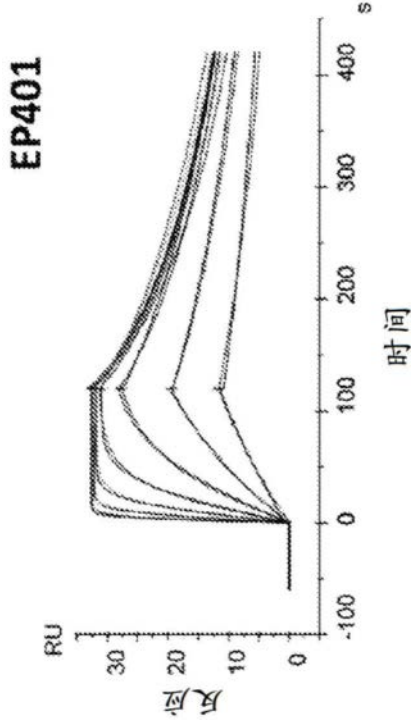


图19A

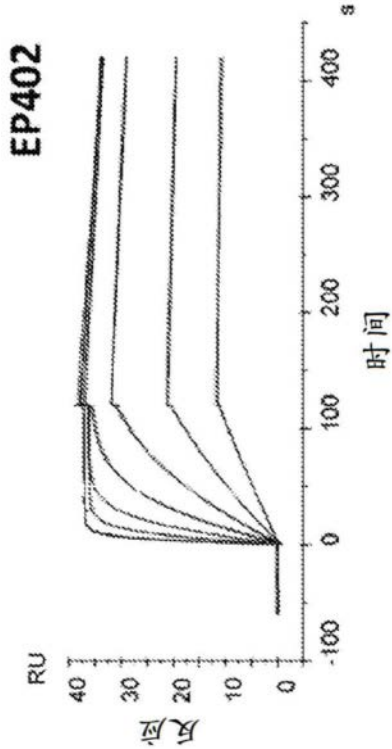


图19B

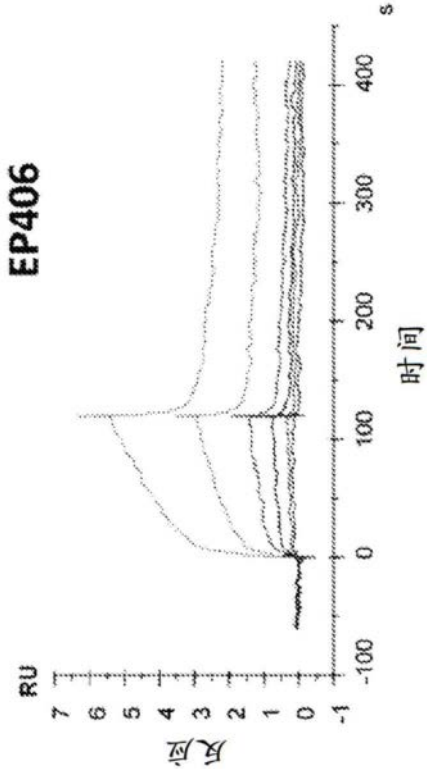


图19C

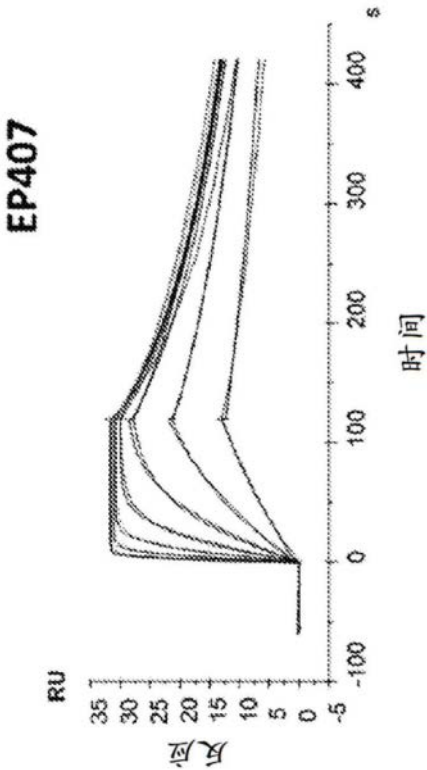


图19D

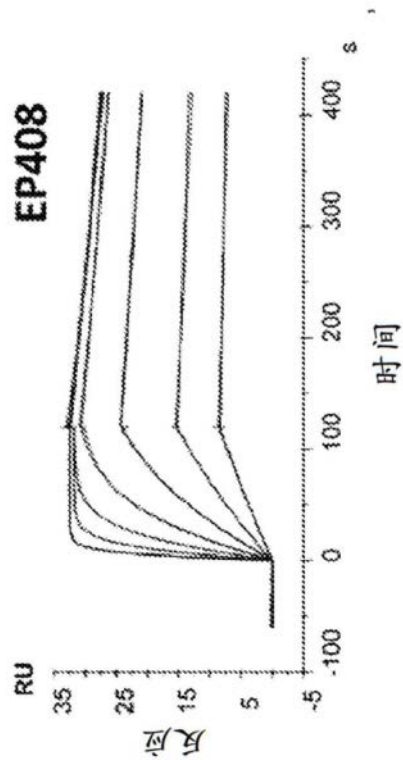


图19E

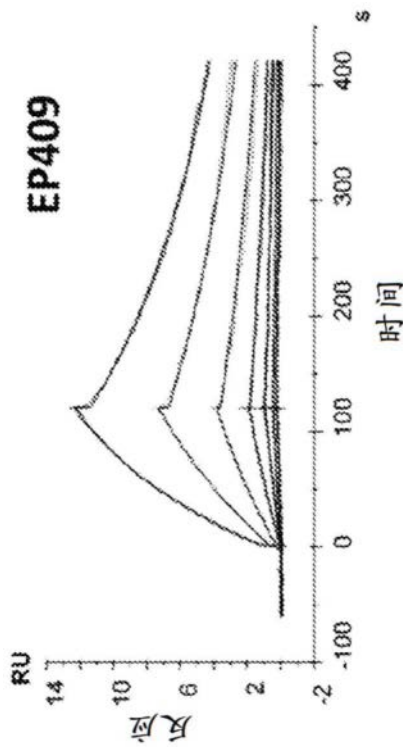


图19F

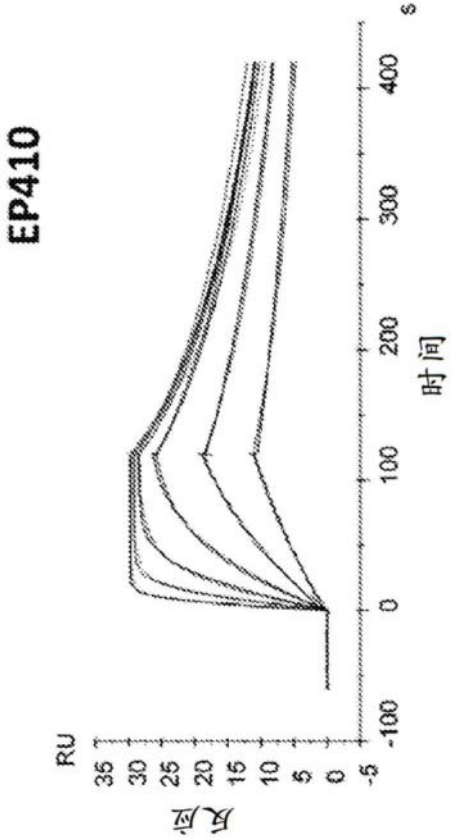


图19G

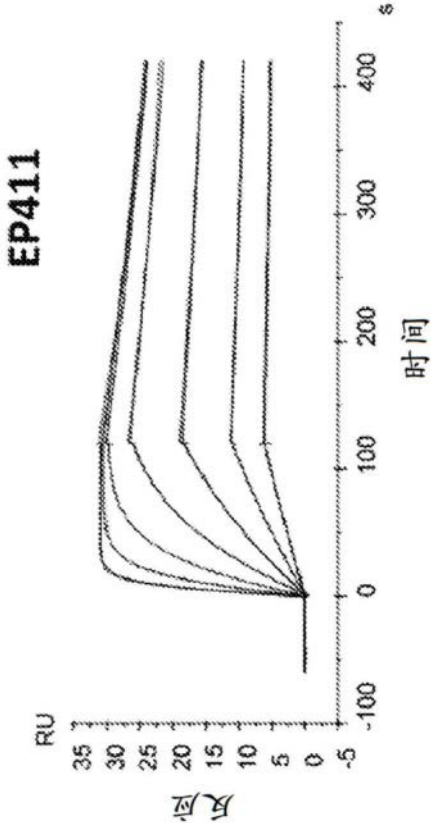


图19H

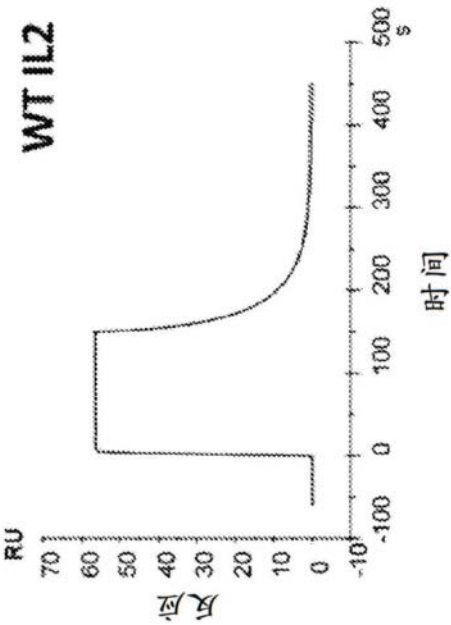


图20A

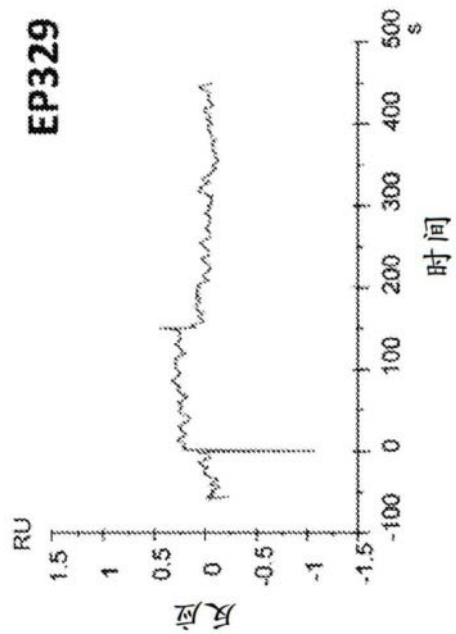


图20B

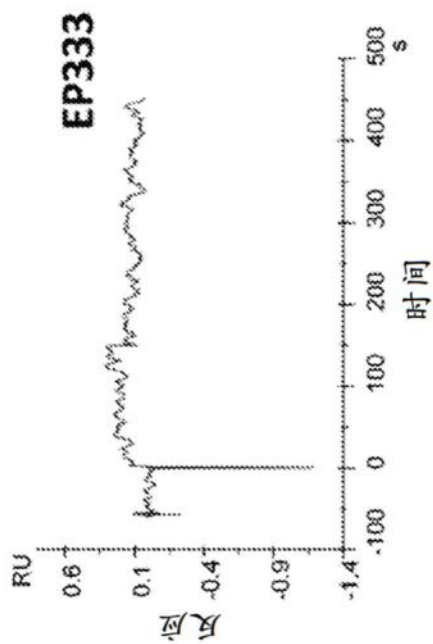


图20C

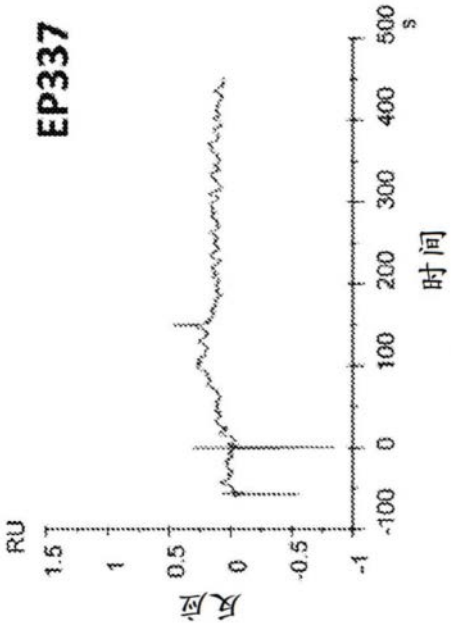


图20D

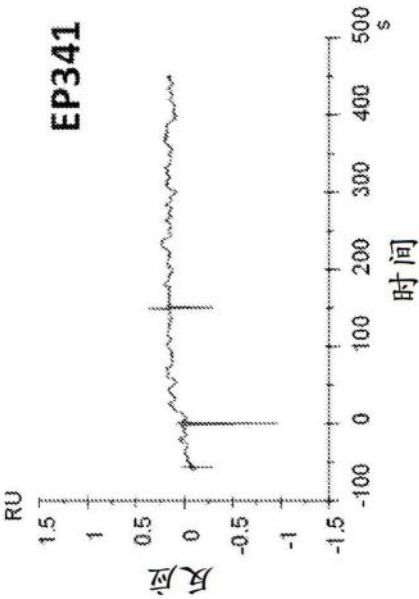


图20E

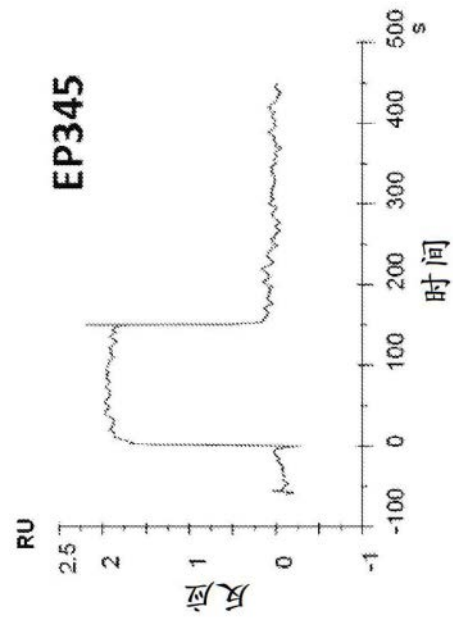


图20F

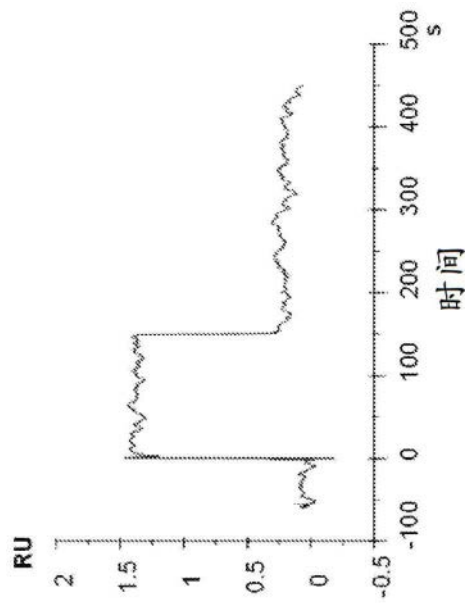


图20G

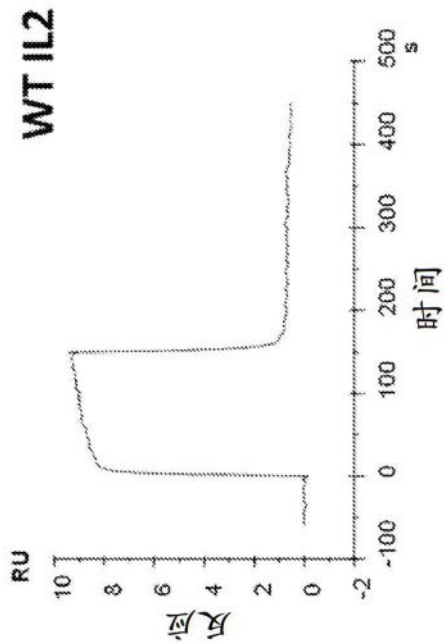


图21A

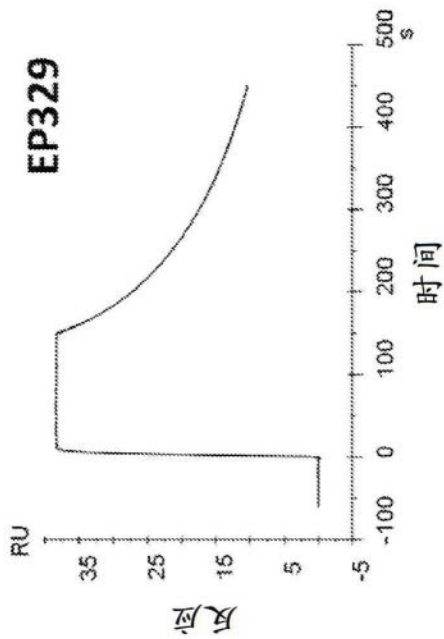


图21B

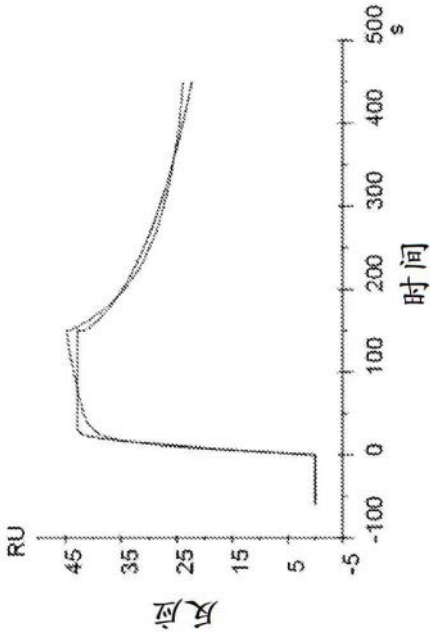


图21C

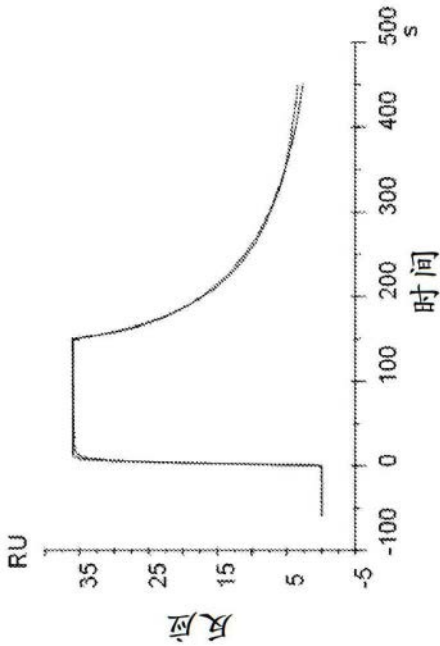


