(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115443127 A
(43)申请公布日 2022.12.06

(21)申请号 202180030326.7
(22)申请日 2021.04.20
(30)优先权数据
63/013,801 2020.04.22 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.10.21
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2021/053254 2021.04.20
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/214658 EN 2021.10.28
(71)申请人 诺华股份有限公司
地址 瑞士巴塞尔
(72)发明人 I•菲舍尔 R•加布里埃尔
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 贾士聪 黄革生
(51)Int.Cl.
A61K 9/19(2006.01)
A61K 9/10(2006.01)
A61K 38/20(2006.01)
A61K 38/17(2006.01)
A61K 47/12(2006.01)
A61K 47/18(2006.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61K 47/10(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
A61P 37/00(2006.01)
A61P 31/00(2006.01)
A61P 17/02(2006.01)

权利要求书4页 说明书48页
序列表10页 附图12页

(54)发明名称

异源二聚体人白介素-15(HETIL-15)的药物组合物和药物产品

(57)摘要

本披露涉及包含IL-15和IL-15Rα的异源二聚体复合物的稳定药物组合物,以及包含此类组合物的药物产品。本披露还涉及这些组合物(例如作为具有使用说明书的试剂盒的一部分)和药物产品用于治疗淋巴细胞减少症、癌症或感染性疾病的用途。

CN 115443127 A

1.一种液体药物组合物,其包含IL-15/IL-15Rα复合物和约0.0001%至约1%(w/v)的表面活性剂。

2.根据权利要求1所述的组合物,所述组合物进一步包含约1mM至约100mM的缓冲剂,所述缓冲剂提供范围为约4.5至约8.5的pH。

3.根据权利要求2所述的组合物,所述组合物进一步包含约1mM至约500mM的至少一种稳定剂。

4.根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述表面活性剂是泊洛沙姆。

5.根据权利要求4所述的组合物,其中泊洛沙姆是泊洛沙姆188。

6.根据权利要求4或5所述的组合物,其中泊洛沙姆以约0.05%至约0.5%(w/v)的浓度存在。

7.根据权利要求1至3中任一项所述的组合物,其中所述表面活性剂是聚山梨酯。

8.根据权利要求7所述的组合物,其中所述聚山梨酯是聚山梨酯20或聚山梨酯80。

9.根据权利要求7或8所述的组合物,其中所述聚山梨酯是聚山梨酯20。

10.根据权利要求7或8所述的组合物,其中所述聚山梨酯是聚山梨酯80。

11.根据权利要求7至10中任一项所述的组合物,其中所述表面活性剂以约0.01%至约0.1%(w/v)的浓度存在。

12.根据权利要求2至11中任一项所述的组合物,其中所述缓冲剂是乙酸盐缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂或组氨酸缓冲剂。

13.根据权利要求2至12中任一项所述的组合物,其中所述缓冲剂是乙酸盐缓冲剂。

14.根据权利要求13所述的组合物,其中所述乙酸盐缓冲剂是乙酸钠缓冲剂。

15.根据权利要求2至14中任一项所述的组合物,其中所述缓冲剂的浓度为约10mM至约50mM。

16.根据权利要求2至15中任一项所述的组合物,其中所述缓冲剂的浓度为约15mM至约30mM。

17.根据权利要求2至16中任一项所述的组合物,其中所述缓冲剂的浓度为约20mM。

18.根据权利要求2至17中任一项所述的组合物,其中所述缓冲剂提供约4.7至约5.5的pH。

19.根据权利要求3至18中任一项所述的组合物,其中所述至少一种稳定剂是多元醇或糖。

20.根据权利要求3至19中任一项所述的组合物,其中所述至少一种稳定剂是糖,所述糖是蔗糖。

21.根据权利要求3至20中任一项所述的组合物,其中至少一种稳定剂以约100mM至约350mM的浓度存在。

22.根据权利要求3至21中任一项所述的组合物,其中至少一种稳定剂以约220mM至约300mM的浓度存在。

23.根据权利要求3至22中任一项所述的组合物,其中至少一种稳定剂以约260mM的浓度存在。

24.根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述IL-15/IL-15Rα复合物的浓度为约0.1mg/mL至约50mg/mL。

25.根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述IL-15/IL-15Rα复合物的浓度为约0.1mg/mL至约10mg/mL。

26.根据前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物包含约1mg/mL的IL-15/IL-15Rα复合物、约0.2%的泊洛沙姆188、约260mM的蔗糖、约20mM的乙酸钠,且pH为约5.0。

27.一种固体药物组合物,其包含IL-15/IL-15Rα复合物、和约10mM至约50mM的缓冲剂、约1mM至约500mM的至少一种稳定剂和约0.1mM至约50mM的至少一种张度剂,所述缓冲剂提供范围为约6.5至约8.5的pH。

28.根据权利要求27所述的组合物,其中所述缓冲剂是磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂或组氨酸缓冲剂。

29.根据权利要求27至28中任一项所述的组合物,其中所述缓冲剂是磷酸钠/钾缓冲剂。

30.根据权利要求27至29中任一项所述的组合物,所述组合物包含约1mM至约50mM的缓冲剂。

31.根据权利要求27至30中任一项所述的组合物,所述组合物包含约1mM至约5mM的缓冲剂。

32.根据权利要求27至31中任一项所述的组合物,其中所述组合物的pH为约6.5至约7.5。

33.根据权利要求27至32中任一项所述的组合物,其中所述组合物的pH为约7.3。

34.根据权利要求27至33中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含约1mM至约500mM的至少两种稳定剂。

35.根据权利要求27至34中任一项所述的组合物,所述组合物包含约1mM至约500mM的蔗糖和约1mM至约500mM的甘露醇。

36.根据权利要求27至35中任一项所述的组合物,所述组合物包含约5mM至约50mM的蔗糖和约100mM至约300mM的甘露醇。

37.根据权利要求27至36中任一项所述的组合物,所述组合物包含约30mM的蔗糖和约220mM的甘露醇。

38.根据权利要求27至37中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含约0.1mM至约50mM的至少两种张度剂。

39.根据权利要求27至38中任一项所述的组合物,所述组合物包含约0.1mM至约50mM KCl和约0.1mM至约50mM NaCl。

40.根据权利要求27至39中任一项所述的组合物,所述组合物包含约0.1mM至约1mM KCl和约10mM至约50mM NaCl。

41.根据权利要求27至40中任一项所述的组合物,所述组合物包含约0.375mM KCl和约20mM NaCl。

42.根据权利要求27至41中任一项所述的组合物,所述组合物包含约0.1mg/ml至约50mg/ml的IL-15/IL-15Rα复合物。

43.根据权利要求27至42中任一项所述的组合物,所述组合物包含约0.1mg/ml至约10mg/ml的IL-15/IL-15Rα复合物。

44.根据权利要求27至43中任一项所述的组合物,所述组合物包含约0.1mg/ml至约

0.5mg/ml的IL-15/IL-15Rα复合物。

45.根据权利要求27至44中任一项所述的组合物,其中所述组合物是冻干的。

46.根据权利要求27至45中任一项所述的组合物,所述组合物包含约0.24mg/mL的IL-15/IL-15Rα复合物、约30mM的蔗糖、约220mM的甘露醇、约0.375mM的氯化钾、约20mM的NaCl、约1.35mM的磷酸钠/钾,pH为约7.3。

47.根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述IL-15/IL-15Rα复合物包含含有SEQ ID NO:2的IL-15。

48.根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述IL-15/IL-15Rα复合物包含含有SEQ ID NO:5的IL-15Rα。

49.根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述IL-15/IL-15Rα复合物包含含有SEQ ID NO:2的IL-15和含有SEQ ID NO:5的IL-15Rα。

50.根据权利要求1-49中任一项所述的组合物,用于在癌症、淋巴细胞减少症、免疫缺陷、感染性疾病和/或伤口的治疗中使用。

51.根据权利要求50所述的组合物,用于在癌症的治疗中使用。

52.根据权利要求50或51所述的组合物,其中所述癌症是骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门癌、胃食道癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、默克(Merkel)细胞癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包括急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性成淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病)、儿童实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西氏(Kaposi)肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症(包括石棉诱导的癌症(例如,间皮瘤))以及所述癌症的组合。

53.根据权利要求50至52中任一项所述的组合物,其中所述癌症是黑素瘤、肾癌、结肠癌或前列腺癌。

54.根据权利要求50至53中任一项所述的组合物,其中所述癌症是黑色素瘤。

55.根据权利要求50至54中任一项所述的组合物,其中所述癌症是转移性的。

56.一种剂型,所述剂型包含根据权利要求1至49中任一项所述的药物组合物。

57.一种小瓶,所述小瓶包含根据权利要求1至49中任一项所述的药物组合物。

58.一种注射器,所述注射器包含根据权利要求1至49中任一项所述的药物组合物。

59.一种自动注射器,所述自动注射器包含根据权利要求58所述的注射器。

60.一种自动注射器,所述自动注射器包含根据权利要求1-49中任一项所述的组合物。

61.根据权利要求1-26中任一项所述的组合物,其中所述液体组合物维持:

a.在2℃-8℃储存24周后,约0.1%至约0.25%的总聚集体;

b.在25℃储存12周后,约0.15%至约0.35%的总聚集体;

c.在40℃储存6周后,约0.3%至约0.6%的总聚集体;

d.在2℃-8℃储存24周后,约0.25%至约0.75%的总片段;

e.在25℃储存12周后,约1.5%至约2.0%的总片段;

f.在40℃储存6周后,约2.5%至约3.5%的总片段;

g.在2℃-8℃储存24周后,约42.5%至约45%的总碱性变体;

h,在2℃-8℃储存24周后,约55%至约57.5%的总酸性变体;

i在25℃储存12周后,约38%至约42%的总碱性变体;

j.在25℃储存12周后,约55%至约60%的酸性变体;

k.在2℃-8℃储存24周后,通过CE-SDS评估的约65%至约67%的IL-15Rα;

l.在2℃-8℃储存24周后,通过CE-SDS评估的约17%至约19%的IL-15;

m.在2℃-8℃储存24周后,通过CE-SDS评估的约7%至约8%的IL-15HMW;

n.在2℃-8℃储存24周后,通过CE-SDS评估的约5%至约6%非糖基化IL-15;

o.在2℃-8℃储存24周后,通过RP-HPLC评估的约2%至约4%的总杂质;

p.在25℃储存12周后,通过RP-HPLC评估的约3%至约5%的总杂质;

q.在40℃储存6周后,通过RP-HPLC评估的低于5%的总杂质;

r.在2℃-8℃储存24周后,通过PAMAS评估的基本上没有SVP>2μm;

s.在2℃-8℃储存24周后,通过PAMAS评估的基本上没有SVP>10μm;

t.在2℃-8℃储存24周后,低于1.0NTU的混浊度;

u.经过五次冷冻/解冻循环或摇动过夜后,通过SEC评估的低于0.25%的总聚集体;或

v,经过五次冷冻/解冻循环或摇动过夜后,通过SEC评估的低于0.35%的总片段。

异源二聚体人白介素-15(HETIL-15)的药物组合物和药物产品

技术领域

[0001] 本披露涉及异源二聚体人白介素-15(IL-15/IL-15Rα)复合物的药物组合物、包含此类药物组合物的药物产品、以及该药物组合物的用途。特别地,本披露涉及包含例如如本文所披露的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的稳定的液体和固体药物配制品。

[0002] 序列表

[0003] 本申请包含按ASCII格式以电子方式提交并特此通过引用以其全文并入的序列表。所述ASCII副本创建于2021年3月31日,名称为PAT058681-SL.txt并且大小为19,095字节。

背景技术

[0004] 细胞因子白介素-15(IL-15)是由体内许多细胞产生的四α-螺旋束淋巴因子家族的成员。IL-15在调节先天性和适应性免疫系统的活性方面发挥关键作用,例如维持记忆T细胞对入侵病原体的应答、抑制细胞凋亡、活化树突状细胞、以及诱导自然杀伤(NK)细胞的增殖和细胞毒性活性。

[0005] IL-15受体由三条多肽组成,即类型特异性IL-15受体α(“IL-15Rα”)、IL-2/IL-15受体β(或CD122)(“β”)以及由多种细胞因子受体共有的常见γ链(或CD132)(“γ”)。认为IL-15Rα是由多种细胞类型表达,但不一定与β和γ结合。已证实IL-15信号传导在存在于肥大细胞上的整个IL-15Rα、IL-15Rβ和IL-15Rγ的异源二聚体复合物;整个β和γ的异源二聚体复合物,或整个IL-15RX亚基中出现。

[0006] IL-15通过受体的胞外结构域的外显子2中的“寿司(sushi)结构域”以高亲和力特异性结合至IL-15Rα。在跨内体循环和迁移回细胞表面之后,这些IL-15复合物获得对表达IL-15Rβγ低亲和力受体复合物的旁观者细胞进行活化,从而通过Jak/Stat路径来诱导IL-15介导的信号传导的性质。已观察到IL-15Rα的野生型可溶性形式(“sIL-15Rα”),该sIL-15Rα在紧邻受体跨膜结构域远侧的胞外结构域中的切割位点处被切割。

[0007] 根据其在免疫系统中的多方面作用,已探究了被设计用于调节IL-15介导的功能的多种疗法。最近的报道表明,IL-15在与sIL-15Rα或寿司结构域复合时维持其免疫增强功能。重组IL-15和IL-15/IL-15Rα复合物已显示出在不同程度上促进记忆CD8 T细胞和NK细胞的扩增,并增强多种临床前模型中的肿瘤排斥。此外,在小鼠模型中含有IL-15或IL-15/IL-15Rα复合物的构建体的肿瘤靶向,使移植有同源肿瘤的具有免疫能力的动物或注射有人肿瘤细胞系的T细胞和B细胞缺陷型SCID小鼠(保留NK细胞)中的抗肿瘤应答得以改善。

[0008] 治疗蛋白通常被配制成水性形式以备胃肠外施用或者配制成冻干物以在施用前与适合的稀释剂重构。

[0009] 冻干物中的治疗性蛋白质在很长一段时间内都是稳定的,并且可以重构以给出活性成分的溶液。期望重构的溶液具有低水平的蛋白质聚集以用于向患者递送。

[0010] 药物组合物具有较短的保质期,并且所配制的蛋白质可能会由于储存期间的化学

和物理不稳定性而丧失生物学活性。包含蛋白质的药物产品非常容易受到物理和化学降解的影响，并且液体组合物中蛋白质的临界稳定性通常会阻止其在室温或冷藏条件下的长期储存，而冻干物通常更稳定。溶液中可能发生物理和化学反应(聚集[共价和非共价]、脱酰胺、氧化、截短、异构化、变性)，导致降解产物水平提高和/或生物活性丧失。

[0011] 包含蛋白质或蛋白质复合物(例如IL-15/IL-15Rα复合物)的组合物应在运输和处理过程中为蛋白质或蛋白质复合物(例如IL-15/IL-15Rα复合物)提供足够的物理和化学稳定性，以确保当将分子施用于患者时，剂量和产品安全性要求得到满足。具体地，包含蛋白质或蛋白质复合物(例如IL-15/IL-15Rα复合物)的可接受的组合物必须增强稳定性并最小化蛋白质降解，尤其是蛋白质聚集，以避免严重的免疫原性反应并保留生物活性分子。此外，该组合物还必须具有对于皮下应用而言可接受的渗透压和pH值，并且具有低粘度作为制造(复配、过滤、填充)和可注射性的先决条件。然而，蛋白质疗法的药物配制品长期以来存在的一个问题是稳定性和聚集性，其中蛋白质分子会粘在一起，并会导致形成不透明的不溶物或沉淀，这可能会阻塞注射器或泵，或者在施用后显示出不希望的反应，对患者来说是不安全的。

发明内容

[0012] 目前提供了包含异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的药物组合物，例如本文所披露的，其在延长的时间段内是稳定的。这样的药物组合物可以是固体组合物或液体组合物。

[0013] 一方面，本文披露了液体药物组合物，其包含例如如本文披露的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物和约0.0001％至约1％(w/v)的表面活性剂，任选地进一步包含约1mM至约100mM的缓冲剂(其提供范围为约4.5至约8.5的pH)，任选地进一步包含约1mM至约500mM的至少一种稳定剂，及其子组合。液体组合物不是由冻干物重构的，而是即用型液体组合物。

[0014] 一方面，本文披露了液体药物组合物，其包含例如如本文披露的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物，并且不包含表面活性剂，任选地进一步包含约1mM至约100mM的缓冲剂(其提供范围为约4.5至约8.5的pH)，任选地进一步包含约1mM至约500mM的至少一种稳定剂，及其子组合。液体组合物不是由冻干物重构的，而是即用型液体组合物。

[0015] 本文还披露了包含以下的药物产品：容器和配置于所述容器内的液体药物组合物，所述组合物包含约0.1mg/mL至约50mg/mL或约0.1mg/mL至约10mg/mL的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物，例如，如本文所披露的，和任选地约0.0001％至约1％(w/v)的表面活性剂，任选地进一步包含约1mM至约100mM的缓冲剂(其提供范围为约4.5至约8.5的pH)，任选地进一步包含约1mM至约500mM的至少一种稳定剂及其子组合，其中所述液体药物组合物不是由冻干物重构的。

[0016] 在另一方面，本文披露了如下固体药物组合物，其包含异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物；和约1mM至约100mM的缓冲剂(其提供范围为约6.5至约8.5的pH)，以及约1mM至约500mM的至少一种稳定剂及其子组合。

[0017] 本文还披露了包含以下的药物固体产品：容器和配置于所述容器内的药物组合物，所述组合物包含约0.1mg/mL至约50mg/mL或约0.1mg/mL至约10mg/mL的例如如本文所披露的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物；包含约1mM至100mM的缓冲剂(其提供范围为约6.5

至约8.5的pH)和约1mM至约500mM的至少一种稳定剂及其子组合。

[0018] 本披露还涉及这些药物组合物用于治疗淋巴细胞减少症、癌症或感染性疾病的用途,并且涉及含有这些药物产品和组合物的试剂盒。

[0019] 在以下说明书和所附权利要求书中提供了另外的组合物、产品、方法、方案、用途和试剂盒。

附图说明

[0020] 图1A至图1C:A)在2℃-8℃储存6个月(24周),B)在25℃储存3个月(12周)和C)在40℃储存1.5个月(6周)后,配制品F1至F3的总聚集体。

[0021] 图2A至图2C:A)在2℃-8℃储存6个月(24周),B)在25℃储存3个月(12周)和C)在40℃储存1.5个月(6周)后,通过SEC评估的配制品F1至F3的总降解产物。

[0022] 图3A至图3B:A)在2℃-8℃储存6个月(24周)和B)在25℃储存3个月(12周)后,配制品F1至F3的总电荷变体。

[0023] 图4A至图4D:在2℃-8℃储存6个月(24周)后,通过CE-SDS评估的配制品F1至F3中A)IL-15受体α(IL-15Ra),B)IL-15主要种类,C)IL-15高分子量物质(HMW)和D)非糖基化IL-15的纯度。

[0024] 图5A至图5C:A)在2℃-8℃储存6个月(24周),B)在25℃储存3个月(12周)和C)在40℃储存1.5个月(6周)后,通过RP-HPLC评估的配制品F1至F3的纯度。

[0025] 图6A至图6B:在2℃-8℃储存6个月(24周)后,通过PAMAS评估的配制品F1至F3中A)尺寸大于2μm和B)尺寸大于10μm的亚可见颗粒(SVP)的数量。

[0026] 图7:在2℃-8℃储存6个月(24周)后,配制品F1至F3的浊度(NTU=比浊法浊度单位)。

[0027] 图8A至图8B:F2和F3经受五个冷冻/解冻循环或摇动过夜的机械应力结果。显示的是通过SEC评估的A)总聚集体和B)总片段。

[0028] 图9A至图9E:在2℃-8℃分别储存5个月(SVP>2μm)和4个月(SVP>10μm)后,通过PAMAS评估的在聚山梨酯20或泊洛沙姆188存在下包含乙酸盐的配制品中(pH 4.7至5.5)中A)尺寸大于2μm和B)尺寸大于10μm的亚可见颗粒(SVP)的数量。在2℃-8℃储存长达12个月后,通过PAMAS评估的所有配制品中C)尺寸大于2μm,D)尺寸大于5μm,和E)尺寸大于10μm的亚可见颗粒(SVP)的数量。

[0029] 图10:在40℃储存长达3个月后,通过RP-HPLC评估的所有配制品的纯度。

具体实施方式

[0030] 本发明涉及包含例如如本文披露的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的药物配制品。药物配制品可以呈固体(例如冻干)或液体形式。

[0031] 为了可以更容易地理解本披露,在下文及整个具体实施方式中定义了某些术语。除非本文另外定义,否则本披露使用的所有科学和技术术语具有与本领域普通技术人员通常所理解相同的含义。本文所提到的所有出版物、专利申请、专利、科学出版物和其他参考文献均通过援引以其全文并入。在所引用的参考文献与本文所披露内容相抵触的范围内,以本说明书为准。在本申请的全文中,如果说明书文本(例如,表1)与序列表之间存在差异,

则以说明书文本为准。此外，材料、方法和实例仅是说明性的而不旨在限制。在本文描述的所有方法能够以任何合适顺序进行，除非本文另外指明或另外与上下文明显相矛盾。本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如“如”)的使用仅旨在更好地说明本发明，而不对另外要求保护的本发明范围做出限制。

[0032] 本发明的一个或多个方面和实施例的细节陈述于附图和下文的描述中。根据说明书和附图并且如权利要求书，本发明的其他特征、目标和优点将是清楚的。

[0033] 定义

[0034] 如说明书和权利要求书中所使用的，单数形式“一个/种(a/an)”和“所述(the)”是指一个/种或多于一个/种(例如，至少一个/种)该冠词的语法宾语，除非上下文另有明确地说明。例如，术语“细胞”包括多个细胞，包括其混合物。