图21D

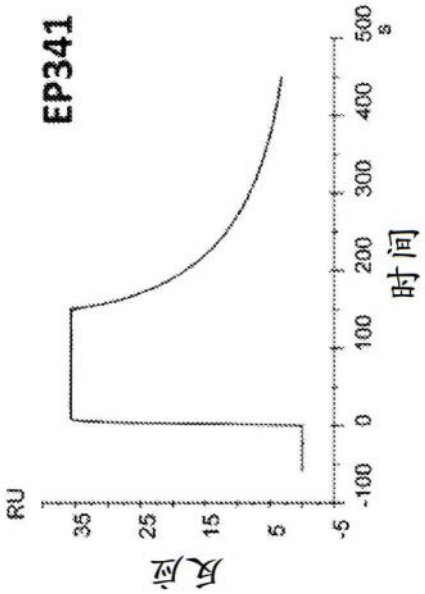


图21E

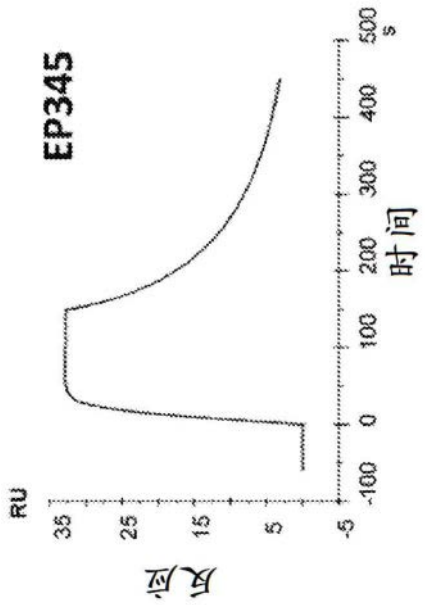


图21F

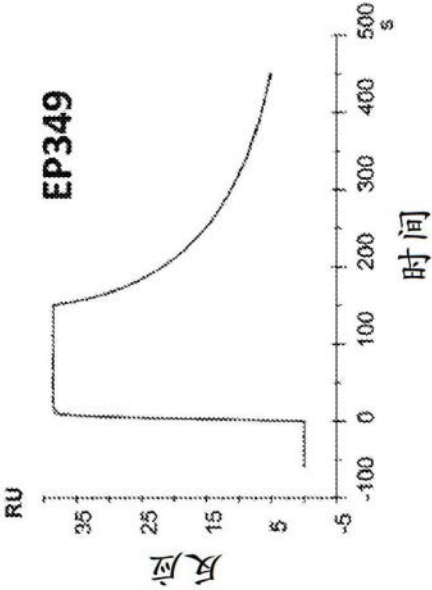


图21G

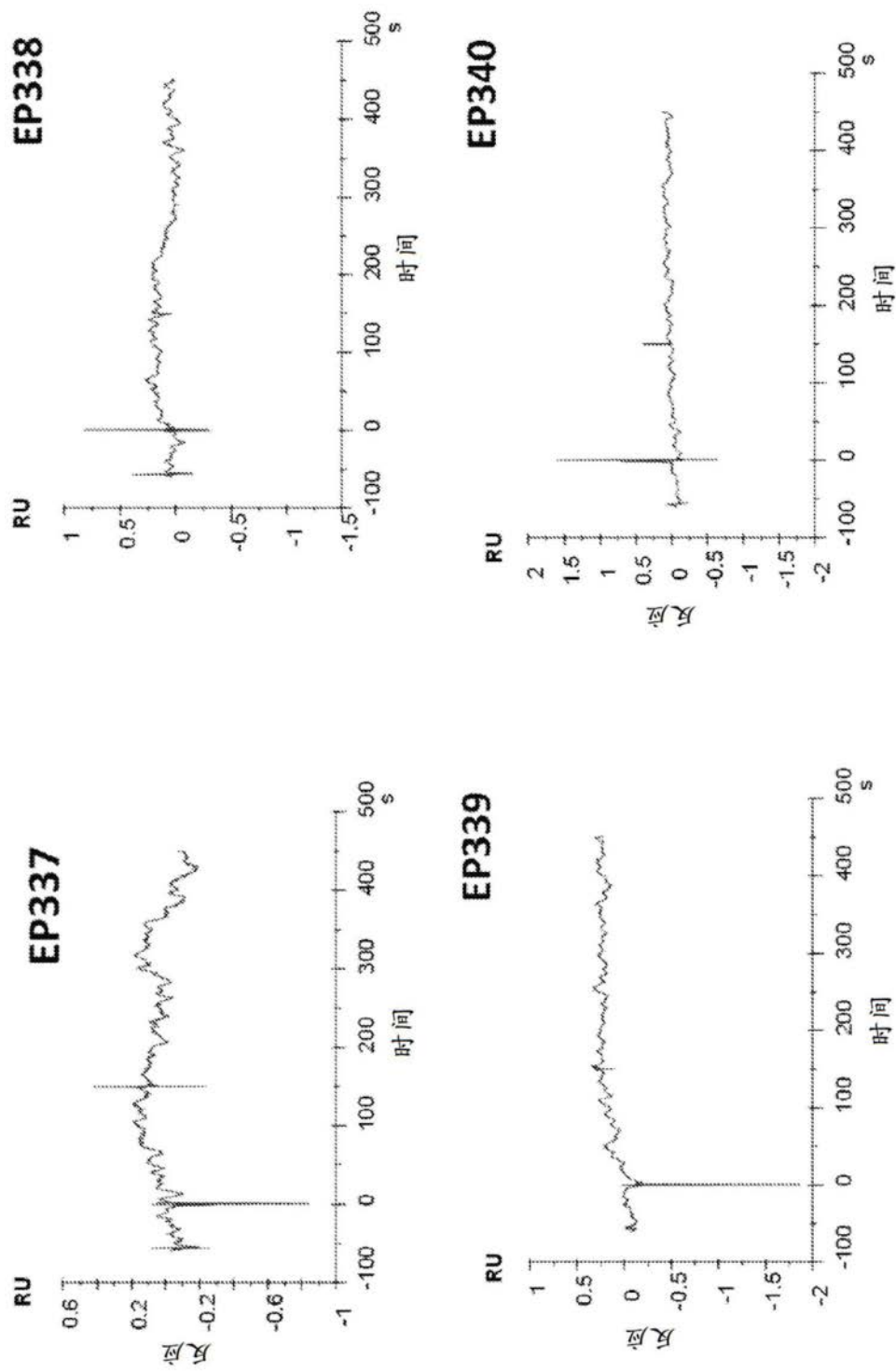


图22A

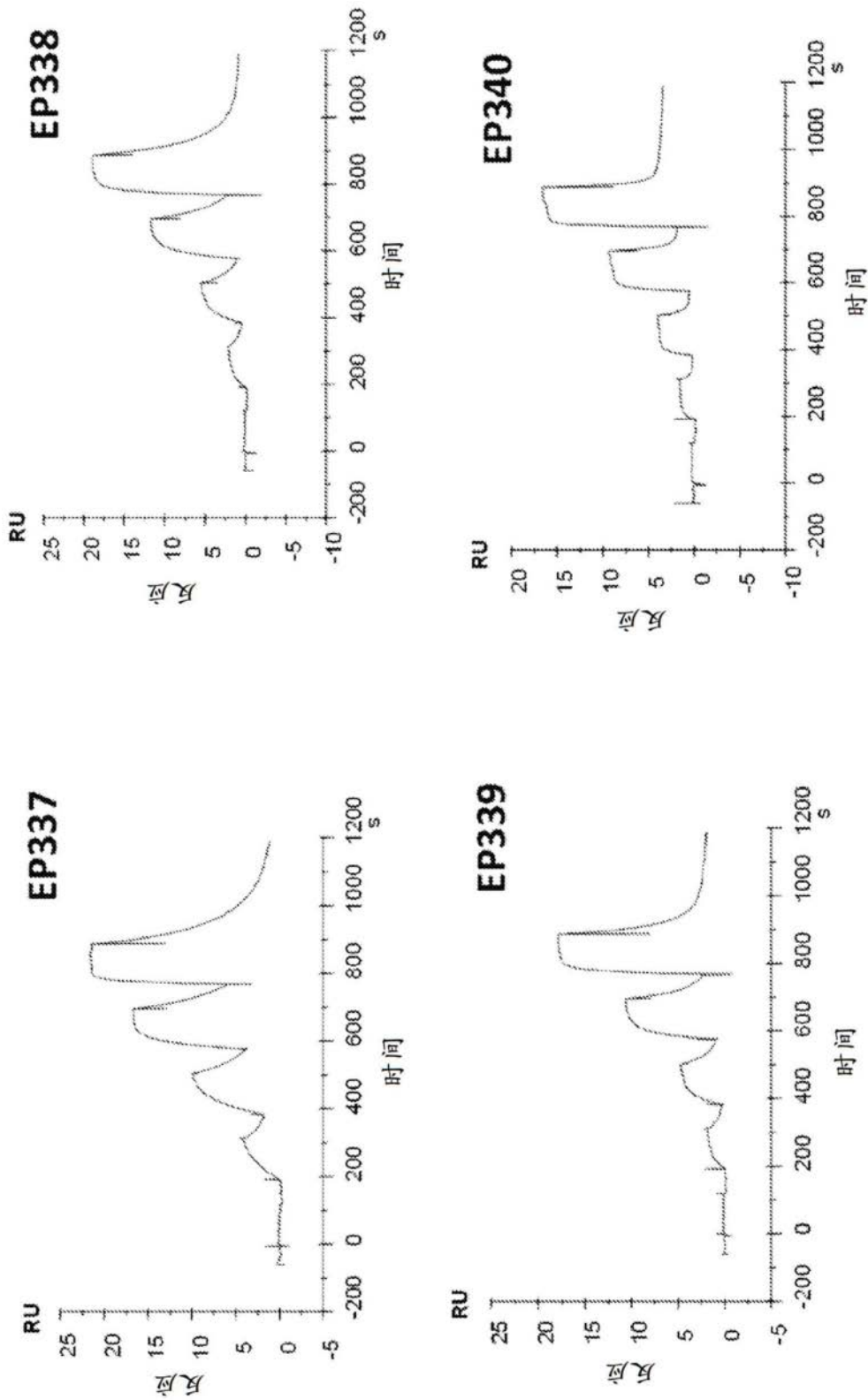


图22B

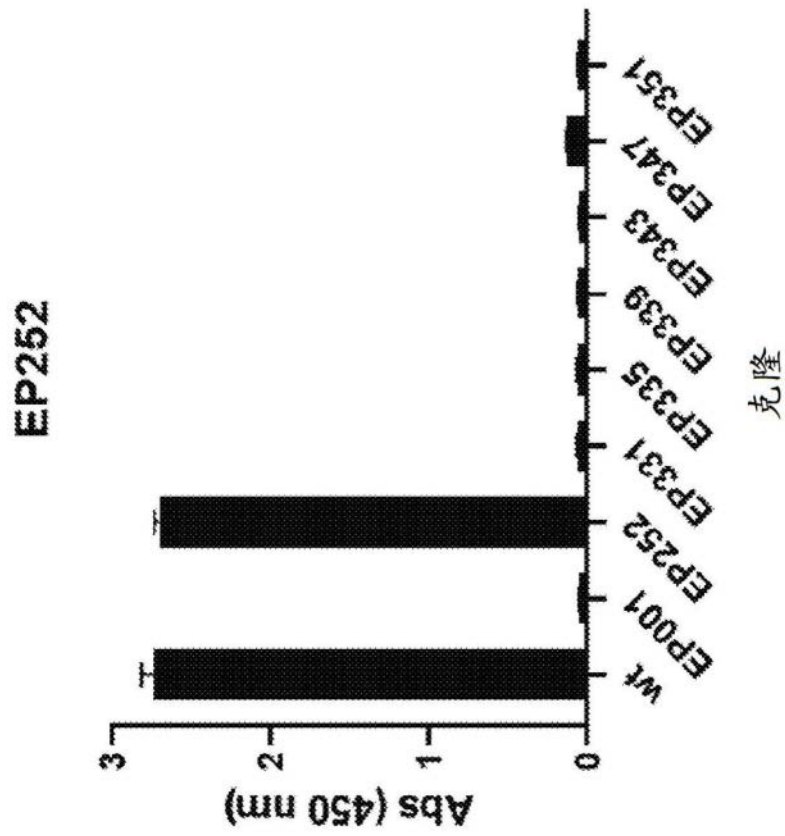


图23A

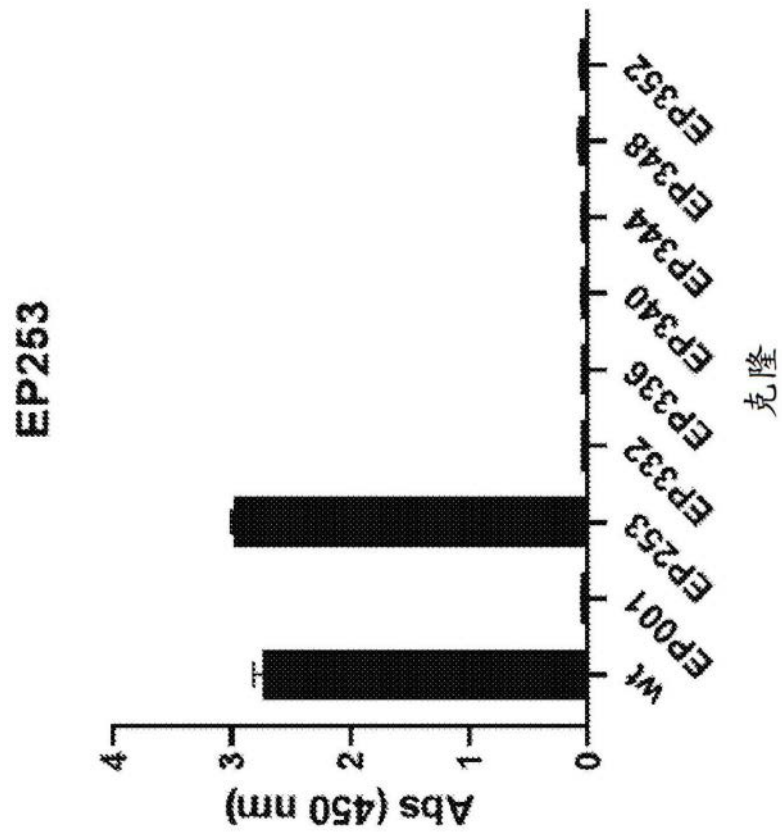


图23B

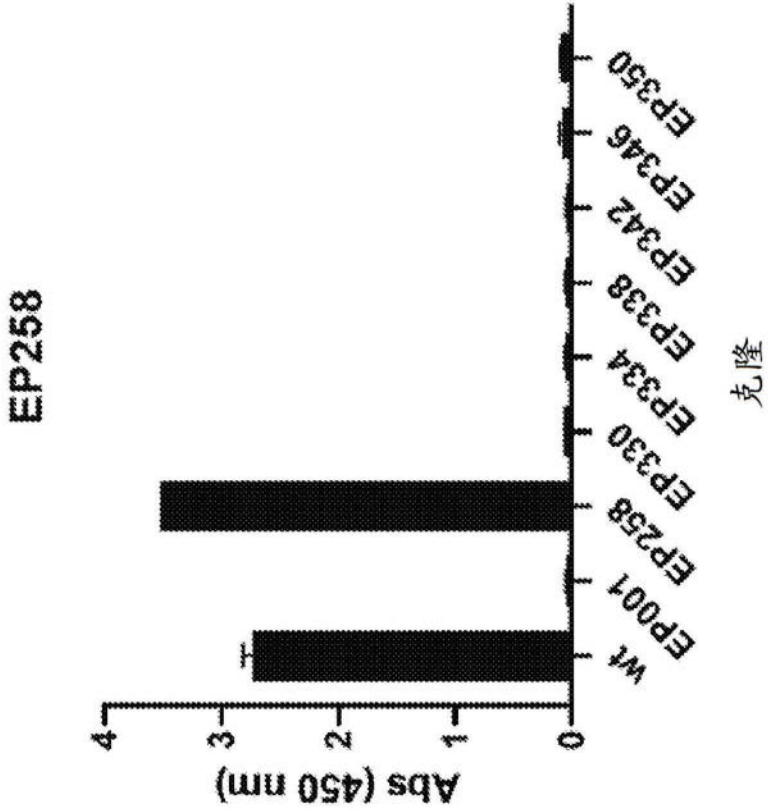


图23C

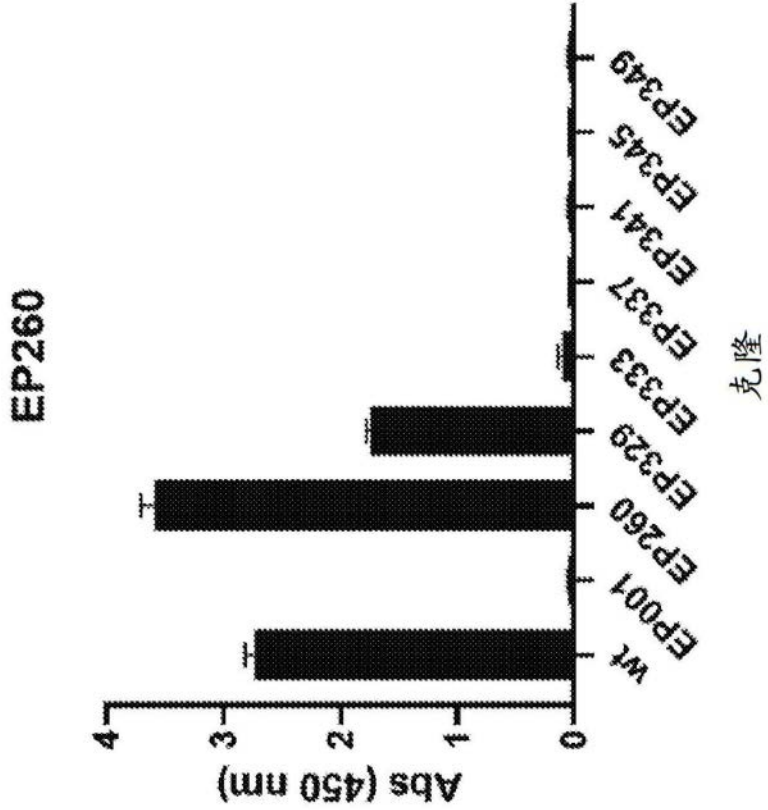


图23D

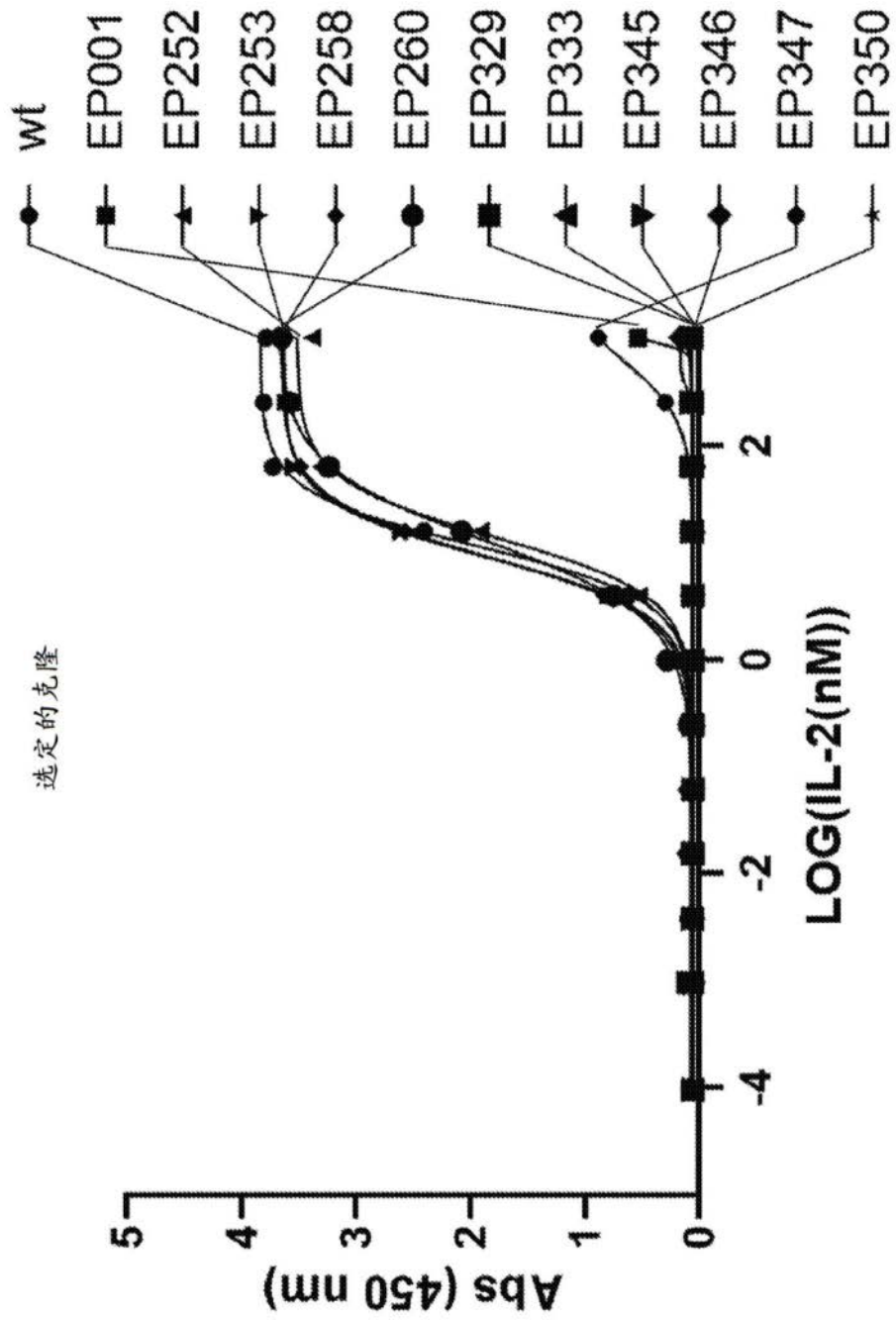


图23E

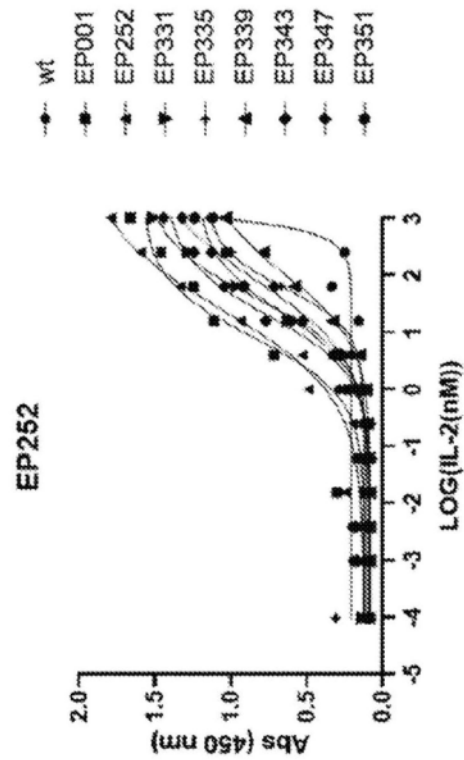


图24A

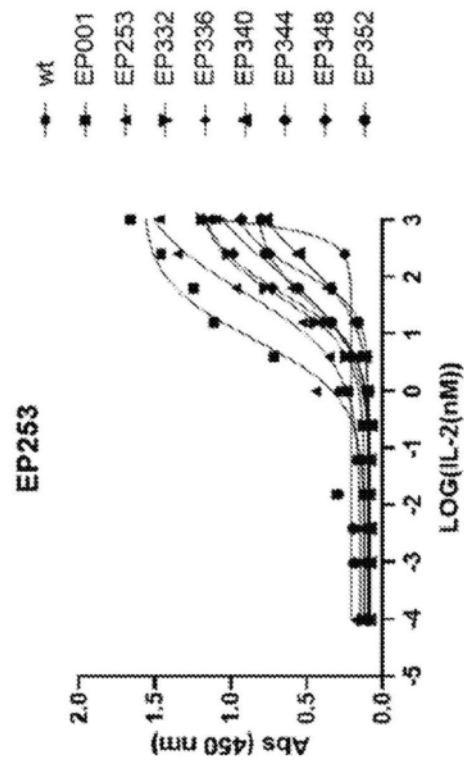


图24B

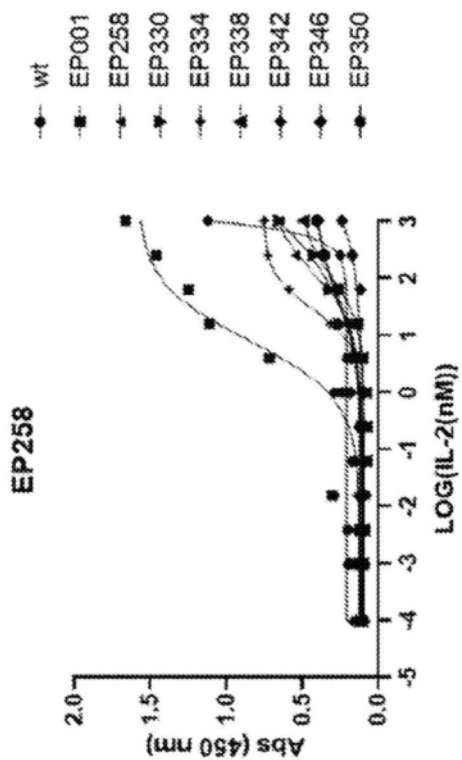


图24C

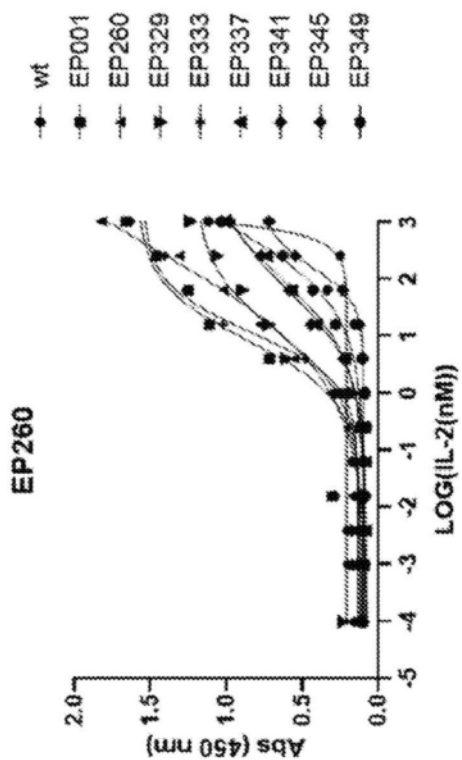


图24D

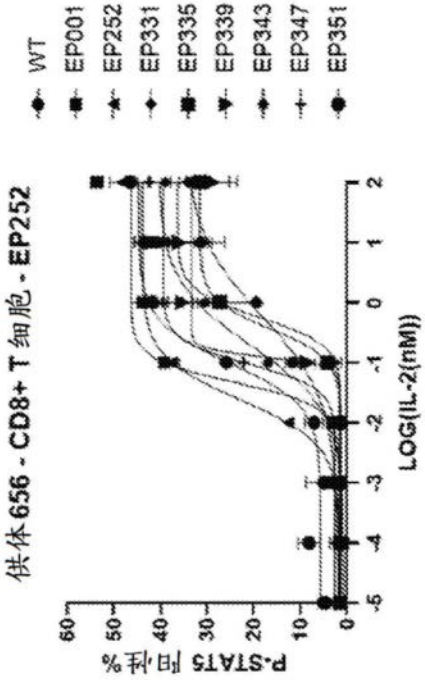


图25A

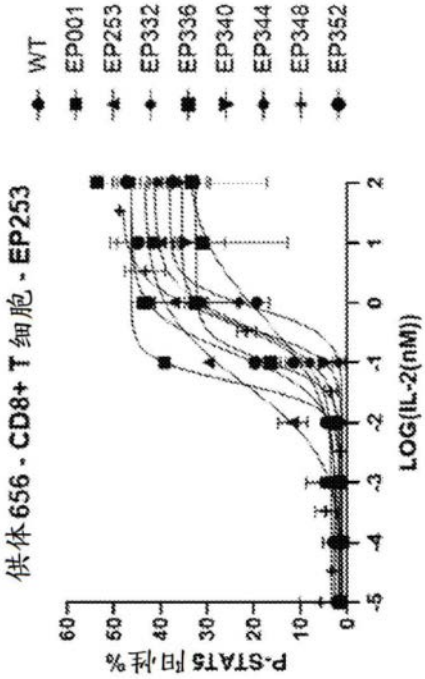


图25B

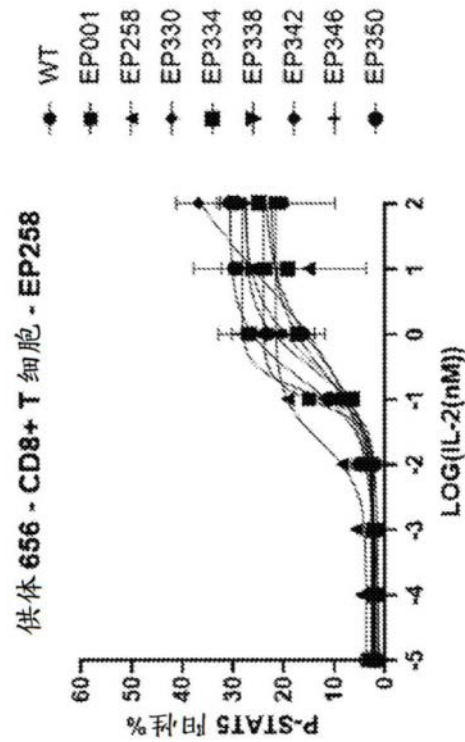


图25C

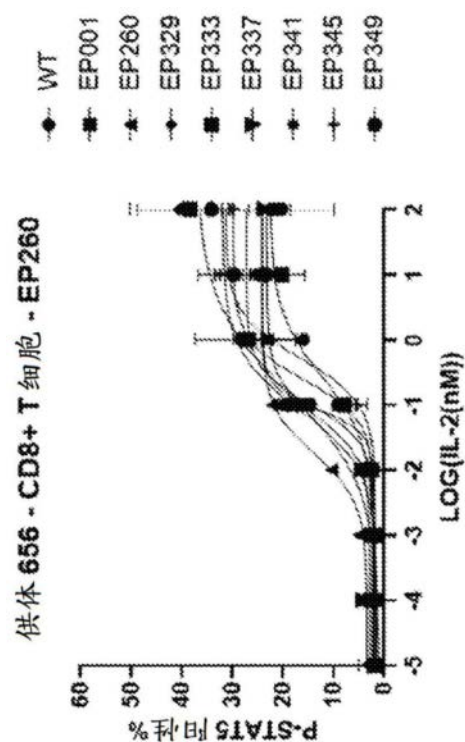


图25D

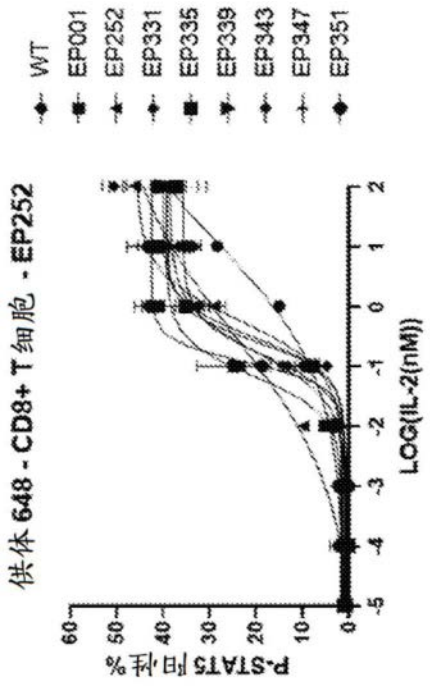


图26A

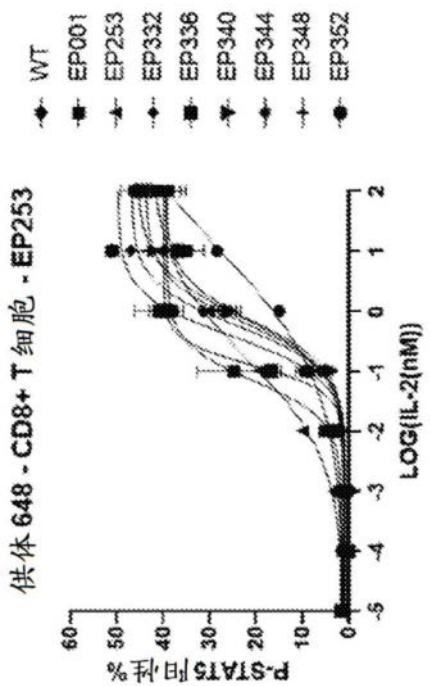


图26B

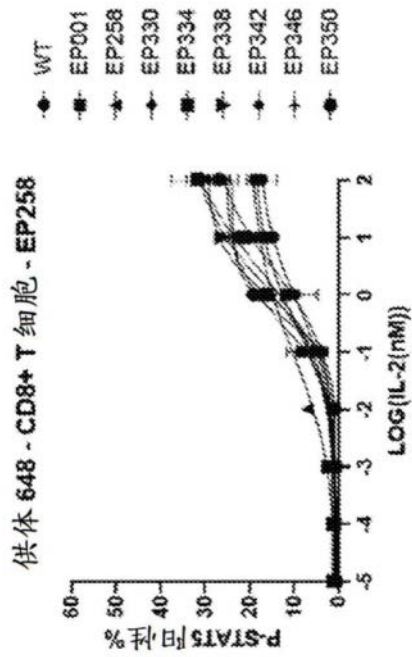


图26C

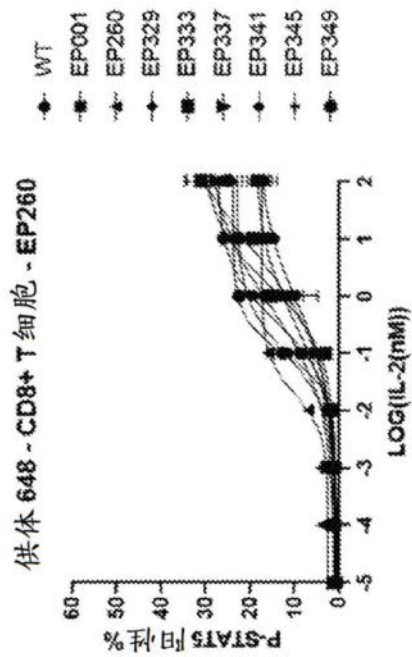


图26D

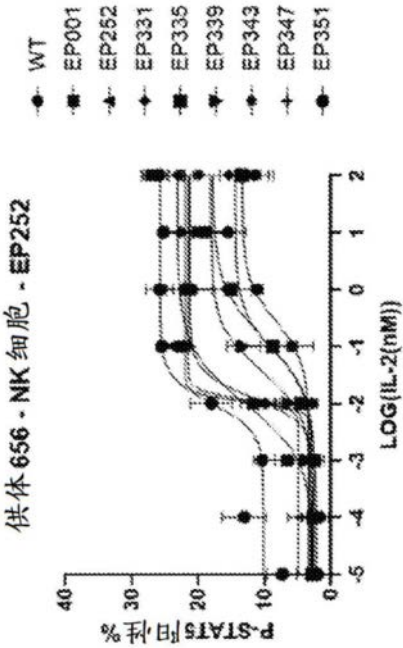


图27A

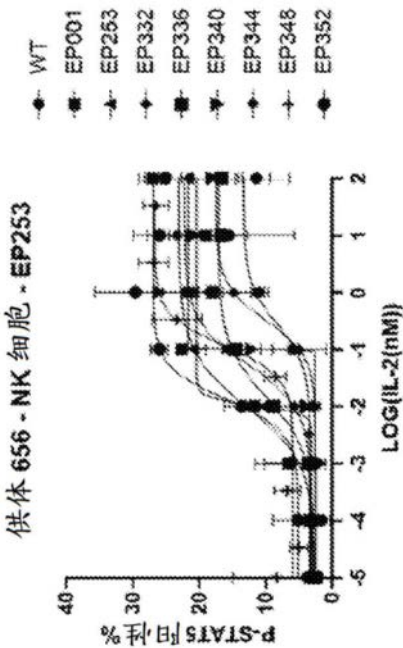


图27B

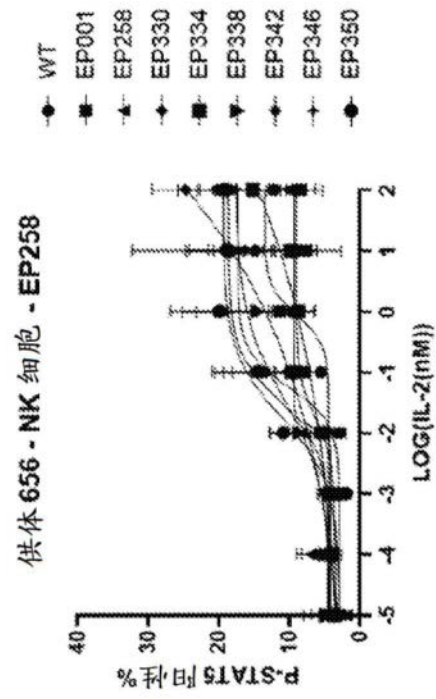


图27C

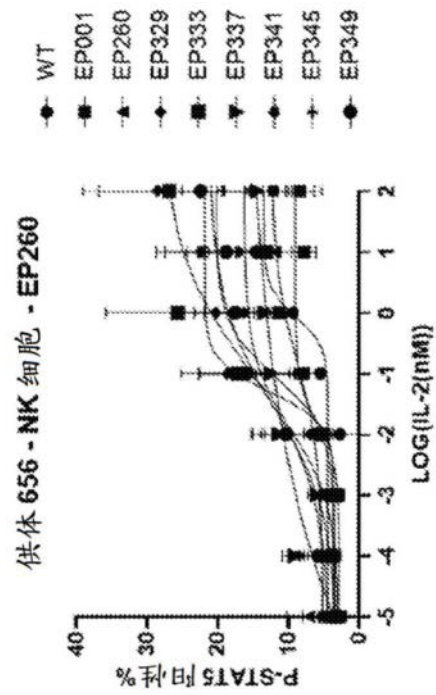


图27D

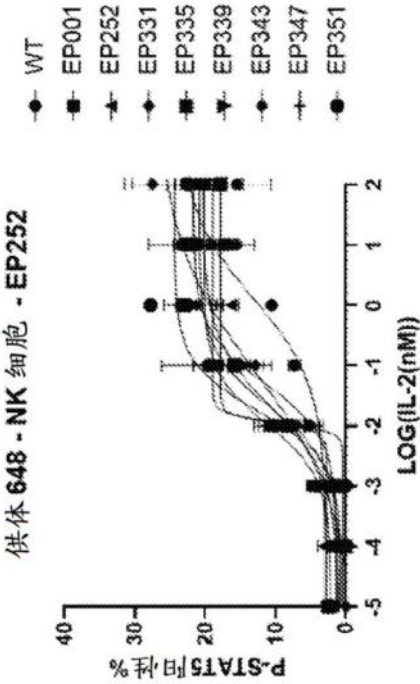


图28A

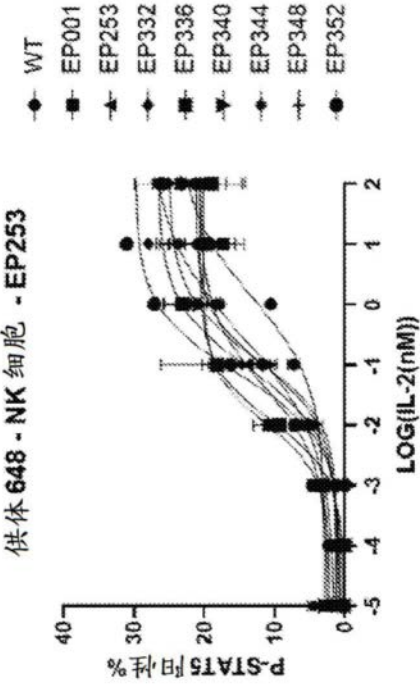


图28B

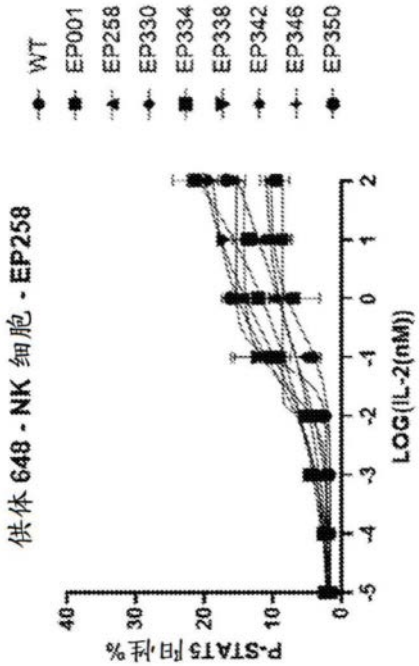


图28C

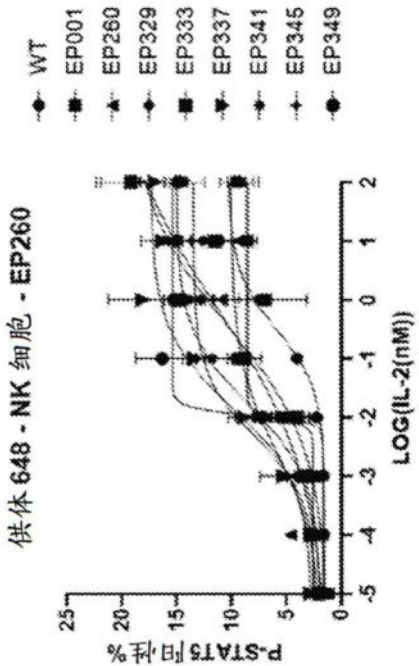


图28D

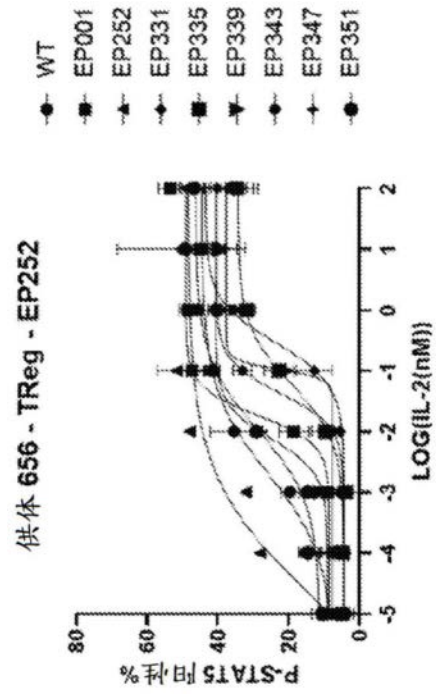


图29A

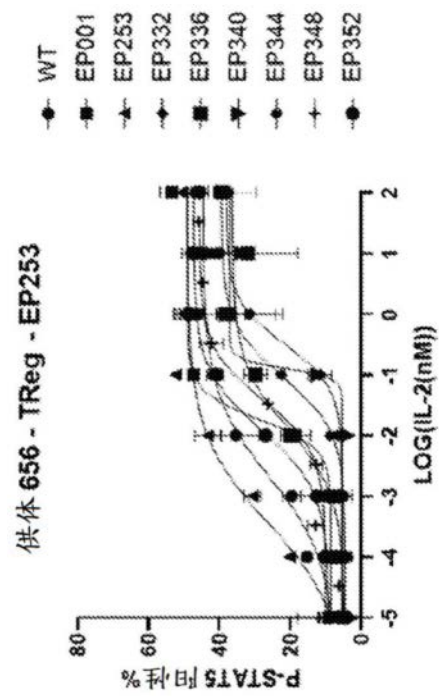


图29B

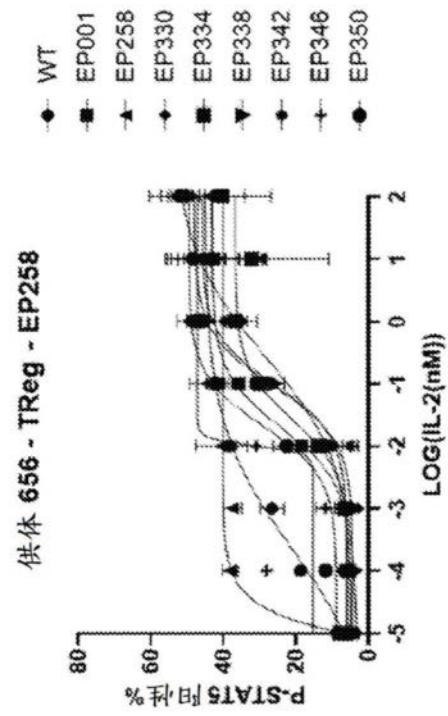


图29C

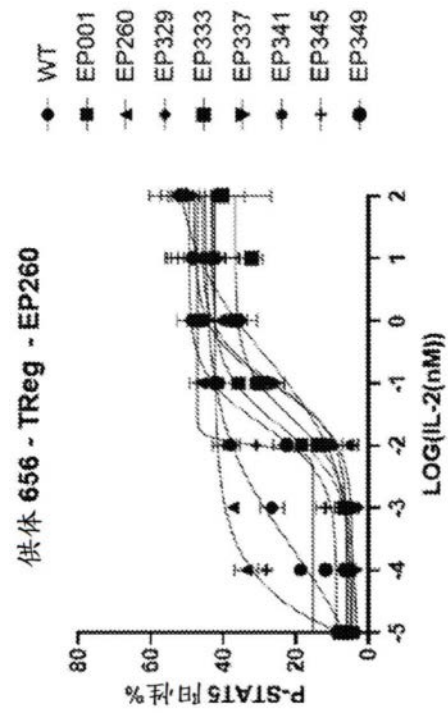


图29D

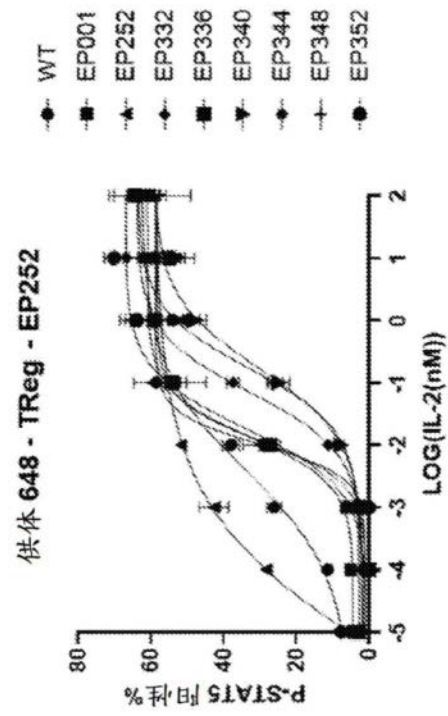


图30A

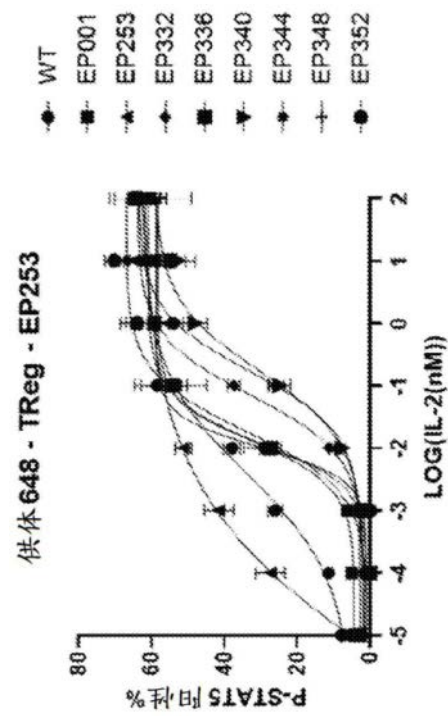


图30B

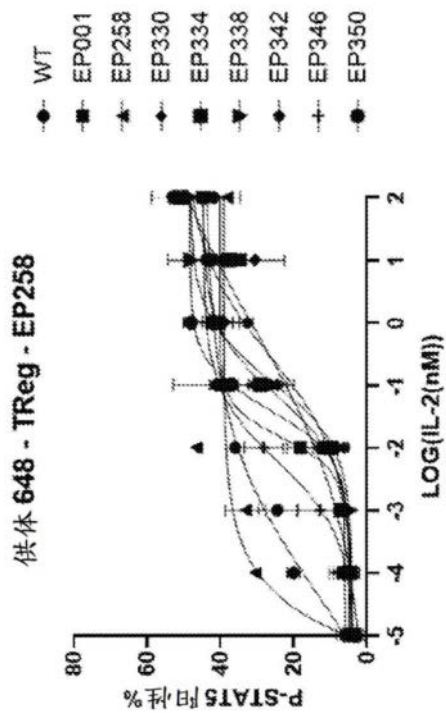


图30C

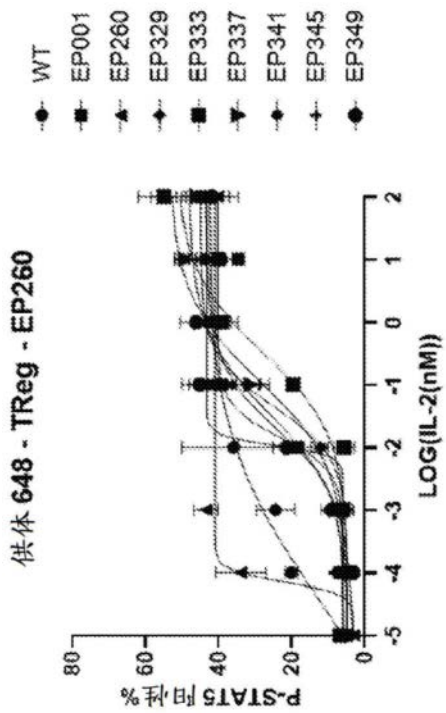