[0035] 在整个说明书和随后的权利要求中，除非上下文另有要求，除非另有说明，否则单词“包含(comprise)”和变体例如“包含(comprises)”和“包含(comprising)”在本文中以其开放式和非限制性的意义使用。如本文所用，术语“包含”涵盖“包括”以及“由.....组成(consisting of)”，例如，“包含”X的组合物可以仅由X组成，或者可以包括另外的一些，例如X+Y。

[0036] 当在本文中使用时，“由.....组成”不包括在方面、实施例和/或权利要求部分中未指定的任何元素、步骤或成分。当在本文中使用时，“基本上由.....组成”不排除不会实质上影响该方面、实施例和/或权利要求的基本和新颖特征的材料或步骤。

[0037] 在本文的每个例子中，术语“包含”、“基本上由.....组成”和“由.....组成”中的任何一个可以用其他两个术语中的任一个替换。

[0038] 除非上下文另有明确说明，否则术语“或”在本文中用于表示术语“和/或”并且可与术语“和/或”互换使用。

[0039] 所有数字标记，例如pH、温度、时间、浓度和分子量(包括范围)，都是近似值，其以0.1的增量变化(+)或(-)。应当理解，尽管并非总是明确说明，但是所有数字指定前面都有术语“约”。与本文所使用的参考数值及其语法等同形式相关的术语“约”和“大约”可以包括数值本身以及与该数值正负10％的一系列值。例如，量“约10”包括10和从9到11的任何量。例如，与参考数值相关的术语“约”还可以包括与该数值正负10％、9％、8％、7％、6％、5％、4％、3％、2％或1％的一系列值。在某些情况下，即使没有特别提及术语“约”或“大约”，通篇披露的数值也可以为“约”该数值。还应理解，尽管并非总是明确说明，但本文描述的药剂仅是实例，并且其等效物是本领域已知的。

[0040] 本文所述的组合物、方法和用途涵盖具有指定序列，或与指定序列基本上相同或相似的序列(例如，与指定序列具有至少约85％、至少约90％、至少约95％同一性或更高同一性的序列)的多肽和核酸。在氨基酸序列的语境中，术语“基本上相同”在本文中用于指这样的第一氨基酸:它含有i)与第二氨基酸序列中的比对氨基酸残基相同的，或ii)为第二氨基酸序列中的比对氨基酸残基的保守置换的足够或最小数量的氨基酸残基，以使得第一氨基酸序列和第二氨基酸序列可以具有共同结构域和/或共同功能活性。例如，含有共同结构域的氨基酸序列与参考序列例如本文提供的序列具有至少约85％、至少约90％、至少约91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％的同一性。

[0041] 在核苷酸序列的语境中，术语“基本上相同”在本文中用于指这样的第一核酸序列：它含有与第二核酸序列中比对的核苷酸相同的足够或最小数量的核苷酸，以使得第一核苷酸序列和第二核苷酸序列编码具有共同功能活性的多肽，或编码共同结构多肽域或具有共同功能多肽活性。例如，核苷酸序列与参考序列例如本文提供的序列具有至少约85％、至少约90％、至少约91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％的同一性。

[0042] 术语“功能性变体”是指与天然存在或野生型的序列具有基本上相同的氨基酸序列，或由基本上相同的核苷酸序列编码，并且能够具有天然存在或野生型的序列的一种或多种活性的多肽。

[0043] 为了确定两个氨基酸序列或两个核酸序列的百分比同一性，出于最佳比较目的对序列进行比对(例如，在第一氨基酸和第二氨基酸或第一核酸序列和第二核酸序列的一者或二者中引入空位以用于最佳比对，并且出于比较目的，非同源序列可以忽略)。合适地，出于比较目的而比对的参考序列的长度为参考序列的长度的至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、或至少100％。然后比较对应的氨基酸位置或核苷酸位置处的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中的对应位置相同的氨基酸残基或核苷酸占据时，则这些分子在所述位置是相同的(如本文所用，氨基酸或核酸“同一性”等同于氨基酸或核酸“同源性”)。

[0044] 将空位的数量和每个空位的长度考虑在内，两个序列之间的百分比同一性是这些序列共有的相同位置的数量的函数，需要引入这些空位以进行两个序列的最佳比对。

[0045] 两个序列之间的序列比较和百分比同一性确定可以使用数学算法来完成。例如，使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:444-453)算法(该算法已并入GCG软件包中的GAP程序中(可从NCBI获取))，使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及16、14、12、10、8、6或4的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个氨基酸序列之间的百分比同一性。合适地，使用GCG软件包中的GAP程序，使用NWSgapdna.CMP矩阵以及40、50、60、70或80的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个核苷酸序列之间的百分比同一性。一组特别优选的参数(以及除非另外指定否则应所述使用的参数)是Blossum 62评分矩阵，其中空位罚分为12，空位延伸罚分为4，移码空位罚分为5。

[0046] 可以使用E.Meyers和W.Miller((1989)CABIOS[生物科学中的计算机应用]4:11-17)的算法(所述算法已并入ALIGN程序(版本2.0)中)，使用PAM120权重残基表、12的空位长度罚分和4的空位罚分来确定两个氨基酸序列或核苷酸序列之间的百分比同一性。

[0047] 本文所述的蛋白序列可以用作“查询序列”来对公共数据库进行搜索，从而例如鉴定其他家族成员或相关序列。可以使用Altschul等人(1990)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(版本2.0)来进行这些搜索。可以用XBLAST程序(得分＝50，字长＝3)来进行BLAST蛋白质搜索，以获得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对，可以如Altschul等人，(1997)Nucleic Acids Res.[核酸研究]25:3389-3402中所述使用空位BLAST(Gapped BLAST)。当使用BLAST和空位BLAST程序时，可以使用相应程序(例如，XBLAST和NBLAST)(可从NBCI获取)的默认参数。

[0048] 应当理解，本文所述的分子可以具有另外的保守或非必需氨基酸置换，这些置换对分子的功能没有实质性影响。

[0049] 术语“氨基酸”旨在包括所有无论是天然的还是合成的分子，这些分子包括氨基官能团和酸官能团二者，并且能够包括在天然存在的氨基酸的聚合物中。示例性氨基酸包括天然存在的氨基酸；它们的类似物、衍生物和同类物；具有变体侧链的氨基酸类似物；以及任何前述中的任一者的所有立体异构体。如本文所用，术语“氨基酸”包括D-光学异构体或L-光学异构体和肽模拟物。

[0050] “保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基替换的取代。具有相似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中进行了定义。这些家族包括具有以下侧链的氨基酸：碱性侧链(例如，赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如，天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如，甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如，丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、β分支侧链(例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及芳香族侧链(例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0051] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”(如果是单链的)在本文中可互换使用，是指任何长度的氨基酸的聚合物。聚合物可以是直链或支链的，它可以包含经修饰的氨基酸，并且它可以被非氨基酸中断。这些术语还涵盖已经修饰的氨基酸聚合物；例如，二硫键形成、糖基化、脂质化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作，诸如与标记性组分缀合。多肽可以从天然来源分离，可以通过重组技术从宿主真核或原核宿主产生，或者可以是合成程序的产物。

[0052] 术语“核酸”、“核酸序列”、“核苷酸序列”、“多核苷酸序列”和“多核苷酸”可互换使用。它们是指任何长度的聚合形式的核苷酸，即脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸，或它们的类似物。多核苷酸可以是单链的或双链的，如果是单链的，多核苷酸可以是编码链或非编码(反义)链。多核苷酸可以包括经修饰的核苷酸，诸如甲基化的核苷酸和核苷酸的类似物。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。多核苷酸可以在聚合后进一步修饰，诸如通过与标记性组分缀合来修饰。核酸可以是重组多核苷酸，或基因组、cDNA、半合成或合成来源的多核苷酸，它们在自然界中不存在或以非天然排列连接至另一个多核苷酸。

[0053] 术语“糖基化”是指多糖与多肽的附接。优选地，多糖由通过糖苷键连接在一起的2-12个单糖组成。糖蛋白可以含有O连接的糖部分和/或N连接的糖部分。附接到特定糖基化位点的糖部分的结构和数目可以是可变的。这样的糖部分可以是例如N-乙酰基葡糖胺、N-乙酰基半乳糖胺、甘露糖、半乳糖、葡萄糖、岩藻糖、木糖、葡糖醛酸、艾杜糖醛酸和/或唾液酸。

[0054] 术语“N连接的糖基化”是指多糖与氨基酸链的天冬酰胺残基的附接。

[0055] 术语“O连接的糖基化”是指碳水化合物部分与氨基酸链的丝氨酸或苏氨酸残基的附接。

[0056] 使用术语“糖谱”或“糖基化谱”并描述了糖基化多肽的聚糖性质。这些特性合适地是糖基化位点，或糖基化位点的占有率，或多肽的聚糖和/或非糖部分的身份、结构、组成或数量，或特定糖型的身份和数量。

[0057] 如本文所用，术语“聚糖”是糖，其可以是糖残基的单体或聚合物，例如至少三种糖，并且可以是直链或支链的(例如，具有α1,3臂和α1,6臂)。“聚糖”可包括天然糖残基(例如葡萄糖、N-乙酰氨基葡糖胺、N-乙酰神经氨酸、半乳糖、甘露糖、岩藻糖、己糖、阿拉伯糖、核糖、木糖等)和/或修饰的糖(例如2′-氟核糖、2′-脱氧核糖、磷酸甘露糖、6′磺基N-乙酰氨

基葡糖胺等)。术语“聚糖”包括糖残基的均聚物和杂聚物。术语“聚糖”还涵盖糖缀合物(例如,糖蛋白、糖脂、蛋白聚糖等的)的聚糖成分。所述术语还涵盖游离聚糖,包括已经从糖缀合物切割或以其他方式释放的聚糖。

[0058] 如本文所用,术语“糖蛋白”是指含有与一个或多个糖部分(即,聚糖)共价连接的肽主链的蛋白。一个或多个糖部分可以呈单糖、二糖、寡糖和/或多糖的形式。一个或多个糖部分可包含糖残基的单个非支链或可包含一个或多个支链。糖蛋白可以含有O连接的糖部分和/或N连接的糖部分。多糖经由丝氨酸或苏氨酸的OH基团(O糖基化多肽)或经由天冬酰胺的酰胺基团(NH_2)(N糖基化的多肽)的任一附接。所述糖蛋白可以与宿主细胞同源,或者优选与表达它的宿主细胞异源,即外源的,例如由CHO细胞产生的人类蛋白。

[0059] 如本文所用,术语“糖缀合物”涵盖其中至少一个糖部分与至少一个其他部分共价连接的所有分子。所述术语特别涵盖具有共价连接的糖部分的所有生物分子,包括例如N连接的糖蛋白、O连接的糖蛋白、糖脂、蛋白聚糖等。

[0060] 如本文所用,术语“糖基化模式”是指存在于特定样品上的一组聚糖结构。例如,特定的糖缀合物(例如,糖蛋白)或糖缀合物的组(例如,糖蛋白的组)将具有糖基化模式。在一些实施例中,参考细胞表面聚糖的糖基化模式。糖基化模式可以表征为,例如,聚糖的身份、单个聚糖或特定类型的聚糖的量(绝对或相对)、糖基化位点的占据度等,或这些参数的组合。