图30D

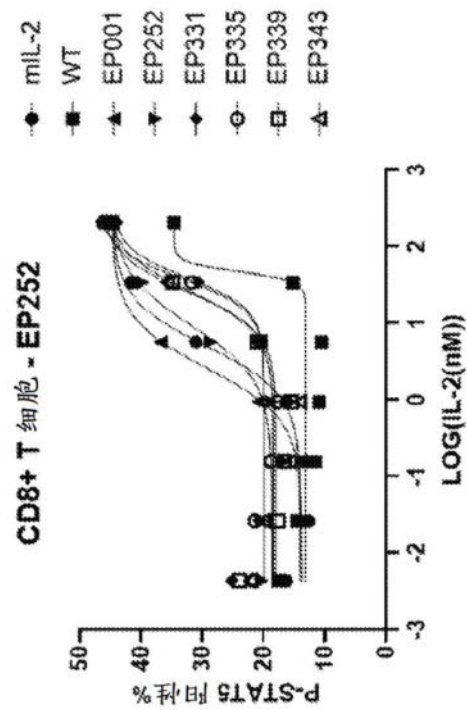


图31A

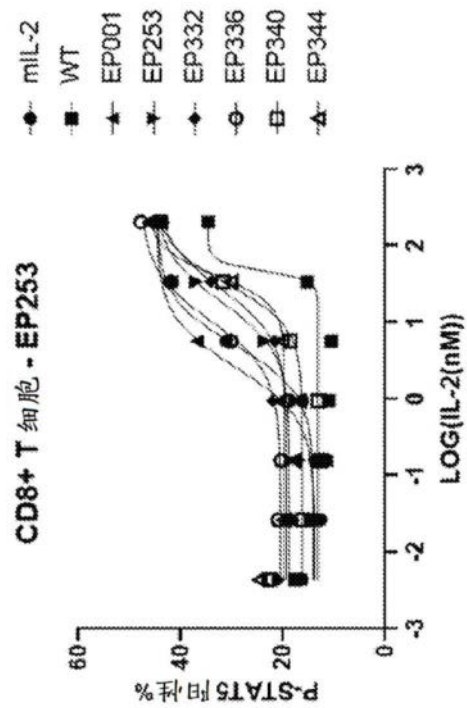


图31B

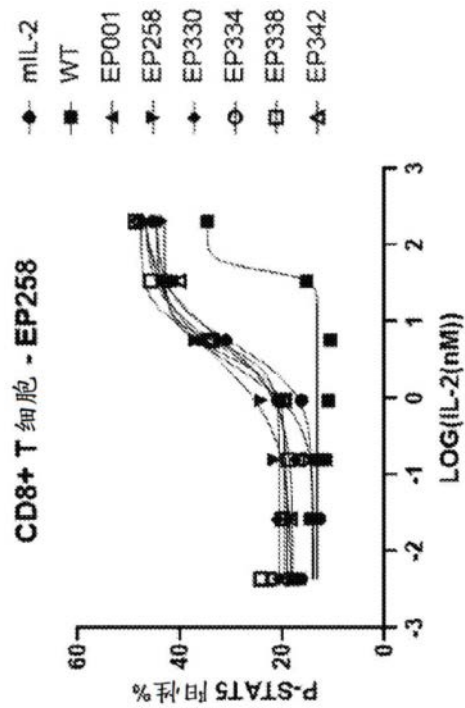


图31C

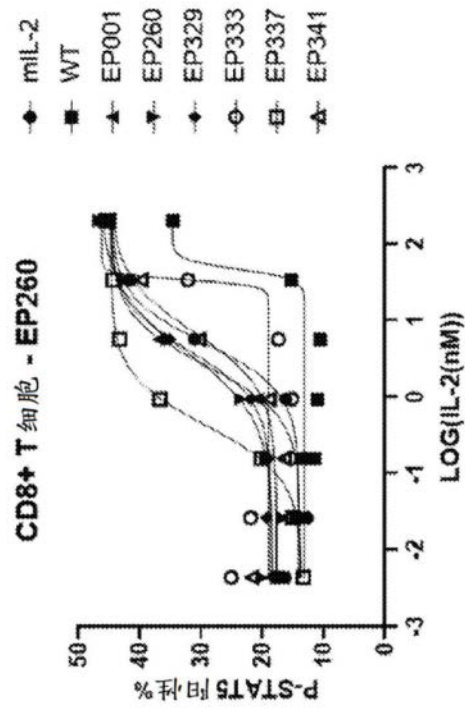


图31D

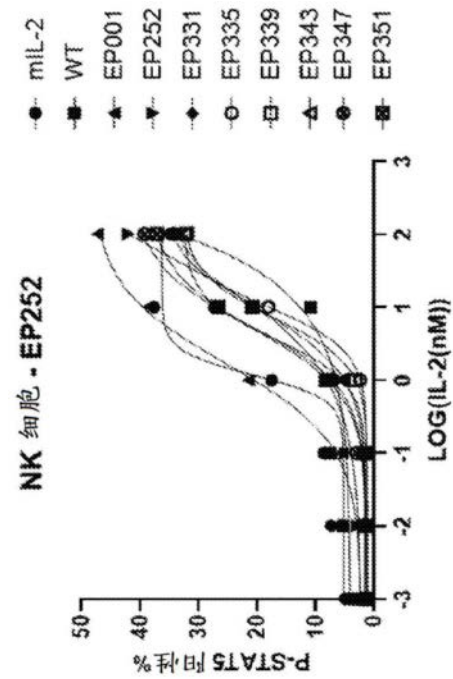


图32A

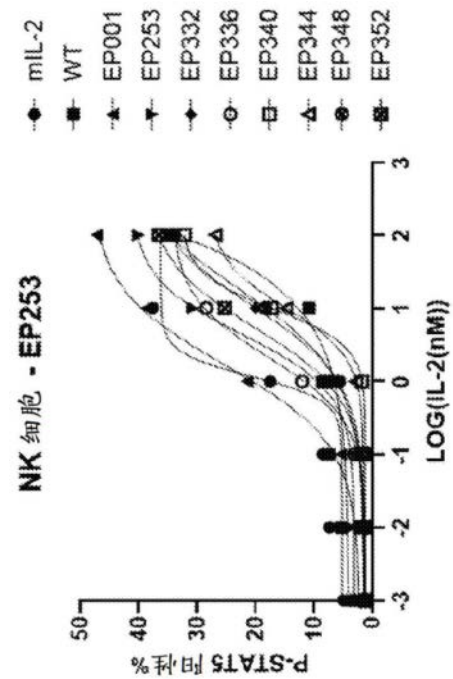


图32B

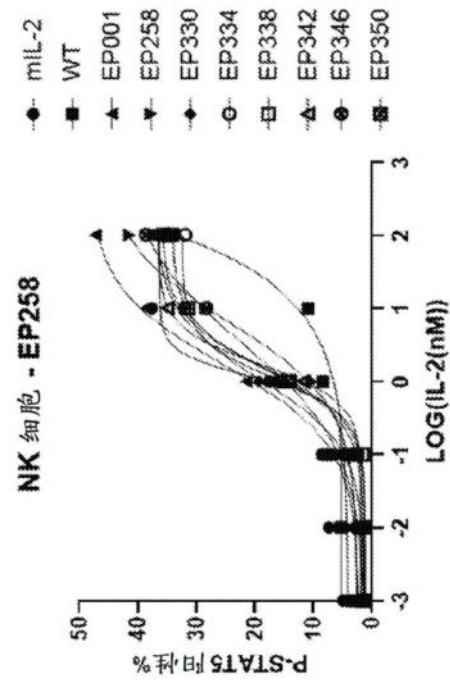


图32C

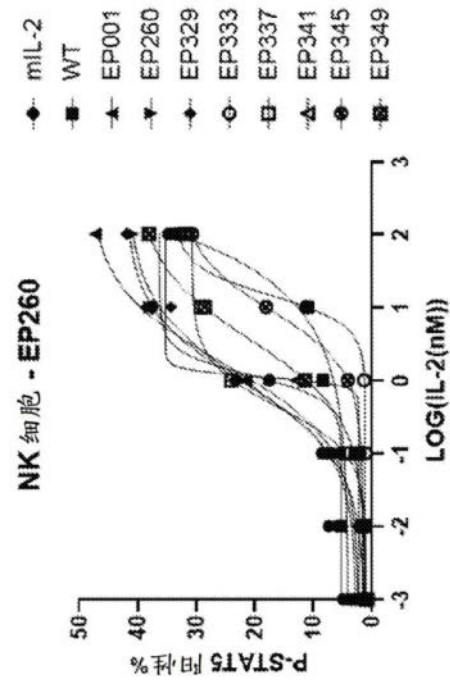


图32D

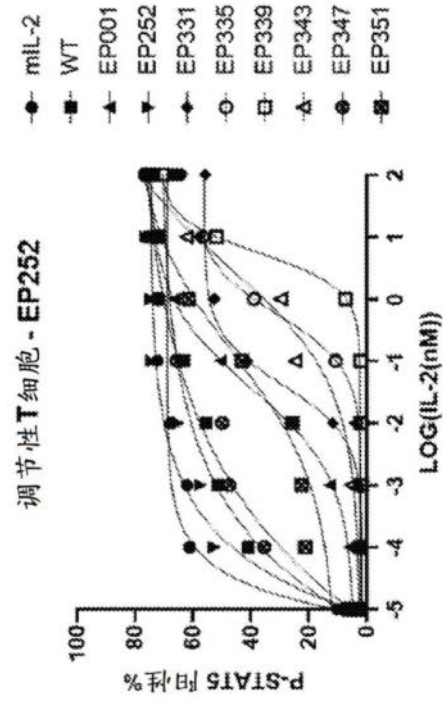


图33A

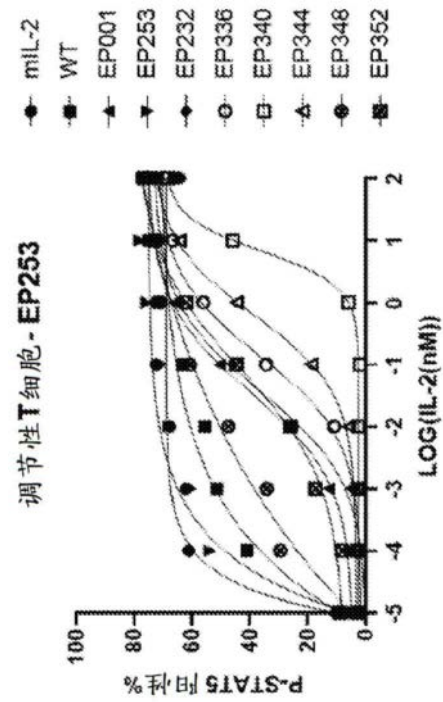


图33B

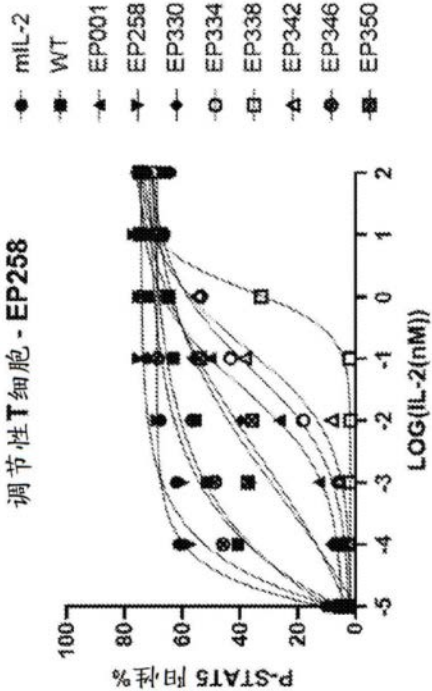


图33C

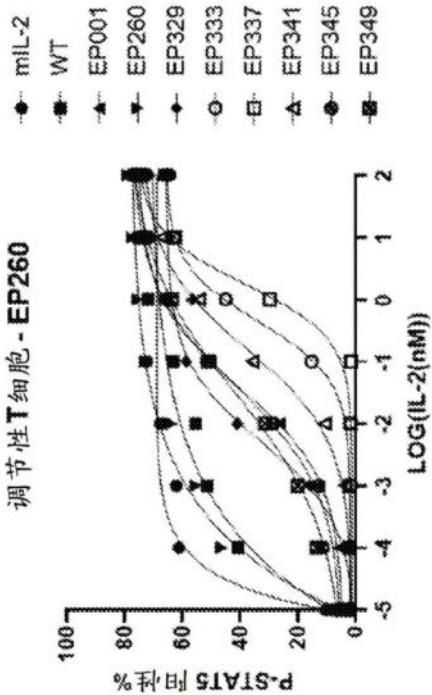


图33D

		EC50 (nM)											
	mIL2	WT	EP001	EP252	EP331	EP335	EP339	EP343	EP347	EP351			
CD8+ T细胞	4.9E+00	4.6E+01	2.5E+00	9.2E+00	3.8E+01	3.8E+01	2.6E+01	2.5E+01	-	-			
NK细胞	1.2E+00	ND	1.7E+00	5.7E+01	8.4E+00	1.0E+01	7.0E+00	3.7E+00	5.6E+00	4.8E+00			
调节性T细胞	<1E-4	<1E-4	3.6E-02	<1E-4	4.1E-02	5.5E-01	5.4E+00	3.2E+00	<1E-4	1.3E-01			
	mIL2	WT	EP001	EP253	EP332	EP336	EP340	EP344	EP348	EP352			
CD8+ T细胞	4.9E+00	4.6E+01	2.5E+00	1.8E+01	2.7E+01	1.0E+01	3.1E+01	4.0E+01	-	-			
NK细胞	1.2E+00	ND	1.7E+00	4.4E+00	1.1E+01	2.1E+00	9.7E+00	1.0E+01	1.9E+01	5.4E+00			
调节性T细胞	<1E-4	<1E-4	3.6E-02	<1E-4	3.7E-02	1.4E-01	6.7E+00	6.4E-01	<1E-4	8.5E-02			
	mIL2	WT	EP001	EP258	EP330	EP334	EP338	EP342	EP346	EP350			
CD8+ T细胞	4.9E+00	4.6E+01	2.5E+00	3.4E+00	3.6E+00	5.2E+00	5.8E+00	6.3E+00	-	-			
NK细胞	1.2E+00	ND	1.7E+00	6.4E+00	1.1E+00	1.1E+00	1.4E+00	1.7E+00	3.3E+00	1.5E+00			
调节性T细胞	<1E-4	<1E-4	3.6E-02	<1E-4	5.1E-04	7.4E-02	1.3E+00	1.5E-01	<1E-4	2.7E-03			
	mIL2	WT	EP001	EP260	EP329	EP333	EP337	EP341	EP345	EP349			
CD8+ T细胞	4.9E+00	4.6E+01	2.5E+00	3.8E+00	3.9E+00	3.4E+01	4.2E-01	7.0E+00	-	-			
NK细胞	1.2E+00	ND	1.7E+00	9.8E-01	9.3E-01	1.5E+01	4.2E-01	1.1E+00	9.0E+00	3.6E+00			
调节性T细胞	<1E-4	<1E-4	3.6E-02	<1E-4	5.1E-03	4.4E-01	1.8E+00	1.6E-01	3.8E-02	3.0E-02			