[0061] 如本文所用,术语“特异性结合”、“特异性识别”和类似的术语在受体(例如,天然IL-15Rα或IL-15受体βγ)和配体(例如,天然IL-15)相互作用的语境中是指配体和受体之间的特异性结合或缔合。优选地,配体对受体的亲和力高于对其他分子的亲和力。在具体实施例中,配体是天然IL-15,天然受体是IL-15Rα。在另一个具体实施例中,配体是天然IL-15/IL-15Rα复合物,天然受体是βγ受体复合物。在另一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物结合至βγ受体复合物并活化IL-15介导的信号转导。可以例如通过免疫测定法、表面等离子体共振(如BIAcore)或本领域技术人员已知的其他技术来鉴定特异性结合受体的配体。

[0062] 如本文所用,术语“纯化的”和“分离的”当用于可从天然来源例如细胞获得的化合物或药剂(包括蛋白质因子如多肽)的上下文中时,是指这样的化合物或药剂:基本上不含天然来源的污染材料,例如土壤颗粒、矿物质、环境中的化学物质和/或天然来源的细胞材料,例如但不限于细胞碎片,细胞壁材料,膜,细胞器,细胞中存在的大部分核酸、碳水化合物、蛋白质和/或脂质。短语“基本上不含天然来源材料”是指已经从与之分离的材料(例如细胞的细胞成分)中分离出来的化合物或药剂的制剂。因此,分离的化合物或药剂包括具有少于约30%、20%、10%、5%、2%或1%(以干重计)的细胞材料和/或污染材料的化合物或药剂的制剂。

[0063] IL-15

[0064] 如本文所用,术语“IL-15”和“白介素--15”是指天然IL-15或IL-15衍生物。如本文所用,术语“天然IL-15”和“天然白介素-15”在蛋白质或多肽的上下文中是指任何天然存在或野生型哺乳动物白介素-15氨基酸序列,包括未成熟形式或前体形式和成熟形式。各种天然哺乳动物白介素-15的氨基酸序列的GeneBank登录号的非限制性实例包括NP_000576(人,未成熟形式)、CAA62616(人,未成熟形式)、NP001009207(家猫(Felis catus),未成熟形式)、AAB94536(褐家鼠(Ratus norvegicus),未成熟形式)、AAB41697(褐家鼠,未成熟形

式)、NP_032383(小家鼠(Mus musculus),未成熟形式)、AAR19080(犬)、AAB60398(猕猴(Macaca mulatta),未成熟形式)、AAI00964(人,未成熟形式)、AAH23698(小家鼠,未成熟形式)和AAH18149(人)。天然人IL-15的未成熟/前体形式的氨基酸序列包含长信号肽(下划线)和成熟人天然IL-15(斜体),如表1中的SEQ ID NO:1所提供。在一些实施例中,天然IL-15是天然存在或野生型哺乳动物IL-15的未成熟形式或前体形式。在其他实施例中,天然IL-15是天然存在或野生型哺乳动物IL-15的成熟形式。在具体实施例中,天然IL-15是天然存在或野生型人IL-15的前体形式。在另一个实施例中,天然IL-15是天然存在或野生型人IL-15的成熟形式。在一个实施例中,天然IL-15蛋白/多肽是分离的或纯化的。

[0065] 在特定实施例中,成熟人IL-15包含以下氨基酸序列:

[0066] NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESG

[0067] DASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFIN

[0068] TS(SEQ ID NO:2)。

[0069] 如本文所用,术语“IL-15衍生物”和“白介素-15衍生物”在蛋白质或多肽的上下文中是指:(a)与天然哺乳动物IL-15多肽具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同一性的多肽;(b)相对于天然哺乳动物IL-15多肽,含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个或更多个氨基酸突变(即,添加、缺失和/或取代)的多肽;和/或(c)天然哺乳动物IL-15多肽的片段。IL-15衍生物还包括包含哺乳动物IL-15多肽的天然存在或野生型成熟形式的氨基酸序列和异源性信号肽氨基酸序列的多肽。在一个实施例中,IL-15衍生物是天然人IL-15多肽的衍生物。在另一个实施例中,IL-15衍生物是天然存在或野生型人IL-15多肽的未成熟形式或前体形式的衍生物。在另一个实施例中,IL-15衍生物是天然存在或野生型人IL-15多肽的成熟形式的衍生物。在另一个实施例中,IL-15衍生物是例如Zhu等人,(2009),J.Immunol.[免疫学杂志]183:3598或美国专利号8,163,879中所述的IL-15N72D。在另一个实施例中,IL-15衍生物是美国专利号8,163,879中所述的IL-15变体中的一者。在一个实施例中,IL-15衍生物是分离的或纯化的。

[0070] 合适地,IL-15衍生物保留了天然哺乳动物IL-15多肽结合IL-15Rα多肽的功能的至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%,如通过本领域已知的测定法(例如,ELISA、SPR(如BIAcore™)、免疫共沉淀)所测量的。合适地,IL-15衍生物保留了天然哺乳动物IL-15多肽诱导IL-15介导的信号转导的功能的至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%,如通过本领域已知的测定法(例如电泳迁移率变动测定法、ELISA或其他免疫测定法)所测量的。合适地,IL-15衍生物结合至IL-15Rα和/或IL-15Rβγ,如通过例如本领域已知的配体/受体结合测定法所评估的。可以使用本领域技术人员已知的和上文所述的任何方法来确定同一性百分比。

[0071] IL-15Rα

[0072] 如本文所用,术语“IL-15Rα”和“白介素-15受体α”是指天然IL-15Rα、IL-15Rα衍生物、或天然IL-15Rα和IL-15Rα衍生物。如本文所用,术语“天然IL-15Rα”和“天然白介素-15受体α”在蛋白质或多肽的上下文中是指任何天然存在或野生型哺乳动物白介素-15受体α(“IL-15Rα”)氨基酸序列,包括未成熟形式或前体形式和成熟形式以及天然存在同种型。各种天然哺乳动物IL-15Rα的氨基酸序列的GeneBank登录号的非限制性实例包括NP_002180

(人)、ABK41438(猕猴)、NP_032384(小家鼠)、Q60819(小家鼠)、CAI41082(人)。天然全长人IL-15Rα的未成熟形式的氨基酸序列,其包含信号肽(下划线)和成熟人天然IL-15Rα(斜体),如表1中的SEQ ID NO:3所提供。天然可溶性人IL-15Rα的未成熟形式的氨基酸序列,其包含信号肽(下划线)和成熟人天然可溶性IL-15Rα(斜体),如表1中的SEQ ID NO:4所提供。在一些实施例中,天然IL-15Rα是天然存在或野生型哺乳动物IL-15Rα多肽的未成熟形式。在其他实施例中,天然IL-15Rα是天然存在或野生型哺乳动物IL-15Rα多肽的成熟形式。在某些实施例中,天然IL-15Rα是哺乳动物IL-15Rα多肽的天然存在或野生型可溶性形式。在其他实施例中,天然IL-15Rα是天然存在或野生型哺乳动物IL-15Rα多肽的全长形式。在具体实施例中,天然IL-15Rα是天然存在或野生型人IL-15Rα多肽的未成熟形式。在另一个实施例中,天然IL-15Rα是天然存在或野生型人IL-15Rα多肽的成熟形式。在某些实施例中,天然IL-15Rα是人IL-15Rα多肽的天然存在或野生型可溶性形式。在其他实施例中,天然IL-15Rα是天然存在或野生型人IL-15Rα多肽的全长形式。在一个实施例中,天然IL-15Rα蛋白或多肽是分离的或纯化的。

[0073] 在特定实施例中,人IL-15Rα的可溶性形式包含以下氨基酸序列:

[0074] ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAH

[0075] WTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAA

[0076] TTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVY

[0077] PQG(SEQ ID NO:5)。

[0078] 如本文所用,术语“IL-15Rα衍生物”和“白介素-15受体α衍生物”在蛋白质或多肽的上下文中是指:(a)与天然哺乳动物IL-15多肽具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同一性的多肽;(b)相对于天然哺乳动物IL-15Rα多肽,含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个或更多个氨基酸突变(即,添加、缺失和/或取代)的多肽;(c)天然哺乳动物IL-15Rα多肽的片段;和/或(d)本文所述的特定的IL-15Rα衍生物。IL-15Rα衍生物还包括包含哺乳动物IL-15Rα多肽的天然存在或野生型成熟形式的氨基酸序列和异源性信号肽氨基酸序列的多肽。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是天然人IL-15Rα多肽的衍生物。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是天然存在或野生型人IL-15多肽的未成熟形式的衍生物。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是天然存在或野生型人IL-15多肽的成熟形式的衍生物。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是天然哺乳动物IL-15Rα多肽的可溶性形式。换句话说,在某些实施例中,IL-15Rα衍生物包括天然哺乳动物IL-15Rα的可溶性形式,其中那些可溶性形式不是天然存在的。IL-15Rα衍生物的其他实例包括天然人IL-15Rα的截短的可溶性形式。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是纯化的或分离的。

[0079] 合适地,IL-15Rα衍生物保留了天然哺乳动物IL-15Rα多肽结合IL-15多肽的功能的至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%,如通过本领域的测定法(例如,ELISA、SPR(BIAcore™)、共沉淀)所测量。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物保留了天然哺乳动物IL-15Rα多肽诱导IL-15介导的信号转导的功能的至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%,如通过本领域已知的测定法(例如电泳迁移率变动测定法、ELISA和其他免疫测定法)所测量的。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物结合至IL-15,如通过本领域已知的方法(例如ELISA)所评估。

[0080] 本文提供的是人IL-15Rα的天然存在或野生型可溶性形式。本文还提供了作为人IL-15Rα的截短的可溶性形式的特定IL-15Rα衍生物。这些特定IL-15Rα衍生物和人IL-15Rα的天然存在或野生型可溶性形式部分基于人IL-15Rα的蛋白水解切割位点的鉴定。本文还提供了IL-15Rα的可溶性形式,这些可溶性形式基于IL-15Rα的糖基化来表征。

[0081] 人IL-15Rα的蛋白水解切割发生在Gly170和His171之间,这些残基以粗体显示并在所提供的天然全长人IL-15Rα的未成熟形式的氨基酸序列中以下划线表示:MAPRRARGCR TLGLPALLLL LLLRPPATRG ITCPPPMSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA TNVAHWTTPS LKCIRDPALV HQRPAPPSTV TTAGVTPQPE SLSPSGKEPA ASSPSSNNTA ATTAAIVPGS QLMPSKSPST GTTEISSHES SHGTPSQTTA KNWELTASAS HQPPGVYPQG HSDTTVAIST STVLLCGLSA VSLLACYLKS RQTPPLASVE MEAMEALPVT WGTSSRDEDL ENCSHHL(表1中的SEQ ID NO:3)。