图34

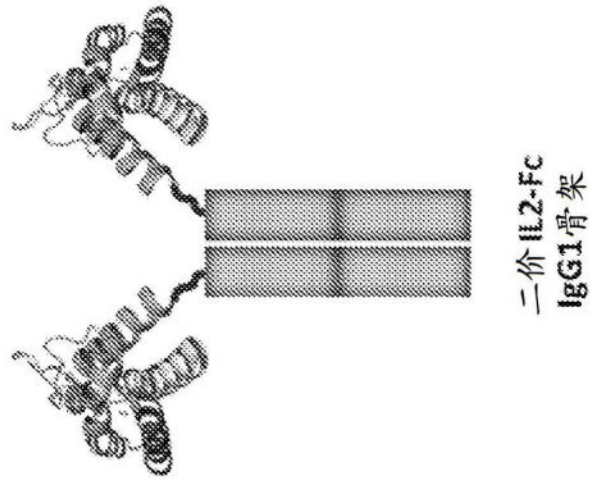


图35A

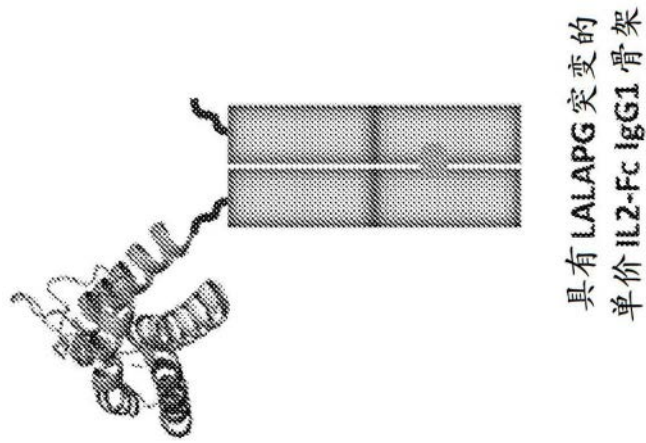


图35B

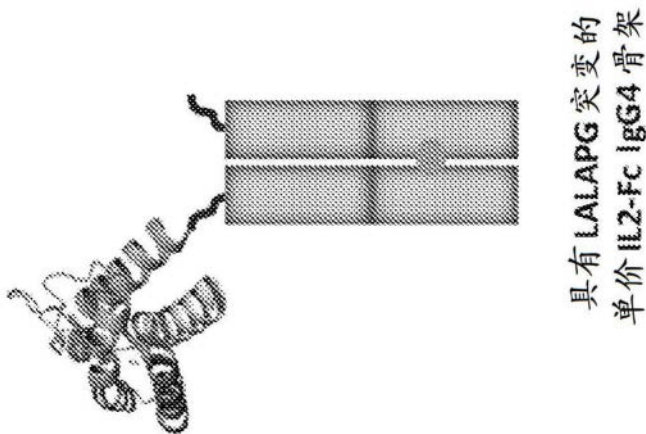


图35C

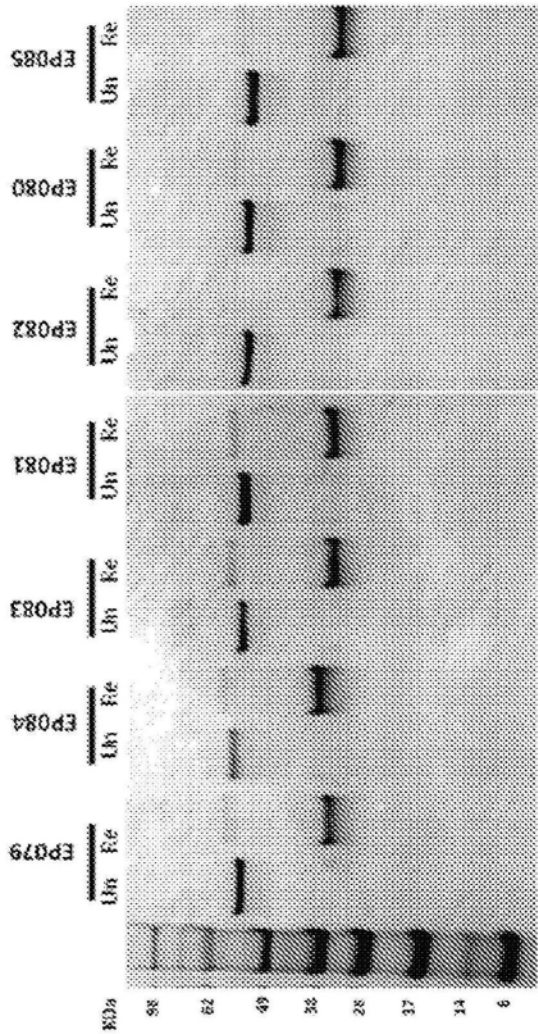


图36A

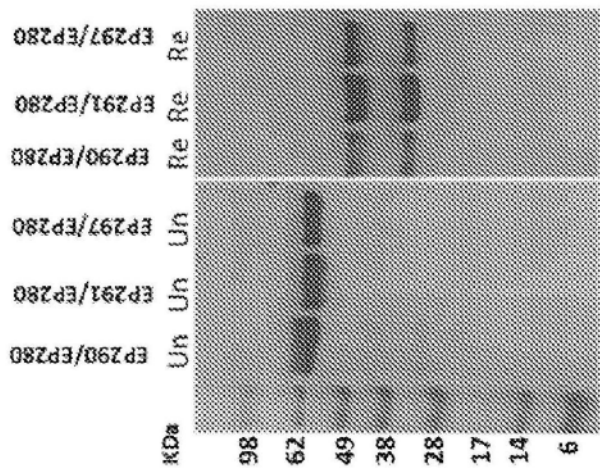


图36B

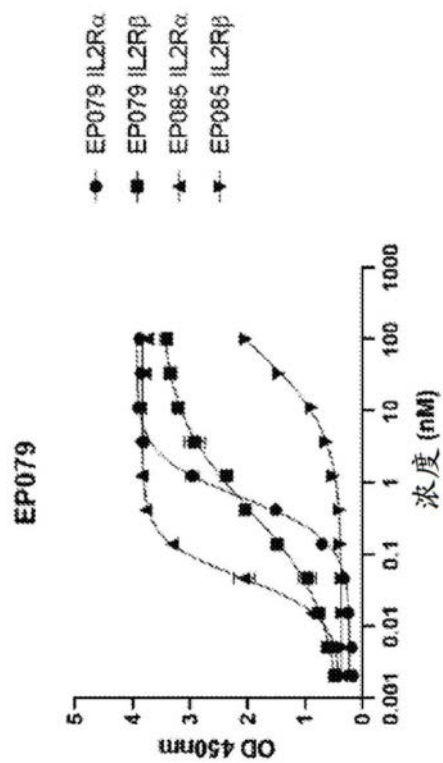


图37A

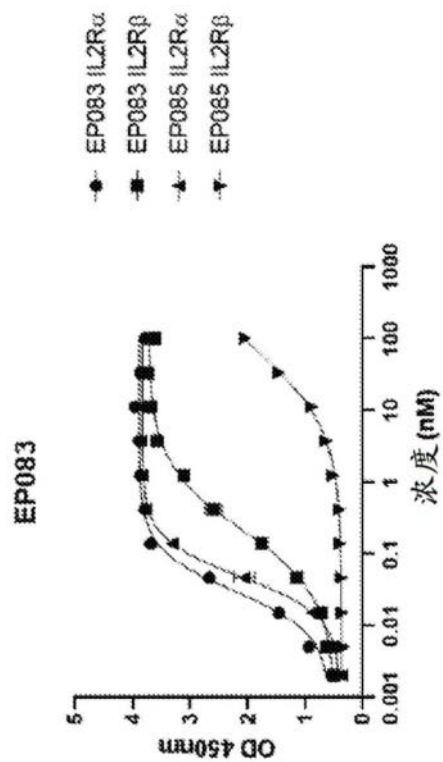


图37B

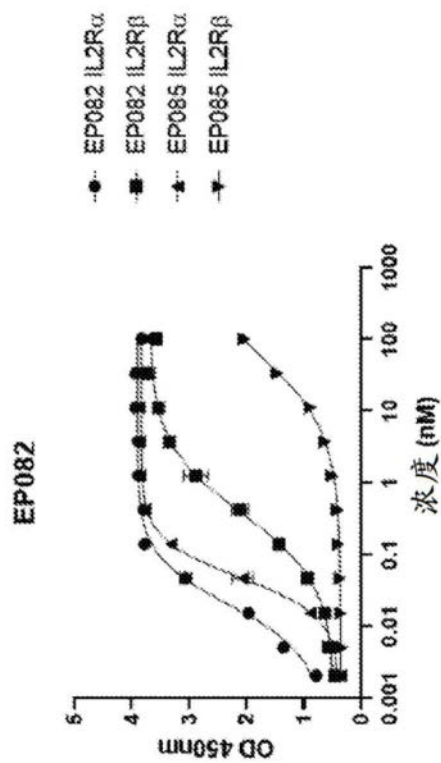


图37C

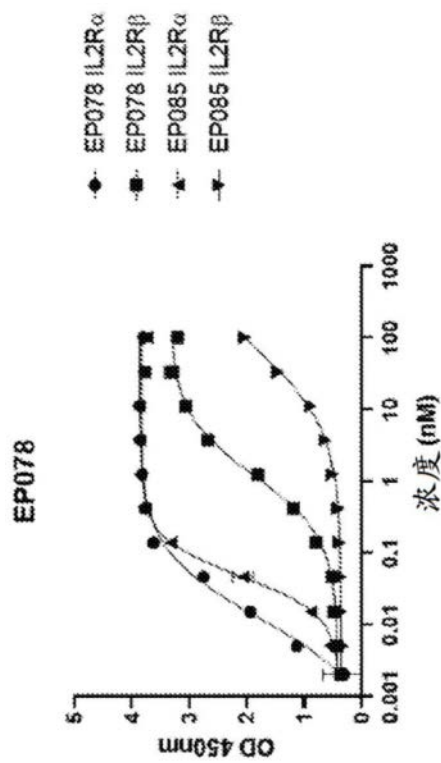


图37D

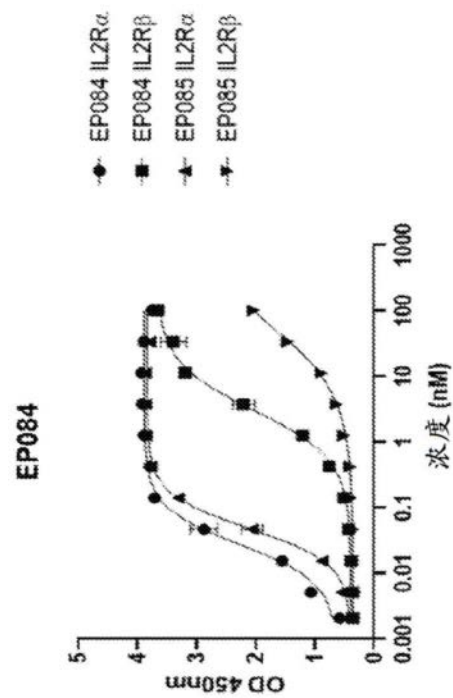


图37E

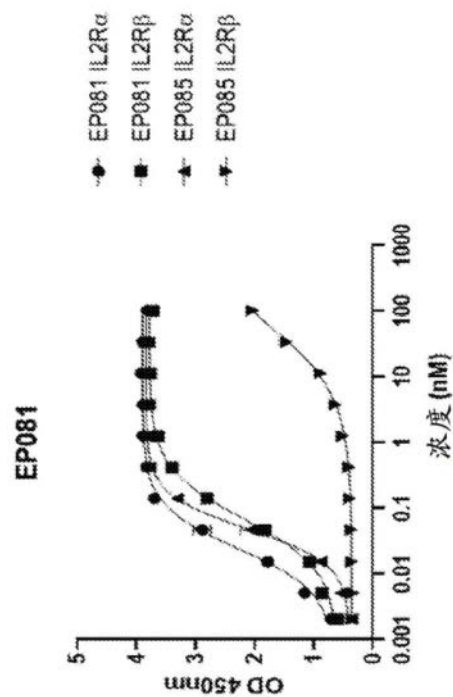


图37F

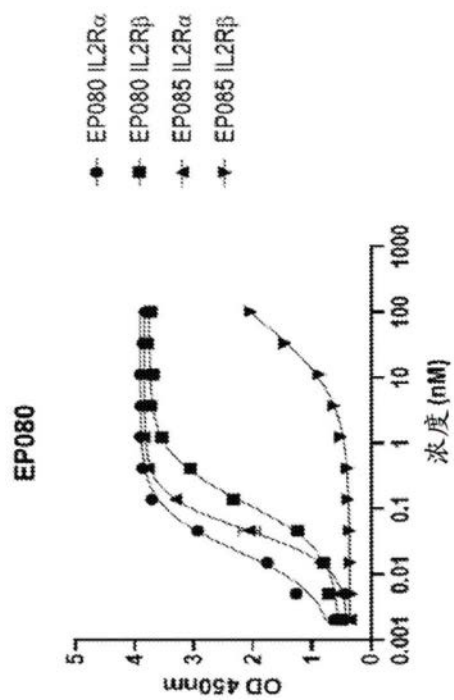