[0082] 因此,本文提供了人IL-15Rα的可溶性形式(例如人IL-15Rα的纯化的可溶性形式),其中人IL-15Rα的可溶性形式的氨基酸序列终止于天然膜结合的人IL-15Rα的蛋白水解切割位点。在一个实施例中,本文提供了人IL-15Rα的可溶性形式(例如人IL-15Rα的纯化的可溶性形式),其中人IL-15Rα的可溶性形式的氨基酸序列以PQG(表1中的SEQ ID NO:11)终止,其中G为Gly170。在一个实施例中,本文提供了人IL-15Rα的可溶性形式(例如人IL-15Rα的纯化的可溶性形式),该可溶性形式具有表1中的SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。在一个实施例中,本文提供了IL-15Rα衍生物(例如,IL-15Rα衍生物的纯化形式和/或可溶性形式),该IL-15Rα衍生物是一种多肽,该多肽:(i)与表1中的SEQ ID NO:4具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同一性;并且(ii)以氨基酸序列PQG(表1中的SEQ ID NO:11)终止。在一个实施例中,本文提供了人IL-15Rα的可溶性形式(例如,人IL-15Rα的纯化的可溶性形式),该可溶性形式具有表1中的SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在一些实施例中,本文提供了IL-15Rα衍生物(例如,IL-15Rα衍生物的纯化形式和/或可溶性形式),它是与表1中的SEQ ID NO:5具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同一性的多肽,并且任选地,其中IL-15Rα衍生物的可溶性形式的氨基酸序列以PQG(表1中的SEQ ID NO:11)终止。

[0083] 在一个实施例中,本文提供了天然存在或野生型人IL-15Rα的IL-15Rα衍生物,其中IL-15Rα衍生物是可溶性的,并且:(a)IL-15Rα衍生物的C末端的最后几个氨基酸由氨基酸残基PQGHSDTT(表1中的SEQ ID NO:6)组成;(b)IL-15Rα衍生物的C末端的最后几个氨基酸由氨基酸残基PQGHSDT(表1中的SEQ ID NO:7)组成;(c)IL-15Rα衍生物的C末端的最后几个氨基酸由氨基酸残基PQGHSD(表1中的SEQ ID NO:8)组成;(d)IL-15Rα衍生物的C末端的最后几个氨基酸由氨基酸残基PQGHS(表1中的SEQ ID NO:9)组成;或(e)IL-15Rα衍生物的C末端的最后几个氨基酸由氨基酸残基PQGH(表1中的SEQ ID NO:10)组成。在一个实施例中,这些IL-15Rα衍生物的氨基酸序列与表1中的SEQ ID NO:12的氨基酸序列具有至少75%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。在一个实施例中,这些IL-15Rα衍生物是纯化的。

[0084] 本文还提供了IL-15Rα的糖基化形式(例如,IL-15Rα的纯化糖基化形式),其中IL-15Rα的糖基化占IL-15Rα的质量(分子量)的至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、或20%至25%、20%至30%、25%至30%、25%至35%、30%至35%、30%至40%、35%至40%、35%至45%、40%至50%、45%至50%、20%至40%、或25%

至50％，如通过本领域技术人员已知的技术所评估的。IL-15Rα的糖基化所占的IL-15Rα(例如，纯化的IL-15Rα)的质量(分子量)的百分比可以使用例如但不限于以下步骤来确定：凝胶电泳和凝胶的定量光密度测定，并且比较IL-15Rα的糖基化形式(例如，IL-15Rα的纯化糖基化形式)与IL-15Rα的非糖基化形式(例如，IL-15Rα的纯化非糖基化形式)的平均质量(分子量)。在一个实施例中，IL-15Rα(例如，纯化的IL-15Rα)的平均质量(分子量)使用在配备有CovalX HM-1高质量检测器的Voyager De-Pro上使用芥子酸作为基质进行的MALDI-TOF MS谱来确定，并且将IL-15Rα的糖基化形式的质量(例如，IL-15Rα的纯化糖基化形式)与IL-15Rα的非糖基化形式的质量(例如，IL-15Rα的纯化非糖基化形式)进行比较，以确定糖基化所占的质量的百分比。

[0085] 本文还提供了IL-15Rα的糖基化形式，其中IL-15Rα在某些氨基酸残基处是糖基化(N-糖基化或O-糖基化)的。在一个实施例中，本文提供了在以下糖基化位点中的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或全部处糖基化的人IL-15Rα：(i)IL-15Rα中的氨基酸序列NWELTASASHQPPGVYPQG(表1中的SEQ ID NO:13)的第5位苏氨酸的O-糖基化；(ii)IL-15Rα中的氨基酸序列NWELTASASHQPPGVYPQG(表1中的SEQ ID NO:13)的第7位丝氨酸的O-糖基化；(iii)IL-15Rα中的氨基酸序列ITCPPPMSVEHADIWVK(表1中的SEQ ID NO:14)的第8位丝氨酸的N-糖基化，或IL-15Rα中的氨基酸序列ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(表1中的SEQ ID NO:15)的第8位丝氨酸的N-糖基化；(iv)IL-15Rα中的氨基酸序列ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(表1中的SEQ ID NO:15)的Ser18的N-糖基化；(v)IL-15Rα中的氨基酸序列ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(表1中的SEQ ID NO:15)的第20位丝氨酸的N-糖基化；(vi)IL-15Rα中的氨基酸序列ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(表1中的SEQ ID NO:15)的第23位丝氨酸的N-糖基化；和/或(vii)IL-15Rα中的氨基酸序列ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(表1中的SEQ ID NO:15)的第31位丝氨酸的N-糖基化。在一个实施例中，糖基化的IL-15Rα是天然人IL-15Rα。在一个实施例中，糖基化的IL-15Rα是天然存在或野生型人IL-15Rα的IL-15Rα衍生物。在一个实施例中，糖基化的IL-15Rα是天然可溶性人IL-15Rα，诸如表1中的SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5。在一个实施例中，糖基化的IL-15Rα是作为人IL-15Rα的可溶性形式的IL-15Rα衍生物。在一个实施例中，糖基化的IL-15Rα是纯化的或分离的。

[0086] IL-15/IL-15Rα复合物

[0087] 如本文所用，术语“IL-15/IL-15Rα复合物”、“IL-15/IL-15Rα异复合物”或“hetIL-15”是指包含彼此共价或非共价结合的IL-15和IL-15Rα的复合物。在优选的实施例中，IL-15Rα对IL-15具有高的亲和力，例如如通过本领域已知的技术(例如，KinExA测定法、表面等离子体共振法(例如，BIAcore™测定法))测量的KD为10至50pM。在一个实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物诱导IL-15介导的信号转导，如通过本领域熟知的测定法(例如，电泳迁移率变动测定法、ELISA和其他免疫测定法)所测量的。在一个实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物保留了特异性结合βγ链的能力。在一个实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物从细胞中分离。

[0088] 本文提供了结合至IL-15受体的βγ亚基、诱导IL-15信号转导(例如，Jak/Stat信号转导)和增强IL-15介导的免疫功能的复合物，其中这些复合物包含共价或非共价结合至白介素-15受体α(“IL-15Rα”)的IL-15，也称为“IL-15/IL-15Rα复合物”或“IL-15/IL-15Rα异复合物”)。IL-15/IL-15Rα复合物能够结合至βγ受体复合物。

[0089] IL-15/IL-15Rα复合物可以由天然IL-15或IL-15衍生物和天然IL-15Rα或IL-15Rα衍生物组成。在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物包含天然IL-15或IL-15衍生物和上文所述的IL-15Rα。

[0090] 在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物包含与人IL-15Rα的可溶性形式复合的人IL-15。该复合物可以包含共价或非共价结合至IL-15Rα的可溶性形式的IL-15。在优选的实施例中,人IL-15非共价地结合至IL-15Rα的可溶性形式。在特别优选的实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物包含与含有SEQ ID NO:5的人IL-15Rα的可溶性形式非共价结合的含有SEQ ID NO:2的人IL-15。

[0091] 在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物包含天然IL-15或IL-15Rα衍生物和天然可溶性IL-15Rα(例如天然可溶性人IL-15Rα)。在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物由IL-15衍生物和IL-15Rα衍生物组成。在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物由天然IL-15和IL-15Rα衍生物组成。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是IL-15Rα的可溶性形式。上文描述了IL-15Rα的可溶性形式的具体实例。在一个实施例中,IL-15Rα的可溶性形式缺乏天然IL-15Rα的跨膜结构域,以及任选地天然IL-15Rα的胞内结构域。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是天然IL-15Rα的胞外结构域或其片段。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物是天然IL-15Rα的胞外结构域(含有寿司结构域或外显子2)的片段。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物包含天然IL-15Rα的胞外结构域(含有寿司结构域或外显子2)的片段,以及由外显子3编码的至少一个氨基酸。在一个实施例中,IL-15Rα衍生物包含天然IL-15Rα的胞外结构域(含有寿司结构域或外显子2)的片段,以及IL-15Rα铰链区或其片段。在一个实施例中,IL-15Rα包含表1中的SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0092] 在一个实施例中,IL-15Rα衍生物包含胞外结构域切割位点中的突变,该突变抑制切割天然IL-15Rα的内源性蛋白酶所进行的切割。在一个实施例中,IL-15Rα的胞外结构域切割位点被异源性的已知蛋白酶识别和切割的切割位点替换。

[0093] 在一个实施例中,IL-15由经优化以增强IL-15的表达的核酸序列编码,该优化例如使用WO 2007/084342和WO 2010/020047;和美国专利号5,965,726;6,174,666;6,291,664;6,414,132;和6,794,498中描述的方法。

[0094] 在一个实施例中,本文提供了包含人IL-15Rα的IL-15/IL-15Rα复合物,该人IL-15Rα在上文以及参考表1中的SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:15所述的糖基化位点中的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或全部处被糖基化。在一个实施例中,糖基化的IL-15Rα是天然人IL-15Rα。在一个实施例中,糖基化的IL-15Rα是天然存在或野生型人IL-15Rα的IL-15Rα衍生物。在一个实施例中,糖基化的IL-15Rα是天然可溶性人IL-15Rα,诸如表1中的SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5。在一个实施例中,糖基化的IL-15Rα是作为人IL-15Rα的可溶性形式的IL-15Rα衍生物。在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物是纯化的或分离的。

[0095] 除IL-15和IL-15Rα之外,IL-15/IL-15Rα复合物可以包含异源性分子。在一些实施例中,异源性分子增加了蛋白质稳定性。此类分子的非限制性实例包括聚乙二醇(PEG)、IgG免疫球蛋白的Fc结构域或其片段、或增加IL-15或IL-15Rα的体内半衰期的白蛋白。在一些实施例中,IL-15Rα缀合/融合至免疫球蛋白(例如,IgG1)的Fc结构域或其片段。在具体实施例中,IL-15RαFc融合蛋白包含表1中的SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在另

一个实施例中，IL-15RαFc融合蛋白是Han等人，(2011)，Cytokine[细胞因子]56:804-810，美国专利号8,507,222或美国专利号8,124,084中所述的IL-15Rα/Fc融合蛋白。在包含异源性分子的那些IL-15/IL-15Rα复合物中，异源性分子可以缀合至IL-15和/或IL-15Rα。在一个实施例中，异源性分子缀合至IL-15Rα。在另一个实施例中，异源性分子缀合至IL-15。在另一个实施例中，异源性分子缀合至IL-15Rα并缀合至IL-15。

[0096] 表1序列表

[0097]