图37G

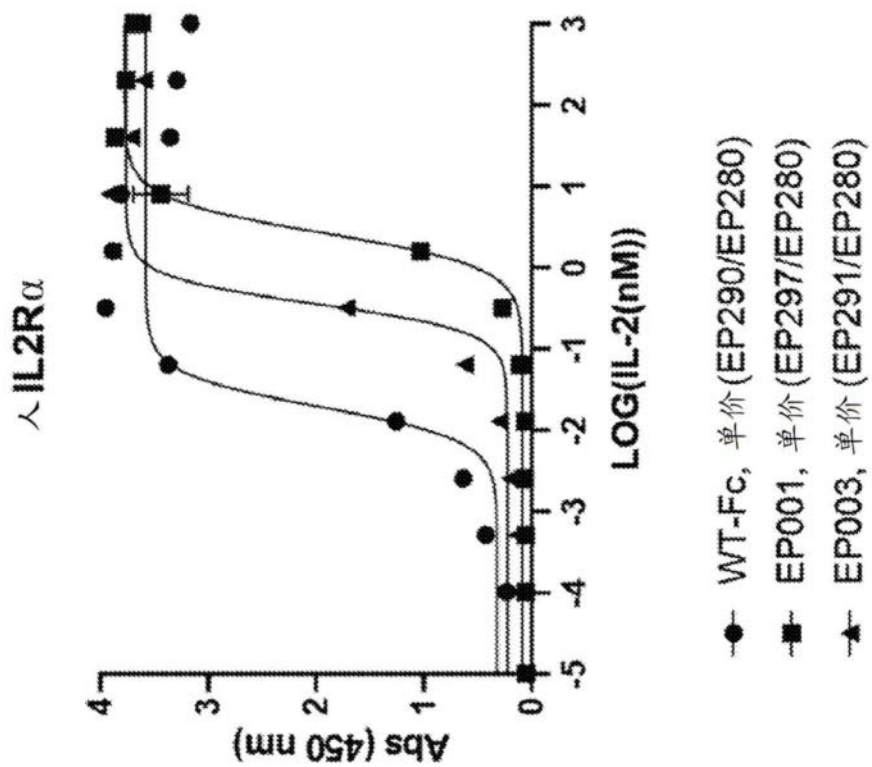


图38A

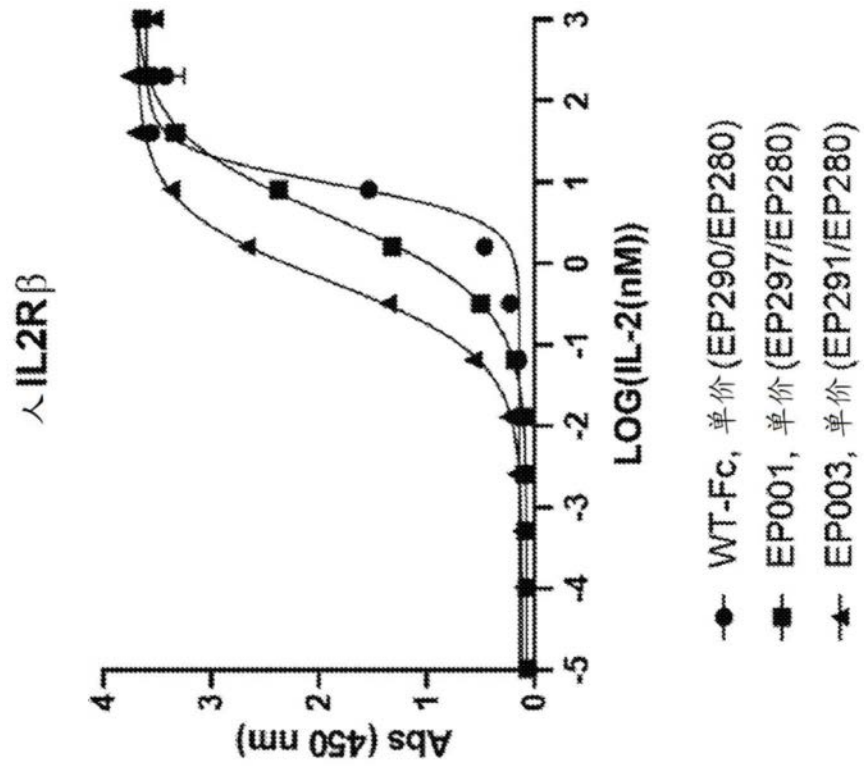


图38B

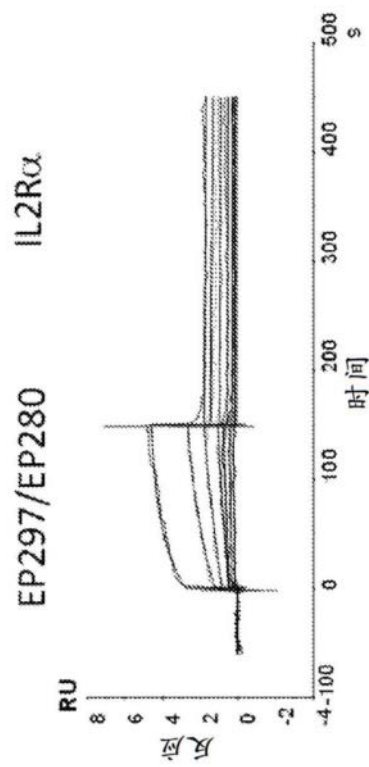


图39A

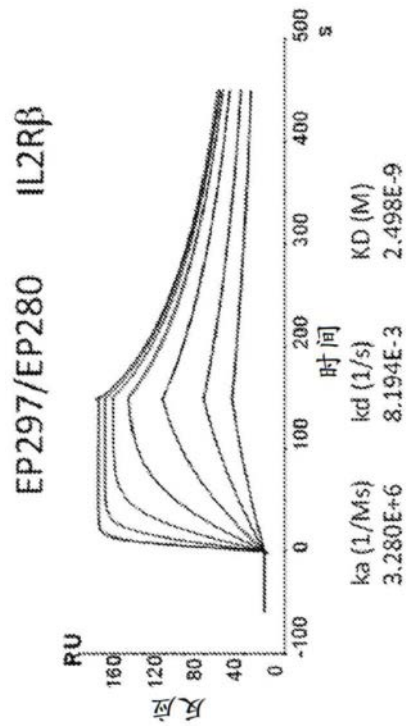


图39B

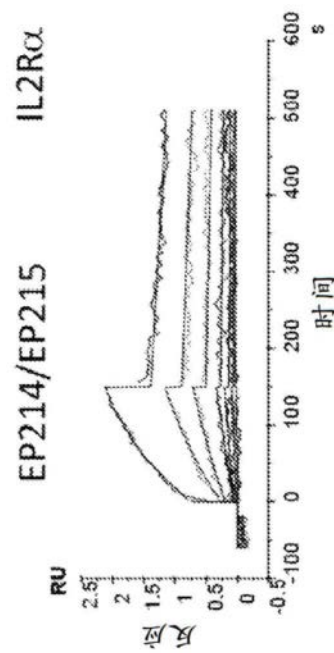


图39C

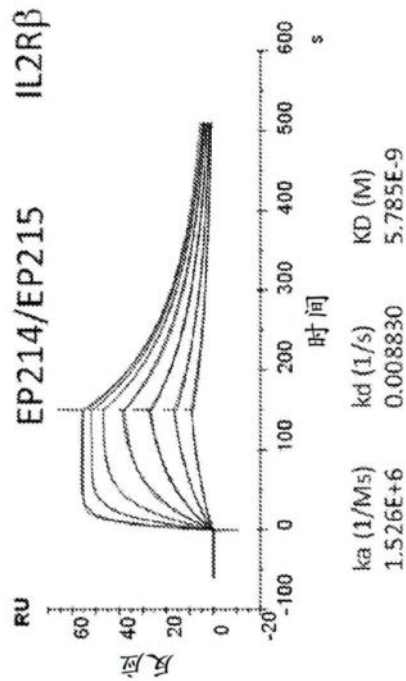


图39D

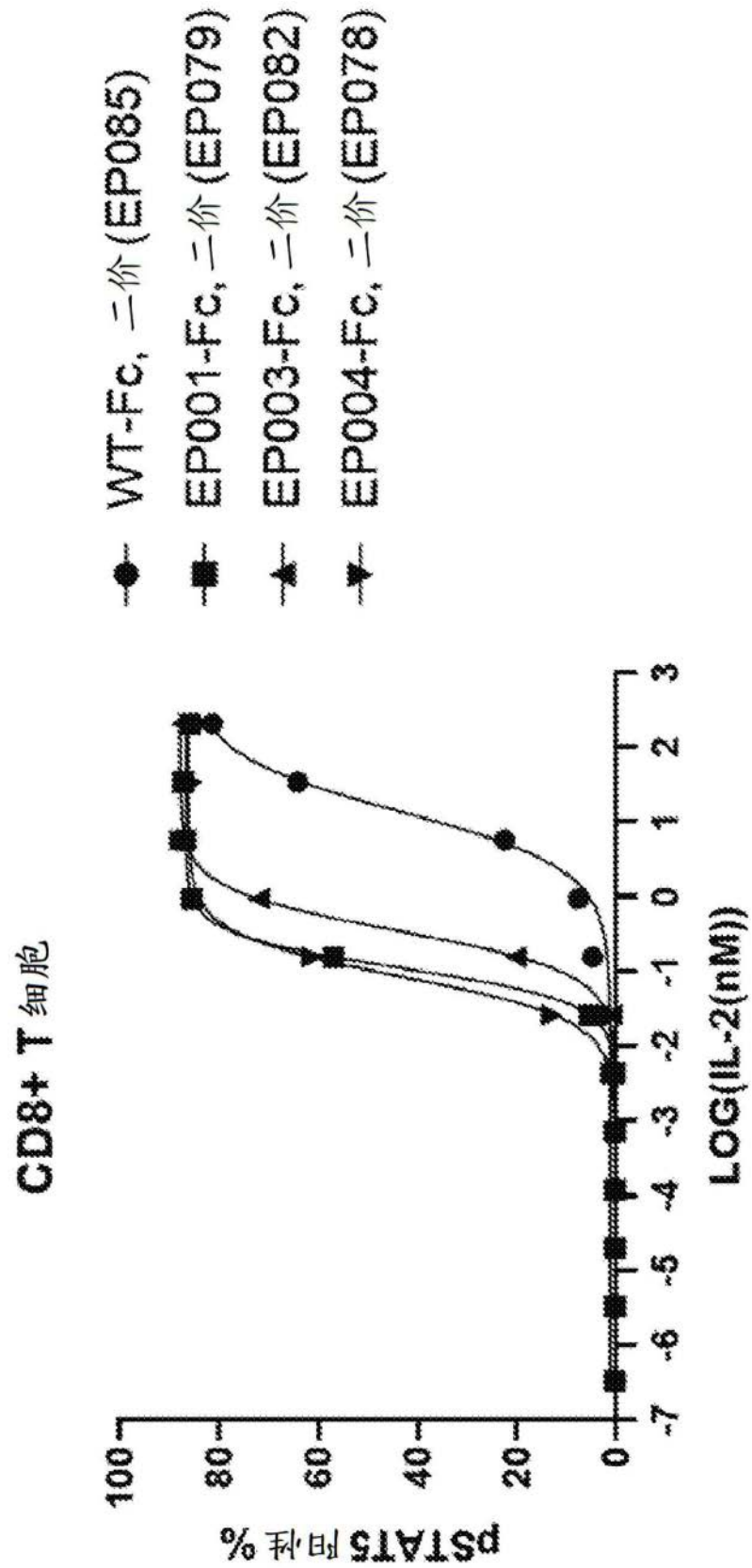


图40A

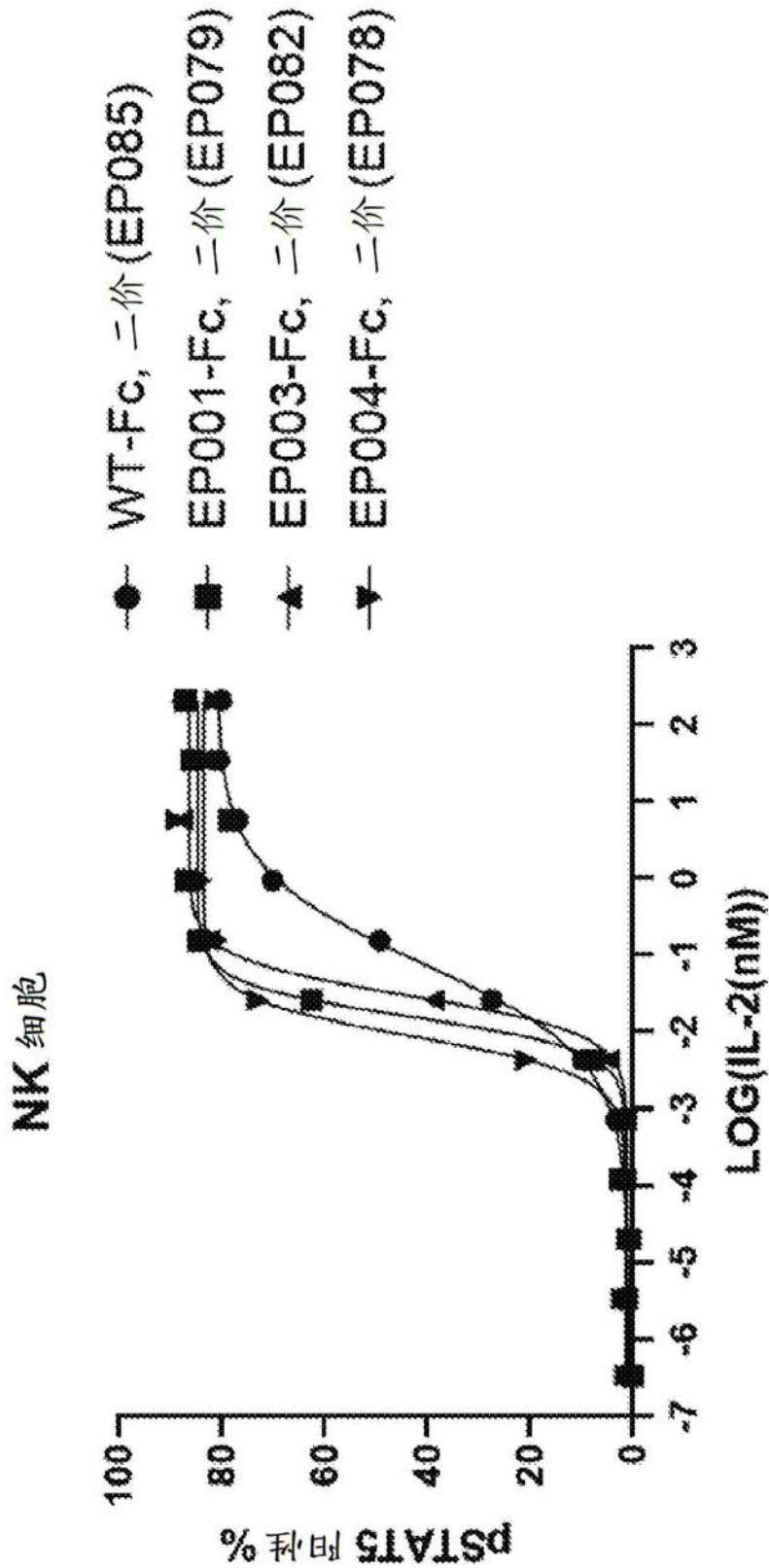


图40B

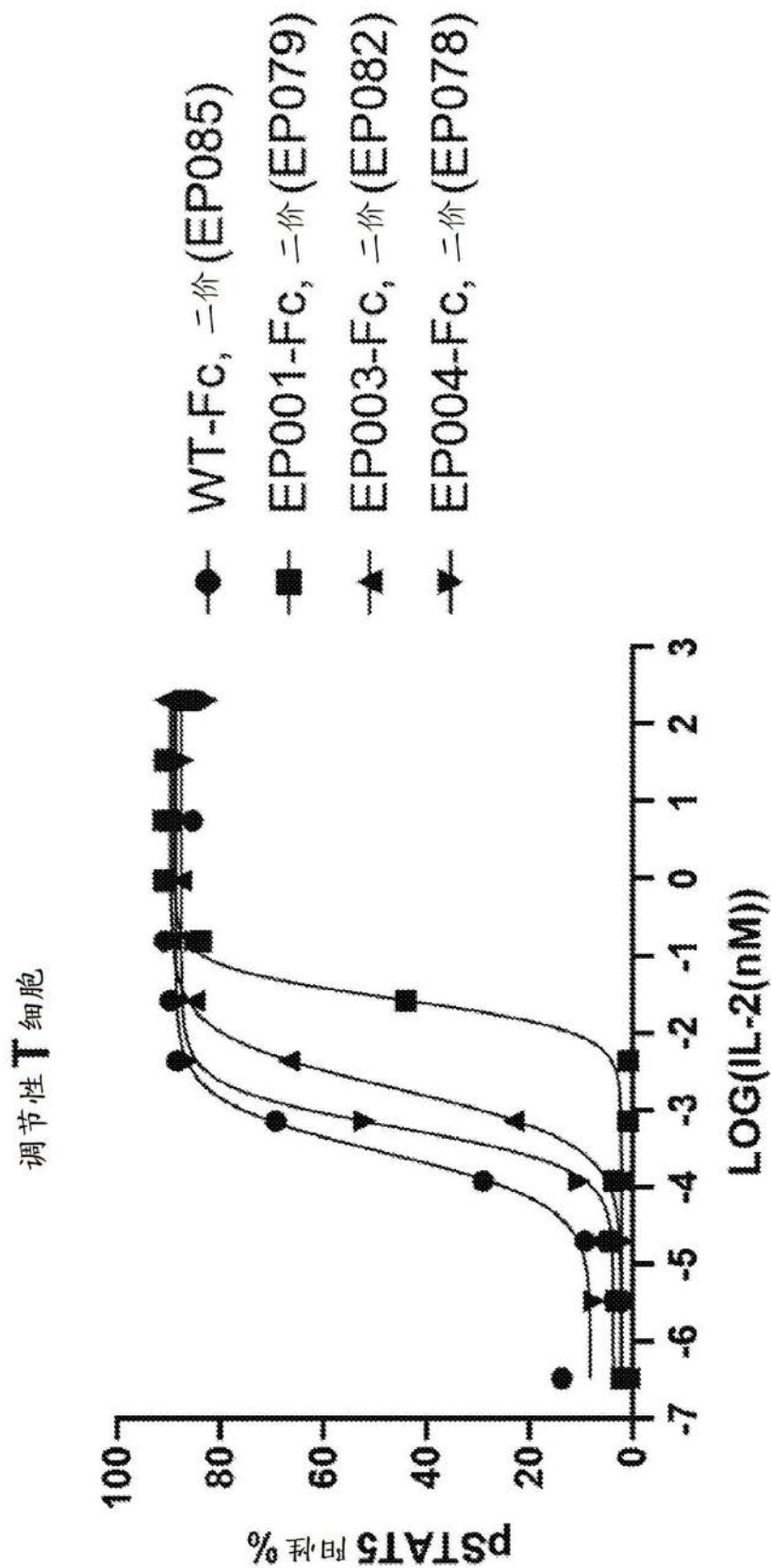


图40C

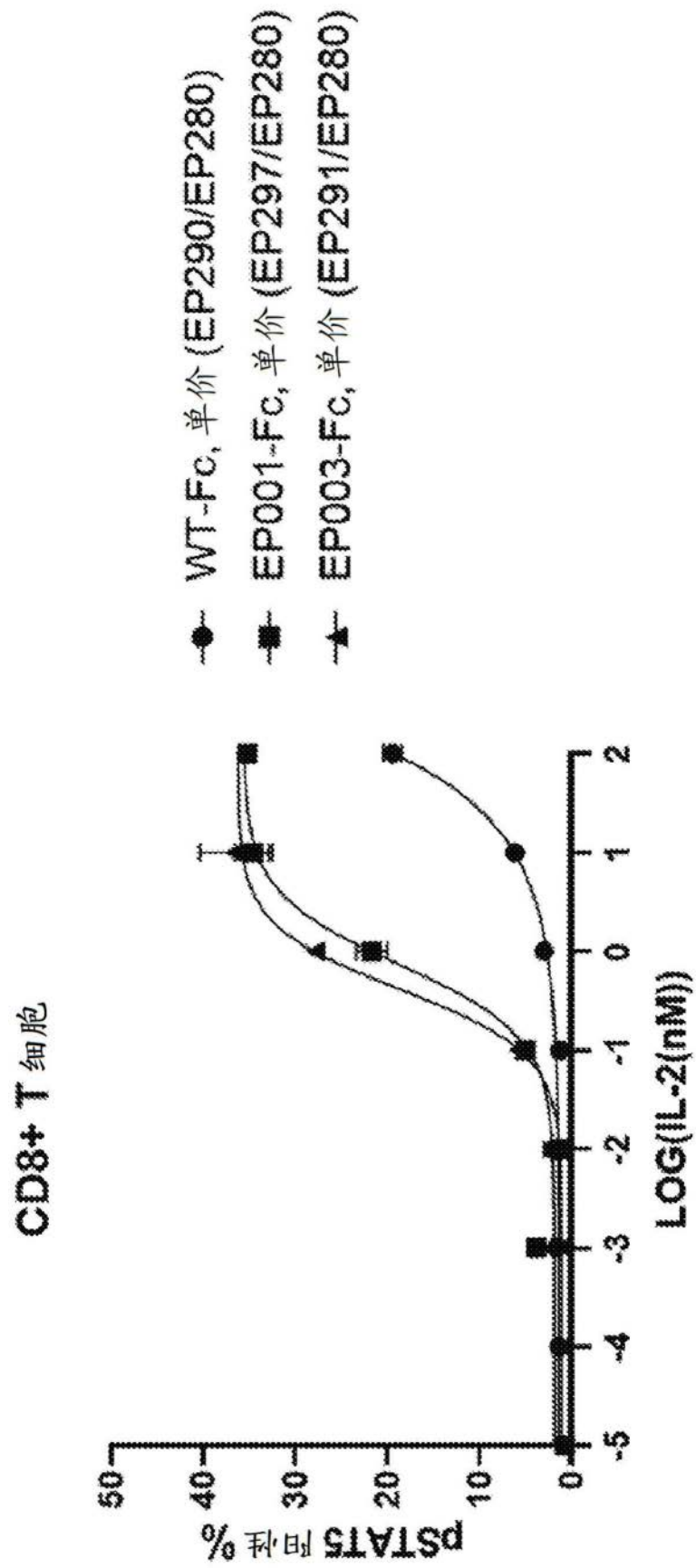


图41A

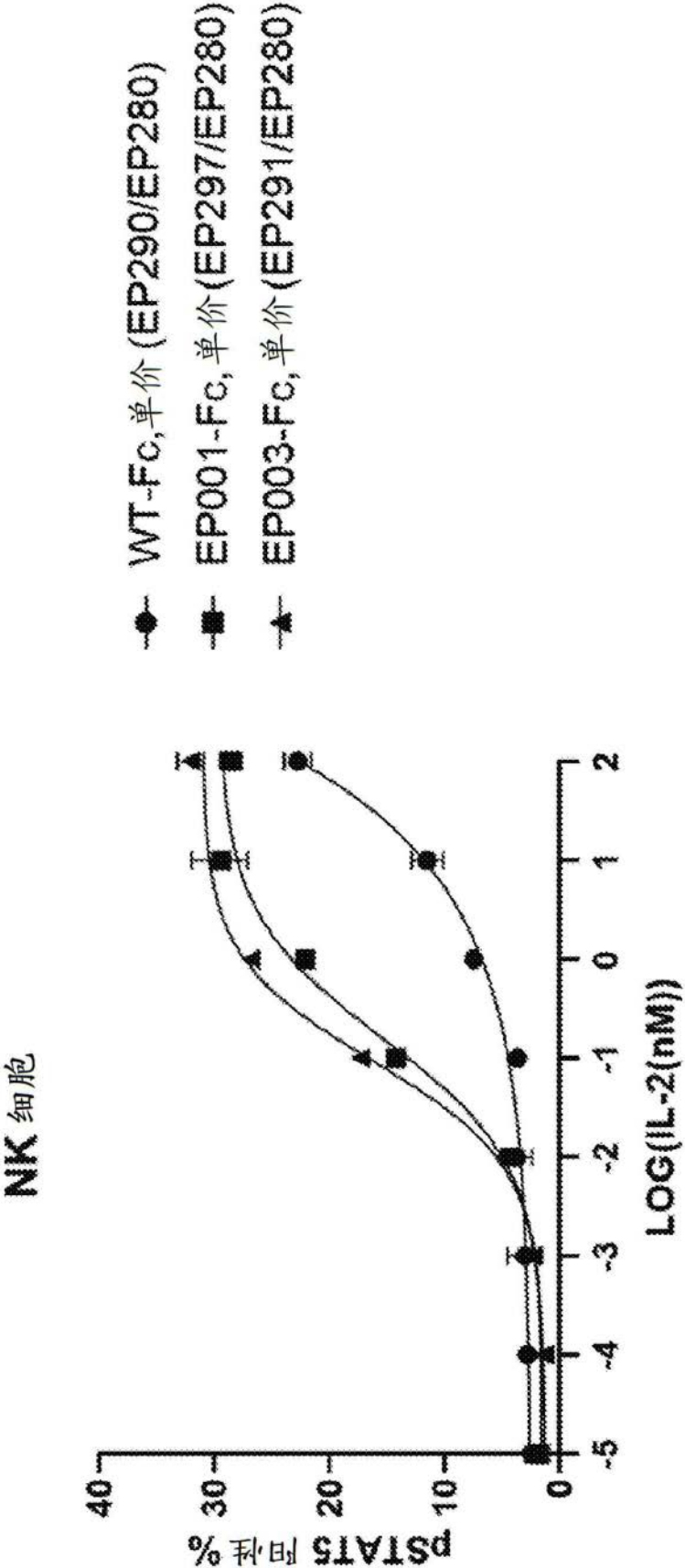


图41B