SEQ ID NO	描述	序列
1	人IL-15（信号肽加下划线）	MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEA*NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLE LQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKN IKEFLQSFVHIVQMFINTS*
2	成熟人天然IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL LELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEE LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
3	人IL-15Rα（信号肽加下划线）	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRG*ITCPPPMSVEHADIW VKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC IRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAA TTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASAS HQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLLACYLKSRQTPPLAS VEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENCSHHL*
4	人可溶性IL-15Rα（信	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRG*ITCPPPMSVEHADIW VKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC*

[0098]

	号肽加下划线）	*IRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQG*
5	成熟人可溶性 IL-15Rα	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQG
6	可溶性人 IL-15Rα 的 C 末端	PQGHSDTT
7	可溶性人 IL-15Rα 的 C 末端	PQGHSDT
8	可溶性人 IL-15Rα 的 C 末端	PQGHSD
9	可溶性人 IL-15Rα 的 C 末端	PQGHS
10	可溶性人 IL-15Rα 的 C 末端	PQGH
11	可溶性人 IL-15Rα 的 C 末端	PQG
12	人可溶性 IL-15Rα	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
13	IL-15Rα O-糖基化	NWELTASASHQPPGVYPQG
14	IL-15Rα N-糖	ITCPPPMSVEHADIWVK

[0099]

	基化	
15	IL-15Rα N-糖基化	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS
16	合成的sIL-15Rα-Fc融合蛋白huIL15sRa205-Fc	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK		
17	合成的sIL-15Rα-Fc融合蛋白huIL15sRa200-Fc	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0100] IL-15/IL-15Rα复合物的组分可以使用非共价键或共价键来直接融合(例如,通过肽键来组合氨基酸序列),和/或可以使用一个或多个接头来组合。适用于制备IL-15/IL-15Rα复合物的接头包括肽、烷基基团、化学取代的烷基基团、聚合物、或能够将两种或更多种组分结合在一起的任何其他共价键合的或非共价键合的化学物质。聚合物接头包括本领域已知的任何聚合物,包括聚乙二醇(PEG)。在一些实施例中,接头是长度为1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个或更多个氨基酸的肽。在一个实施例中,接头足够长以保持IL-15结合IL-15Rα的能力。在其他实施例中,接头足够长以保持IL-15/IL-15Rα复合物结合βγ受体复合物以及充当介导IL-15信号转导的激动剂的能力。

[0101] 在一些实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物在本文所述的方法中使用之前(例如,在使细胞接触IL-15/IL-15Rα复合物之前或在将IL-15/IL-15Rα复合物施用于受试者之前)预先偶联。在其他实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物在用于本文所述的方法之前未预先偶联。

[0102] 在具体实施例中,相对于未施用IL-15/IL-15Rα复合物的受试者中的免疫功能,IL-15/IL-15Rα复合物增强或诱导受试者中的免疫功能达至少99%、至少95%、至少90%、

至少85％、至少80％、至少75％、至少70％、至少60％、至少50％、至少45％、至少40％、至少45％、至少35％、至少30％、至少25％、至少20％、或至少10％，使用本领域已知的测定法(例如，ELISPOT、ELISA和细胞增殖测定法)所测定的。在具体实施例中，免疫功能是细胞因子释放(例如，干扰素-γ、IL-2、IL-5、IL-10、IL-12或转化生长因子(TGF)-β)。在一些实施例中，IL-15介导的免疫功能是NK细胞增殖，它可以例如通过流式细胞术(检测表达NK细胞的标记物(例如，CD56)的细胞数)来测定。在一些实施例中，IL-15介导的免疫功能是抗体产生，它可以例如通过ELISA来测定。在一些实施例中，IL-15介导的免疫功能是效应子功能，它可以例如通过细胞毒性测定法或本领域已知的其他测定法来测定。

[0103] 在具体实施例中，由IL-15/IL-15Rα复合物增强的免疫功能的实例包括淋巴细胞的增殖/扩增(例如，淋巴细胞数量的增加)、淋巴细胞凋亡的抑制、树突状细胞(或抗原呈递细胞)的活化和/或抗原呈递。在特定实施例中，由IL-15/IL-15Rα复合物增强的免疫功能是CD4+T细胞(例如，Th1和Th2辅助T细胞)、CD8+T细胞(例如，细胞毒性T淋巴细胞、α/β T细胞和γ/δT细胞)、B细胞(例如，浆细胞)、记忆T细胞、记忆B细胞、树突状细胞(未成熟或成熟)、抗原呈递细胞、巨噬细胞、肥大细胞、自然杀伤T细胞(NKT细胞)、肿瘤驻留T细胞、CD122+T细胞或自然杀伤细胞(NK细胞)的数量的增殖/扩增或活化。在一个实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物增加淋巴细胞祖细胞的增殖/扩增或数量。在一些实施例中，相对于阴性对照(例如，未用本文所述的IL-15/IL-15Rα复合物处理、未与IL-15/IL-15Rαα复合物一起培养或未与IL-15/IL-15Rα复合物接触的相应细胞的数量)，IL-15/IL-15Rα复合物使CD4+T细胞(例如，Th1和Th2辅助T细胞)、CD8+T细胞(例如，细胞毒性T淋巴细胞、α/β T细胞和γ/δT细胞)、B细胞(例如，浆细胞)、记忆T细胞、记忆B细胞、树突状细胞(未成熟或成熟)、抗原呈递细胞、巨噬细胞、肥大细胞、自然杀伤T细胞(NKT细胞)、肿瘤驻留T细胞、CD122+T细胞或自然杀伤细胞(NK细胞)的数量增加大约1倍、大约2倍、大约3倍、大约4倍、大约5倍、大约6倍、大约7倍、大约8倍、大约9倍、大约10倍、大约20倍或更多倍。

[0104] 在具体实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物使葡萄球菌肠毒素B(SEB)活化的全血上的IL-2表达增加。例如，与单独使用SEB时IL-2的表达相比，IL-15/IL-15Rα复合物使IL-2的表达增加至少约2倍、约3倍、约4倍或约5倍。

[0105] 如本文所用，术语“受试者”和“患者”包括任何人类或非人类动物。术语“非人类动物”包括所有脊椎动物，例如，哺乳动物和非哺乳动物，如非人类灵长类、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。在优选实施例中，受试者是人类患者。术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用。

[0106] 术语“药物配制品”或“药物组合物”是指含有例如如本文所述的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的制剂，该制剂的形式允许复合物的生物活性有效，并且不含对被施用该配制品的受试者而言不可接受地有毒的另外的组分。

[0107] 如本文所用，术语“药学上可接受的”是指在合理医学判断的范围内适合用于与受试者(例如，哺乳动物或人)的组织相接触而无过度毒性、刺激、过敏反应和其他问题或并发症，并且与合理的益处/风险比相称且不干扰一种或多种活性成分的生物活性的有效性的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0108] 关于化合物(例如，IL-15/IL-15Rα复合物或另一种药剂)的术语“施用”用于指通过任何途径将所述化合物递送至患者。

[0109] 如本文所用，“治疗有效量”是指例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物在以单剂量或多剂量向患者(例如人类)施用时有效地治疗、预防障碍或复发性障碍，防止其发病，治愈、延迟障碍或复发性障碍，降低其严重程度，减轻障碍或复发性障碍的至少一种症状、或延长患者的存活期超出无此治疗存在时所预期存活期的量。当应用于单独施用的单独活性成分(例如，IL-15/IL-15Rα复合物，例如如本文披露的)时，所述术语仅指所述成分。当应用于组合时，所述术语是指产生治疗作用的活性成分(无论连续还是同时组合施用)的组合量。

[0110] 所谓“组合”或“与.....组合”并不旨在暗示疗法或治疗剂必需同时施用和/或将这些疗法或治疗剂配制用于一起递送，尽管这些递送方法也在本文所述的范围内。组合中的治疗剂可以与一种或多种其他另外的疗法或治疗剂同时、在其之前或之后施用。这些治疗剂或治疗方案可以以任何顺序施用。通常，每种药剂将以针对该药剂确定的剂量和/或日程表施用。还应理解，该组合中使用的另外的治疗剂可以按单一组合物一起施用或按不同组合物单独施用。通常，预期组合中使用的另外的治疗剂以不超过它们单独使用时的水平使用。在一些实施例中，组合中使用的水平将低于单独使用的水平。

[0111] 术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指由于一种或多种疗法的施用而产生的障碍(例如，增殖性障碍)的进展、严重性和/或持续时间的减轻或改善，或者障碍的一种或多种症状(优选地，一种或多种可辨别的症状)的改善。例如，术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指增殖性障碍的至少一种可测量的物理参数(如肿瘤的生长)的改善，但该物理参数不一定是患者可辨别的。合适地，术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指通过例如稳定可辨别的症状来物理地，或通过例如稳定物理参数来生理地，或通过两者，抑制增生性障碍的进展。合适地，术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指减少或稳定肿瘤大小或癌细胞计数。

[0112] 术语“疾病”和“障碍”可互换使用，是指病症，特别是病理性病症。在某些实施例中，术语“疾病”和“障碍”可互换使用，是指IL-15信号转导所影响的疾病和/或免疫效应子应答的促进所影响的疾病。

[0113] 如本文所用，术语“疗法”可以指可以用于预防、治疗、控制或改善疾病(例如，癌症、感染性疾病、淋巴细胞减少和免疫缺陷，或与它们相关的症状)的任何一种或多种方案、一种或多种方法、一种或多种组合物、一种或多种制剂和/或一种或多种药剂。在某些实施例中，术语“疗法”是指生物疗法、支持疗法和/或其他可用于治疗、控制、预防或改善与本领域技术人员已知的疾病或症状相关的疾病或症状的疗法。

[0114] 术语“抗癌作用”或“抗肿瘤作用”是指可以通过各种手段显现的生物学作用，包括但不限于例如肿瘤体积减少、癌细胞或肿瘤细胞数量减少、转移数量减少、预期寿命延长、癌细胞或肿瘤细胞增殖减少、癌细胞或肿瘤细胞存活率降低、或改善与癌症相关的各种生理症状。

[0115] 术语“癌症”是指以异常细胞的快速和不受控制的生长为特征的疾病。癌细胞可以局部或通过血流和淋巴系统扩散到身体的其他部位。本文描述了各种癌症的实例，并且包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。术语“肿瘤”和“癌症”在本文中可互换使用，例如，这两个术语包括实体和液体，例如弥散或循环肿瘤。如本文所用，所述术语“癌症”或“肿瘤”包括恶化前

以及恶性癌症和肿瘤。

[0116] 如本文所用的术语“免疫效应子”或“效应子”“功能”或“应答”是指增强或促进靶细胞的免疫攻击的功能或应答，例如免疫效应细胞的功能或应答。例如，免疫效应子功能或应答是指促进靶细胞的杀伤或抑制生长或增殖的T细胞或NK细胞的特性。在T细胞的情况下，初级刺激和共刺激是免疫效应子功能或应答的实例。例如，T细胞的其他效应子功能是细胞溶解活性或辅助活性(包括分泌细胞因子)。