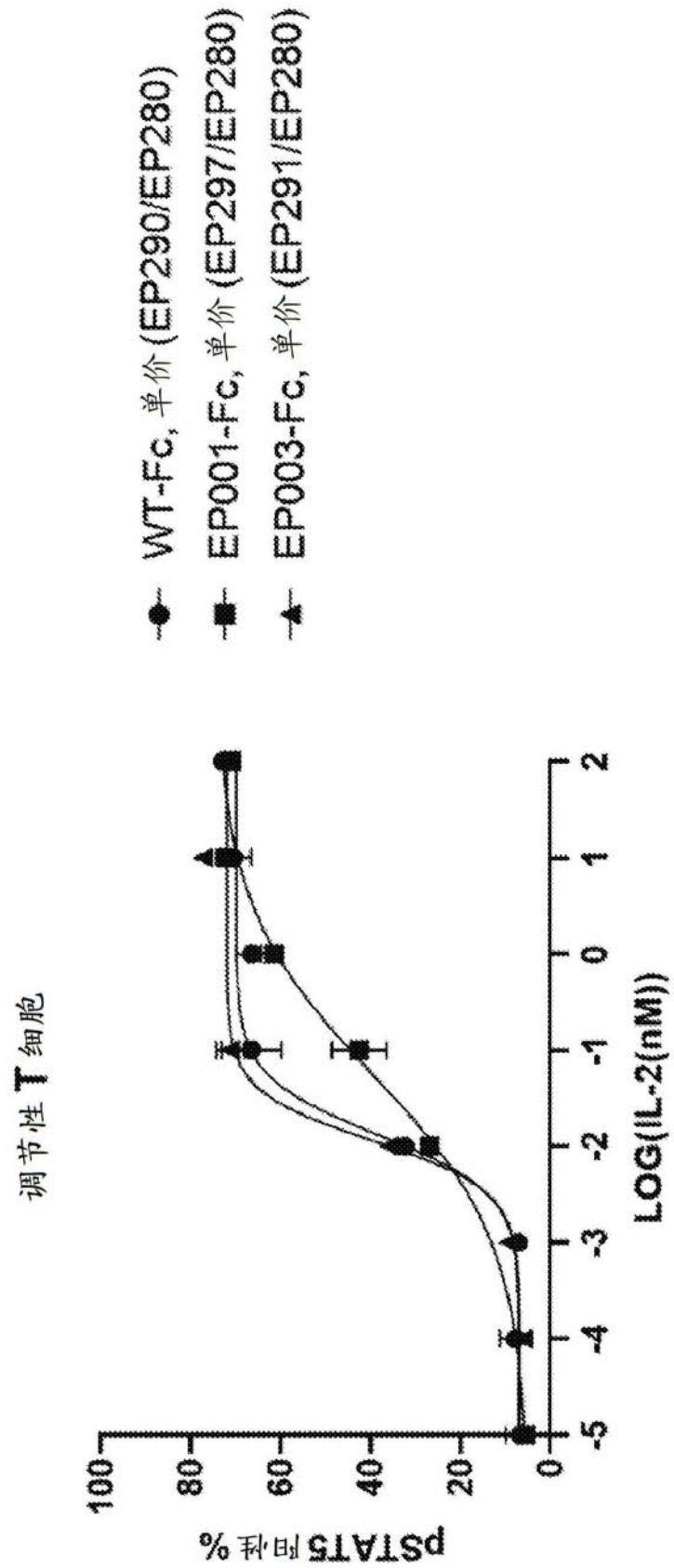


图41C

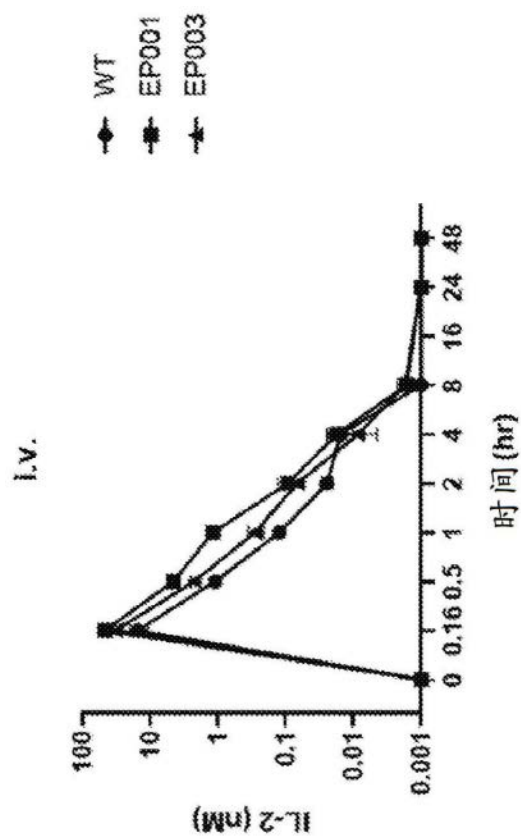


图42A

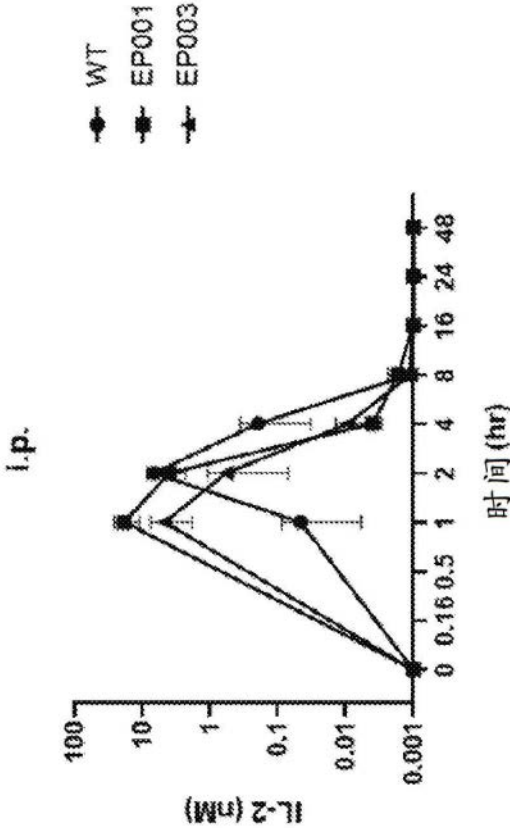


图42B

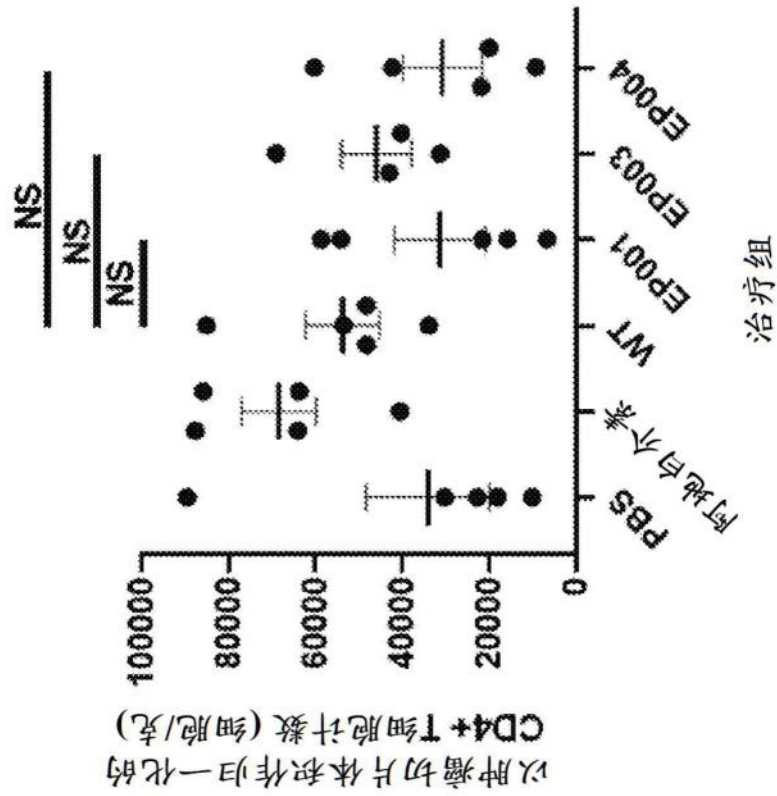


图43A

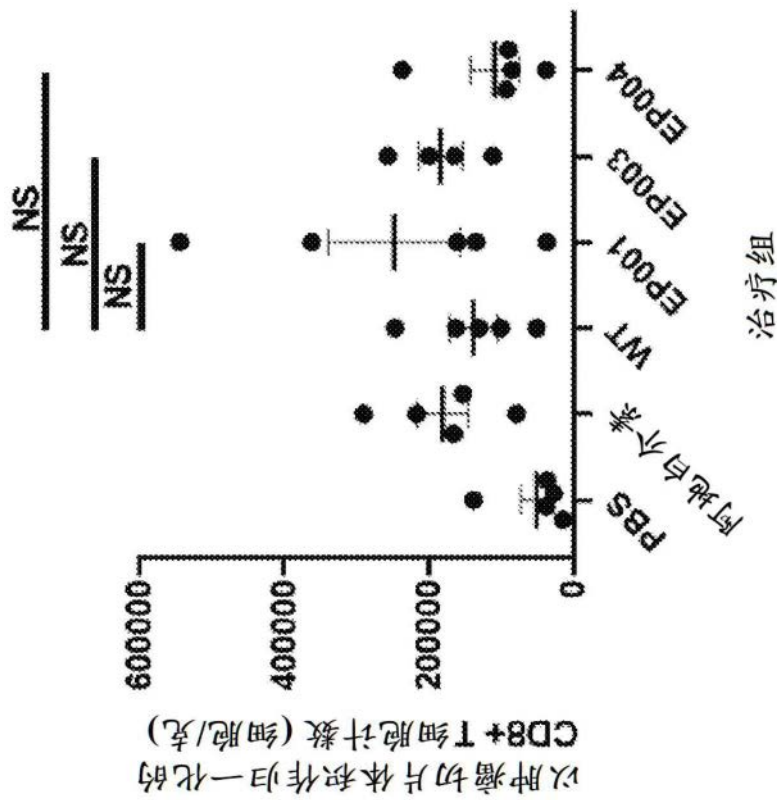


图43B

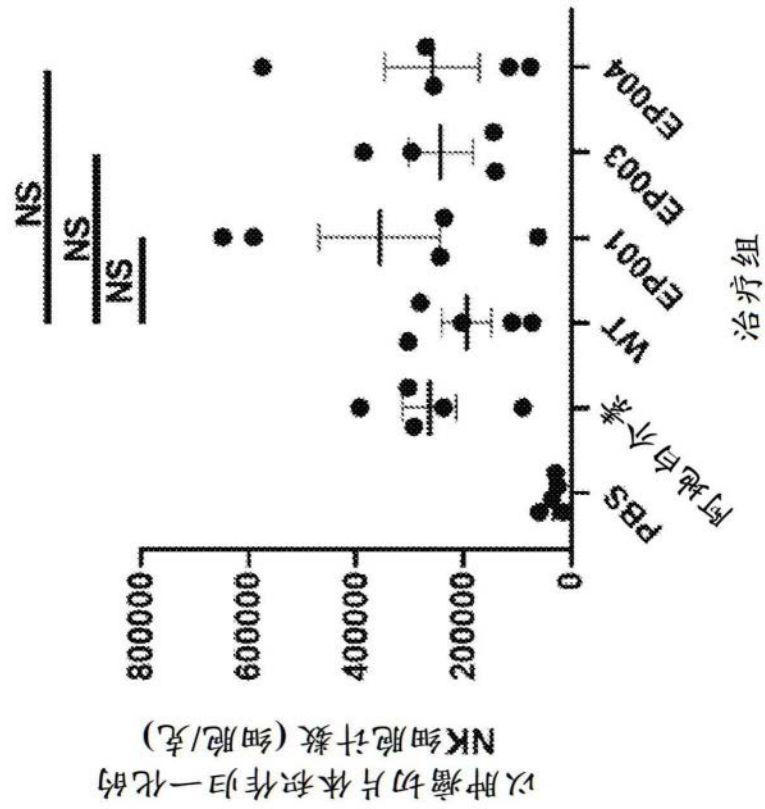


图43C

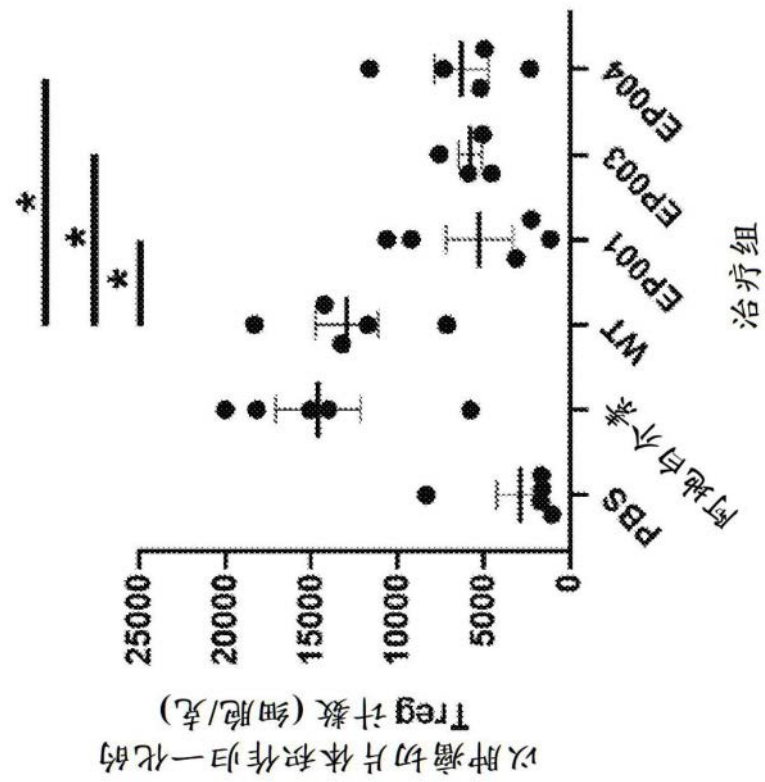


图43D

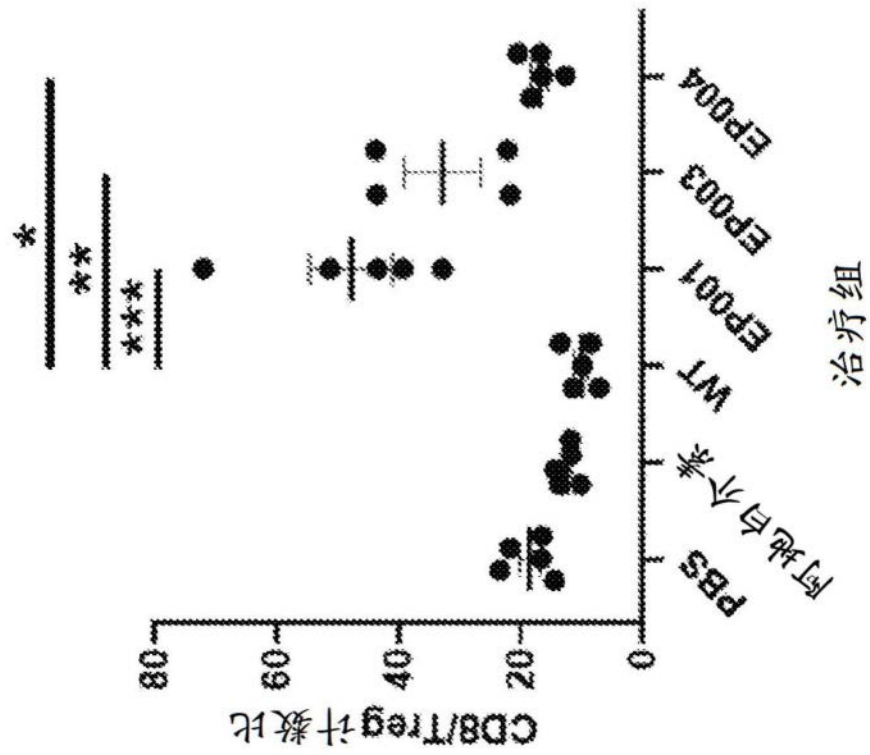


图44A

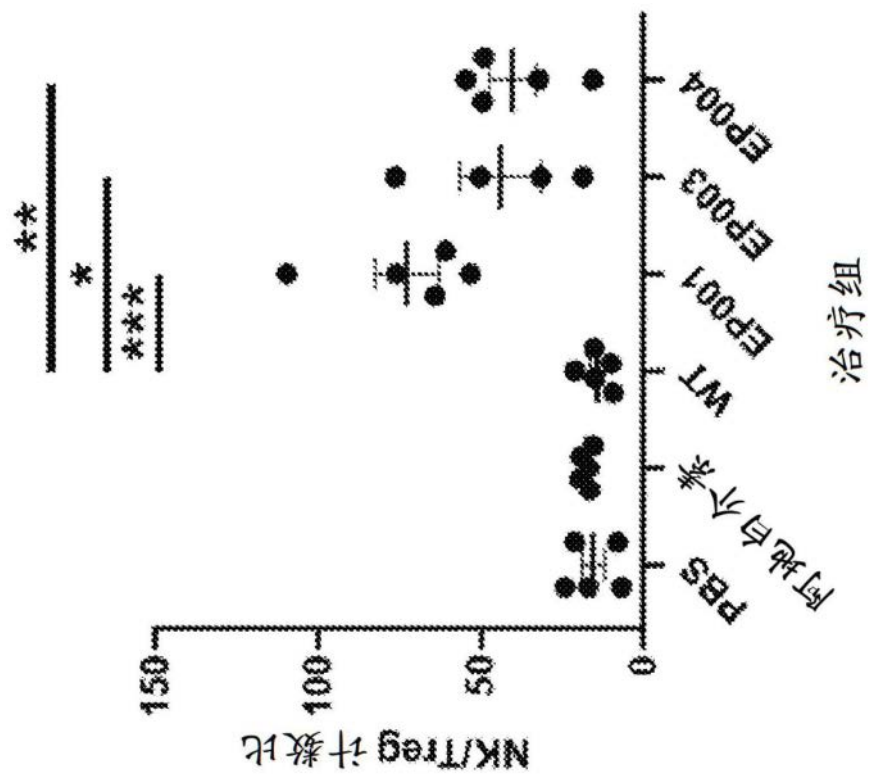


图44B

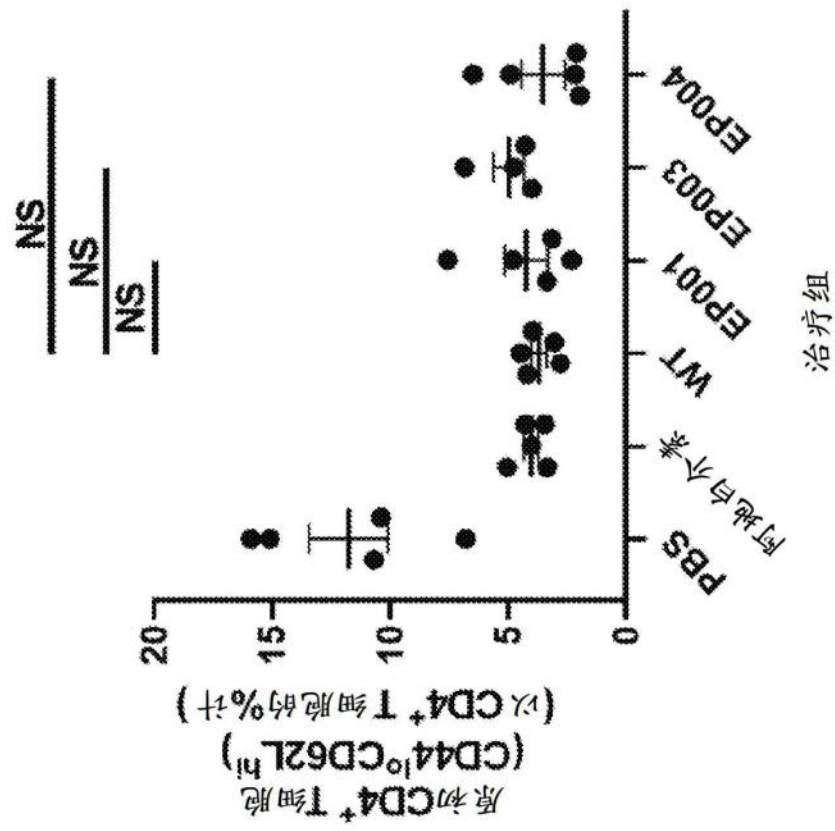


图45A

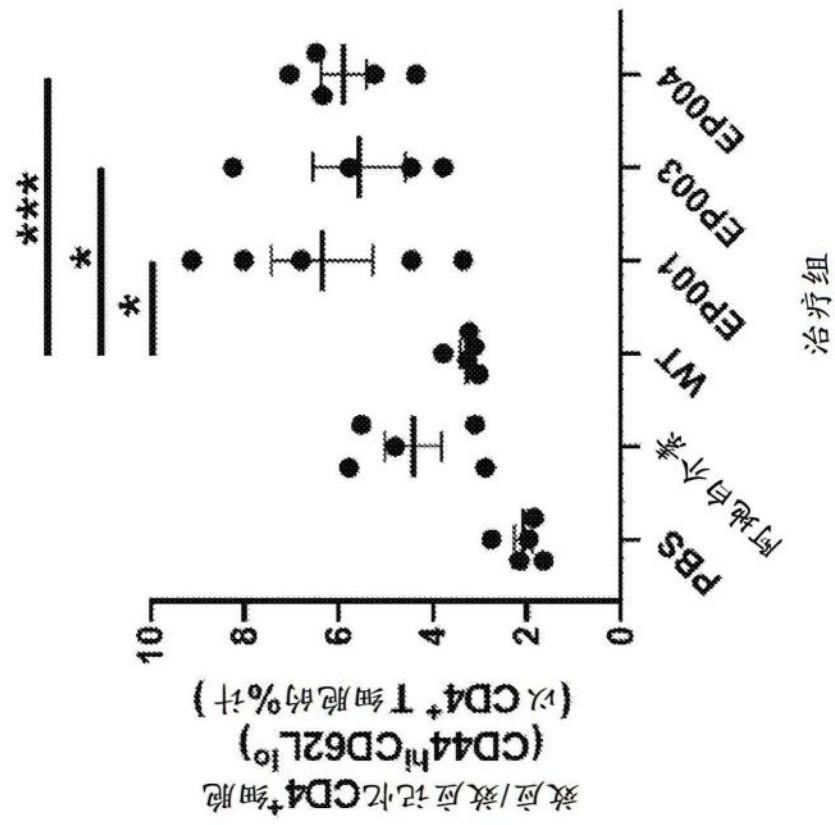


图45B

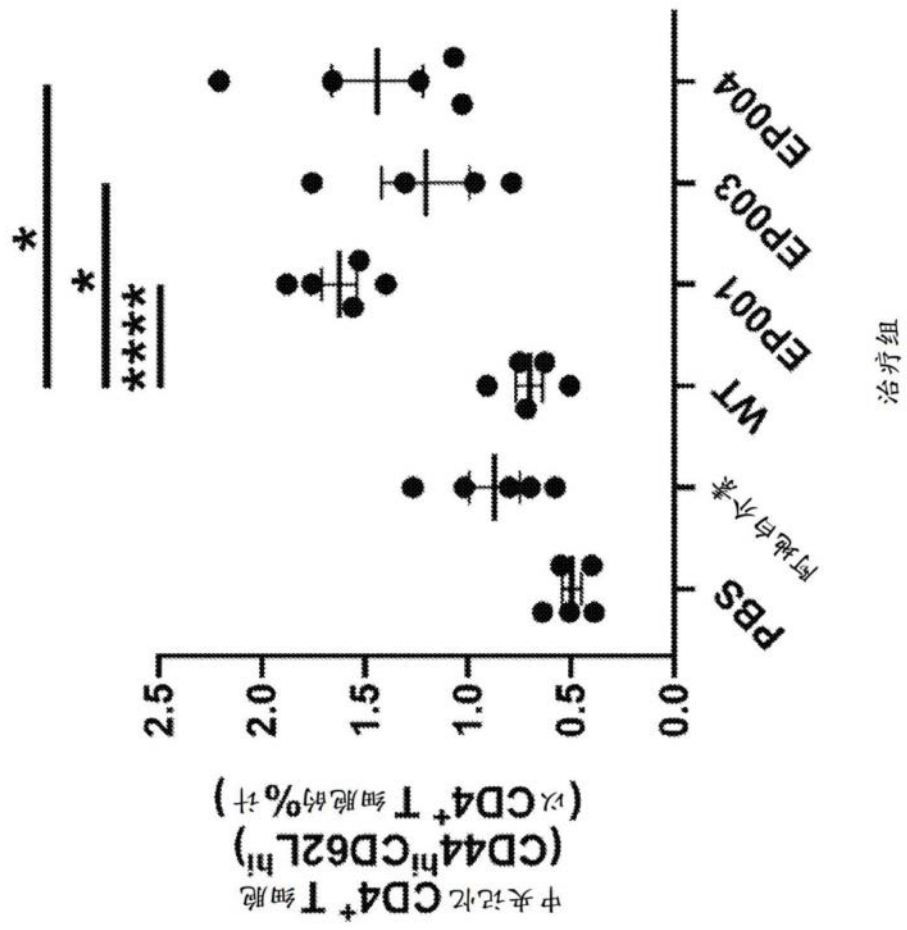


图45C