[0117] 短语“用于施用的工具”用于指示用于向患者系统地施用药物的任何可用的工具，包括但不限于预填充注射器、小瓶和注射器、注射笔、自动注射器、静脉内(i.V.)注射槽和注射袋、泵、贴片泵等。使用此类物品，患者可以自我施用药物(即自行施用药物)或医生可以施用药物。在所披露的方法、试剂盒和用途的一些实施例中，经由静脉内途径将例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物递送至患者。在所披露的方法、试剂盒和用途的一些实施例中，经由皮下(s.c.)途径将例如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物递送至患者。

[0118] 当本文提及IL-15/IL-15Rα复合物的剂量时，该剂量根据单链IL-15的质量。从以下方面计算单链IL-15等效物：(i)通过氨基酸分析得出的IL-15/IL-15Rα复合物的质量，和(ii)通过RP-HPLC或氨基酸分析评估的特定制剂中的IL-15与IL-15Rα(例如可溶性IL-15Rα)的比率。

[0119] 术语“药物产品”意指具有配置于所述容器内的药物组合物的容器(例如笔、注射器、袋、泵等)。“容器”是指用于保持液体或固体药物组合物的任何方式，例如笔、注射器、小瓶、自动注射器、贴片等，以存储、运输和维持所披露的组合物。用作所披露的药物产品的一部分的药学上可接受的容器包括注射器(例如，可从Beckton Dickinson,NuovaOmpi等人获得)、带塞子的小瓶、药筒、自动注射器、贴片泵和注射笔。

[0120] “稳定”组合物是其中例如如本文所披露的蛋白质或蛋白质复合物在储存时基本上保留其稳定性(例如物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物活性)的组合物。用于测量蛋白质稳定性的各种分析技术可在本领域中获得并且在以下的文献中做了综述：Peptide and Protein Drug Delivery[肽和蛋白质药物递送]，247-301，Vincent Lee编辑，Marcel Dekker,Inc.[马塞尔·德克尔公司]，纽约州纽约市出版于(1991)和Jones,A.Adv.Drug Delivery Rev.[先进药物递送综述]10:29-90(1993)。可以在选定的时间段内在选定的温度下测量稳定性。“稳定的液体药物组合物”或“稳定的固体药物组合物”是当在冷藏温度下(约2℃至约8℃)储存至少约6个月、至少约12个月、至少约2年或至少约3年；或在室温(约20℃至约25℃)下储存至少约3个月、至少约6个月和至少约1年；或在应力条件(约40℃)下储存至少约1个月、至少约3个月和至少约6个月时未观察到蛋白质例如如本文披露的IL-15/IL-15Rα复合物的显著物理、化学和/或生物学变化的药物组合物。可以使用各种稳定性标准，例如不超过10％，不超过5％的蛋白质降解(例如，如通过SEC纯度、RP-HPLC纯度、通过AEX测量的电荷异质性、CE-SDS纯度(非还原性)等测量的)。可替代地，如果溶液通过视觉分析或通过浊度法保持澄清至略微乳白色，则可以显示稳定性。可替代地，如果组合物的浓度、pH和渗透压在给定时间段内，例如至少约3个月、至少约6个月和至少约1年内变化不超过+/-10％，则可以显示稳定性。可替代地，可以使用如本文所述的生物学测定法来显示稳定性。可替代地，如果在给定的时间段内，例如至少1个月、至少3个月、至少6个月、至少12个月形成小于1％，优选小于0.5％的聚集体(例如，如通过AP-SEC、DP-SEC等测量的)，则可以

显示稳定性。可替代地，如果在2℃-8℃储存6个月后，降解产物的形成(如通过RP-HPLC测量的(总杂质))＜约10％、＜约15％、＜约10％、或＜约5％，则可以显示稳定性。

[0121] 如果通过例如目视检查颜色和/或透明度(浊度)，或通过紫外光散射、尺寸排阻色谱法(SEC)、SDS-PAGE、动态光散射(DLS)和/或本领域已知的其他方法测量蛋白质(例如如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如如本文披露的IL-15/IL-15Rα复合物)未显示聚集、沉淀和/或变性的显著增加，则所述蛋白质或蛋白质复合物在药物组合物中保留其物理稳定性。另外，蛋白质构象不应显著改变，例如通过荧光光谱法(确定三级结构)、圆二色性光谱法(确定二级和三级结构)和/或通过FTIR光谱法(确定二级结构)进行评估。

[0122] 如果蛋白质(例如如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如如本文披露的IL-15/IL-15Rα复合物)未显示显著化学改变，则所述蛋白质或蛋白质复合物在药物组合物中保留其化学稳定性。可以通过检测和/或定量蛋白质(例如如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如如本文披露的IL-15/IL-15Rα复合物)的化学改变形式来评估化学稳定性。通常会改变蛋白质化学结构的降解过程包括水解或截短(例如通过尺寸排阻色谱[SEC]、SDS-PAGE和/或MALDI-TOF MS等方法评估)、氧化(例如通过例如肽图分析与质谱或MALDI-TOF MS结合等方法评估)、脱酰胺作用(例如通过阳离子交换色谱法(CEX)、毛细管等电聚焦、肽图分析、异天冬氨酸测量和等方法评估)、异构化(例如通过测量异天冬氨酸含量、肽图分析等或本领域已知的其他方法评估)。

[0123] 如果蛋白质(例如如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如本文披露的IL-15/IL-15Rα)的生物学活性在给定的时间在制备药物组合物时表现出的生物活性的预定范围内，则蛋白质(例如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如本文披露的IL-15/IL-15Rαα复合物)在药物组合物中保留其生物学活性。可以通过例如细胞因子释放测定法(例如干扰素-γ、IL-2、IL-5、IL-10、IL-12或转化生长因子(TGF)-β)、NK细胞增殖测定(例如如通过检测表达NK细胞标记物(例如CD56)的细胞数确定的)、抗体产生测定(例如可以通过ELISA或效应子功能测定例如通过细胞毒性测定来确定)确定蛋白质(例如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如本文披露的IL-15/IL-15Rα复合物)的生物活性。蛋白质(例如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如如本文披露的IL-15/IL-15Rα复合物)的生物学活性可以例如通过测定在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上IL-15受体的活化来确定。通过比较包含蛋白质(例如如本文披露的IL-15和/或IL-15Rα)或蛋白质复合物(例如如本文披露的IL-15/IL-15Rα复合物)的样品在储存后的活性并将所述样品与参考样品进行比较，可以相对于“原始活性”表达活性。

[0124] 如本文所用，“通过RP-HPLC评估的纯度”是指RP-HPLC中IL-15相关峰和IL-15Rα相关峰的百分比，并且可以用于评估蛋白质，IL-15和IL-15Rα(例如如本文所披露的)的稳定性。根据其疏水性使用RP-HPLC分离蛋白质IL-15和IL-15Rα(例如如本文所披露的)及其变体。RP-HPLC的其他峰可以含有例如如本文所披露的IL-15、IL-15Rα和/或IL-15/IL-15Rα复合物的片段化、异构化和氧化的种类。

[0125] 如本文所用，“通过AEX测量的电荷异质性”是指AEX中碱性或酸性变体的百分比，并且可以用于评估IL-15、IL-15Rα和/或IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)的稳定性。AEX用于通过测量酸性和碱性变体的百分比来评估IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本

文所披露的)的电荷异质性。

[0126] 如本文所用,“通过SEC评估的纯度”是指SEC中单体的百分比,并且可以用于评估IL-15、IL-15Rα和/或IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)的稳定性。SEC用于在非变性条件下根据其大小从聚集体和片段中分离出如本文所披露的单体。主峰之前洗脱的峰的总和以聚集产物的百分比(AP-SEC)报告,主峰之后洗脱的峰的总和以降解产物的百分比(DP-SEC)报告。

[0127] 如本文所用,“通过CE-SDS评估的纯度”是指CE-SDS中完整的IL-15Rα、完整的IL-15、IL-15高分子量(HMW)物质和非糖基化的IL-15的百分比,并且可以用于评估IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)的稳定性。CE-SDS用于根据IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)在非还原条件下的分子大小从其中分离副产物和降解产物。从上述鉴定出的IL-15Rαα和与IL-15相关的峰中分离出的峰的总和报告为杂质的百分比。

[0128] 如本文所用,短语“液体药物组合物”是指不由冻干物重构并含有至少如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物和至少一种另外的赋形剂(例如表面活性剂或缓冲剂)的水性组合物。液体药物组合物可以包含另外的赋形剂(例如一种或多种稳定剂)和另外的一种或多种活性成分。这种类型的配制品也称为“即用型”配制品。

[0129] 如本文所用,术语“冻干物”是指干燥的(例如冷冻干燥的)药物组合物,其基本上不含水。蛋白质的冻干技术是本领域已知的,例如参见Rey&May(2004)Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical&Biological Products[药学和生物学产品的冷冻干燥/冻干]ISBN0824748689。冻干物被重构以给出水性组合物-通常为即用型(例如1-10天之内),因为重构的冻干物往往具有有限的保质期。

[0130] 如本文所用,短语“固体药物组合物”是指如下药物组合物,其在施用前由冻干物重构,并至少含有如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物,以及至少一种缓冲剂、至少一种稳定剂和至少一种张力调节剂。固体药物组合物可以包含另外的一种或多种赋形剂和另外的一种或多种活性成分。

[0131] 本文所用的术语“缓冲剂”是指使药物组合物的pH稳定的药学上可接受的赋形剂。缓冲剂可以存在于本发明的液体或固体(例如冻干)配制品中。与披露的药物组合物一起使用的合适的缓冲剂包括但不限于葡萄糖酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、磷酸盐[例如钠和/或钾]缓冲剂、琥珀酸盐[例如钠]缓冲剂、乙酸盐缓冲剂[例如钠或钾]、Tris缓冲剂、甘氨酸、精氨酸及其组合。缓冲剂通常以约1mM至约100mM、约10mM至约50mM、约15mM至约30mM、约20mM至约30mM的浓度使用。不管使用何种缓冲剂,都可用本领域已知的酸或碱(例如盐酸、乙酸、磷酸、硫酸、柠檬酸、氢氧化钠和氢氧化钾)将pH调节至所需值,例如在约4.5至约8.5的范围内。

[0132] 稳定剂有助于防止药物组合物中蛋白质的氧化和聚集。各种分析方法可用于评估给定组合物的稳定性,例如RP-HPLC可用于测定本文所披露的液体和/或固体药物组合物中的氧化产物(主峰前)的水平,而SEC可用于测定本文披露的液体和/或固体药物组合物中的聚集水平。用于披露的液体和/或固体药物组合物中的合适的稳定剂包括离子和非离子稳定剂,并且稳定剂包括但不限于糖类(例如单糖、二糖、三糖和寡糖)、氨基酸(例如甘氨酸、精氨酸)、糖醇/多元醇(例如甘露醇、山梨糖醇、木糖醇、右旋糖酐、甘油、阿拉伯糖醇、丙二醇、聚乙二醇)、环糊精(例如羟丙基-β-环糊精、磺丁基乙基-β-环糊精、β-环糊精)、聚乙二

醇(例如PEG 3000、PEG 3350、PEG 4000、PEG 6000)、白蛋白(例如人血清白蛋白(HSA)、牛血清白蛋白(BSA))、盐(例如氯化钠、氯化镁、氯化钙)、螯合剂(例如EDTA)、抗氧化剂(例如抗坏血酸钠、半胱氨酸、硫酸氢钠、柠檬酸钠、甲硫氨酸、苯甲醇)。在液体和/或固体药物组合物中可以存在选自相同或不同组的多于一种稳定剂。

[0133] 术语“膨松剂”包括可以为冷冻干燥的产品提供另外的结构的药剂(例如,以提供药学上可接受的块状物)。常用的膨松剂包括甘露醇、甘氨酸、乳糖、蔗糖等。除了提供药学上可接受的块状物外,膨松剂通常还赋予固体组合物有用的品质,例如改变崩解温度、提供冻融保护、进一步增强长期储存后的蛋白质稳定性等。这些药剂也可用作张力调节剂和/或稳定剂。

[0134] 术语“低温保护剂”通常包括稳定蛋白质或蛋白质衍生物抵抗冷冻诱导的应力的药剂。它们通常还在初级和次级干燥以及长期产品储存期间提供保护。这样的冷冻保护剂的实例是聚合物,例如葡聚糖和聚乙二醇;糖类,如蔗糖、葡萄糖、海藻糖和乳糖;表面活性剂,例如聚山梨酯;和氨基酸,例如甘氨酸、精氨酸、丝氨酸等。

[0135] 术语“冻干保护剂”包括在干燥或“脱水”过程(初级和次级干燥循环)期间为蛋白质提供稳定性的药剂,大概是通过提供无定形的玻璃状基质并通过与蛋白质或蛋白质复合物(例如如本文所披露的)通过氢键合(例如通过替换在干燥过程中被去除的水分子)的结合来实现的。这有助于维持蛋白质构象,在冻干循环中最大程度地减少蛋白质降解,并改善蛋白质或蛋白质衍生物的长期稳定性。实例包括多元醇或糖,例如蔗糖和海藻糖。

[0136] “重构时间”是使固体配制品与液体再水合例如提供无颗粒的澄清溶液所需的时间。

[0137] “等渗”是指目的配制品与人血液具有基本上相同的渗透压。等渗配制品通常具有约270-328mOsm的渗透压。轻度低渗渗透压约为250-269mOsm,轻度高渗渗透压约为328-350mOsm。例如使用蒸气压或冰冻型渗透压计来测量渗透压。

[0138] 可用于本发明配制品的张力调节剂包括例如盐,例如NaCl、KCl、$MgCl_2$、CaCl2等,并用于控制渗透压。另外,冷冻保护剂/冻干保护剂和/或膨松剂例如蔗糖、甘露醇、甘氨酸等可以用作张力调节剂。

[0139] 药物组合物

[0140] 本披露涉及稳定的液体药物组合物和固体药物组合物,其包含至少一种例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物(上文所述)、以及至少一种另外的赋形剂(例如缓冲剂、表面活性剂和一种或多种稳定剂等)。在一些实施例中,药物组合物包含至少两种另外的赋形剂,例如缓冲剂和稳定剂。在一些实施例中,药物组合物包含缓冲剂、至少一种稳定剂、和表面活性剂。

[0141] 本发明的一个目的是提供包含至少一种例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物的药物组合物,其在储存和递送时是稳定的。稳定组合物是其中例如如本文所披露的至少一种IL-15/IL-15Rα复合物在储存时保持其物理和/或化学稳定性和/或保持生物活性的组合物。例如,药物组合物在冻干和储存或在液体配制品储存后表现出大于约6个月、大于约12个月、大于约18个月、大于约24个月、大于约36个月的保质期。药物组合物的稳定性可以使用生物活性测定来测量。

[0142] 通常,将药物组合物和与其预期施用途径(例如口服组合物总体上包括惰性稀释

剂或可食用载体)相容的赋形剂一起配制。施用途径的实例包括胃肠外(例如,静脉内)、皮内、皮下、口服(例如,经口或吸入)、经皮(局部)、跨粘膜和直肠。本披露的组合物适合于肠胃外施用,例如静脉内、肌内、腹膜内或皮下注射;特别适合皮下注射。

[0143] 可以控制例如如本文所披露的包含至少一种IL-15/IL-15Roα复合物的药物组合物的粘度,用于皮下或静脉内施用。粘度会受到蛋白质浓度和pH的影响。例如,随着蛋白质浓度的增加,粘度会增加。pH升高可降低IL-15/IL-15Rα复合物组合物的粘度。在某些组合物中,添加氯化钠以降低配制品的粘度。可以影响IL-15/IL-15Rα复合物组合物粘度的另外的组分是氨基酸,例如组氨酸和精氨酸。

[0144] 药物组合物可以是液体或固体。液体配制品是在合适的水性溶剂(例如水)或水性/有机混合物(例如水醇混合物)中制备的水溶液或悬浮液。液体配制品可以在室温、冷藏(例如2℃-8℃)、或冷冻(例如-20℃或-70℃)下保存以储存。

[0145] 固体配制品可以以任何合适的方式制备,并且可以以块状物或粉末的形式,例如,在添加冻干保护剂的情况下。一方面,通过干燥如本文所述的液体配制品来制备固体配制品,例如通过冻干或喷雾干燥。当配制品是固体配制品时,配制品的水分含量不超过约5%、不超过约4.5%、不超过约4%、不超过约3.5%、不超过约3%、不超过约2.5%、不超过约2%、不超过约1.5%、不超过约1%、或基本上是无水的。可以将固体配制品溶解(即重构)在合适的培养基或溶剂中以变成适合于施用的液体。用于重构固体配制品的合适溶剂包括水、等渗盐水、缓冲剂(例如磷酸盐缓冲盐水)、林格氏(乳酸或葡萄糖)溶液、最低基础培养基、酒精/水溶液、葡萄糖溶液等。溶剂的量可导致治疗蛋白质的浓度高于、等于或低于干燥前的浓度。

[0146] 在一些实施例中,本文披露的药物组合物在约2℃至约8℃储存至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持至少约75%、约80%、约85%、约90%或约95%的纯度(通过RP-HPLC评估的);在约25℃储存至少约6个月或至少约12个月后维持至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%的纯度(通过RP-HPLC评估的);和/或在约40℃储存至少约6个月后维持至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中,本披露的药物组合物在约2至约8℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持至少约85%的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中,本披露的药物组合物在约2℃至约8℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后维持至少约90%的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中,本披露的药物组合物在约2℃至约8℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后维持约95%的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中,本披露的药物组合物在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持约85%的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中,本披露的药物组合物在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持约90%的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中,本披露的药物组合物在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持约95%的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中,本披露的药物组合物在约40℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至

少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持约85％的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中，本披露的药物组合物在约40℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持约90％的纯度(通过RP-HPLC评估的)。在一些实施例中，本文披露的药物组合物在约40℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持约95％的纯度(通过RP-HPLC评估的)。

[0147] 在一些实施例中，本文披露的药物组合物在约2℃至约8℃储存至少约6个月、至少约12个月、或至少约24个月后维持约25％的碱性变体和约75％的酸性变体至约75％的碱性变体和约25％的酸性变体(通过AEX评估的)；在约20℃至约25℃储存至少约6个月或至少约12个月后维持约25％的碱性变体和约75％的酸性变体至约75％的碱性变体和约25％的酸性变体(通过AEX评估的)；和/或在约40℃下储存至少约6个月后维持约25％的碱性变体和约75％的酸性变体至约75％的碱性变体和约25％的酸性变体(通过AEX评估的)。

[0148] 在一些实施例中，在约2℃至约8℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，通过PAMAS评估的本披露的药物组合物包含少于约200个＞2μm的颗粒，和/或在2℃至约8℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，通过PAMAS评估的本披露的药物组合物包含少于约20个＞10μm的颗粒。在一些实施例中，在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，通过PAMAS评估的本披露的药物组合物包含少于约200个＞2μm的颗粒，和/或在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，通过PAMAS评估的本披露的药物组合物包含少于约20个＞10μm的颗粒。在一些实施例中，在约40℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，通过PAMAS评估的本披露的药物组合物包含少于约200个＞2μm的颗粒，和/或在约40℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，通过PAMAS评估的本披露的药物组合物包含少于约20个＞10μm的颗粒。

[0149] 药物组合物的稳定性可以使用生物活性测定来测量。优选地，储存后的生物活性为原始活性的约70％至约125％。可以通过测定在U2OSIL2Rβ/IL2Rγ细胞上IL-15受体的活化来评估生物学活性。

[0150] 在一些实施例中，本文披露的液体药物组合物维持在约2℃至约8℃储存至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的生物活性，其中活性为原始活性的约70％至约125％。在一些实施例中，本文披露的液体药物组合物维持在约2℃至约8℃储存至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的稳定性，其中活性为原始活性的约80％至约125％。

[0151] 在一些实施例中，本文披露的液体药物组合物维持在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月或至少约12个月后，如通过IL-15受体在U2OSIL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的生物活性，其中活性为原始活性的约70％至约125％。在一些实施例中，本文披露的液体药物组合物维持在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月或至少约12

个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的稳定性，其中活性为原始活性的约80％至约125％。

[0152] 在一些实施例中，本文披露的液体药物组合物维持在约40℃储存至少约2周、至少约3周、至少约4周(约1个月)、至少约2个月、或至少约3个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的生物活性，其中活性为原始活性的约70％至约125％。在一些实施例中，本文披露的液体药物组合物维持在约40℃储存至少约2周、至少约3周、至少约4周(约1个月)、至少约2个月、或至少约3个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的稳定性，其中活性为原始活性的约80％至约125％。

[0153] 在一些实施例中，本文披露的固体药物组合物维持在约2℃至约8℃储存至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的生物活性，其中活性为原始活性的约70％至约125％。在一些实施例中，本文披露的固体药物组合物维持在约2℃至约8℃储存至少约6个月、至少约12个月或至少约24个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的稳定性，其中活性为原始活性的约80％至约125％。

[0154] 在一些实施例中，本文披露的固体药物组合物维持在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月或至少约12个月后，如通过IL-15受体在U2OSIL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的生物活性，其中活性为原始活性的约70％至约125％。在一些实施例中，本文披露的固体药物组合物维持在约25℃储存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月或至少约12个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的稳定性，其中活性为原始活性的约80％至约125％。

[0155] 在一些实施例中，本文披露的固体药物组合物维持在约40℃储存至少约2周、至少约3周、至少约4周(约1个月)、至少约2个月、或至少约3个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的生物活性，其中活性为原始活性的约70％至约125％。在一些实施例中，本文披露的固体药物组合物维持在约40℃储存至少约2周、至少约3周、至少约4周(约1个月)、至少约2个月、或至少约3个月后，如通过IL-15受体在U2OS IL2Rβ/IL2Rγ细胞上的活化评估的稳定性，其中活性为原始活性的约80％至约125％。

[0156] IL-15/IL-15Rα浓度

[0157] 本文描述了在所披露的药物组合物中使用的IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)。在一个实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物包含含有SEQ ID NO:2的IL-15和含有SEQ ID NO:5的IL-15Rα。在另一个实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物包含由SEQ ID NO:2组成的IL-15和由SEQ ID NO:5组成的IL-15Rα。

[0158] 在一些实施例中，药物组合物中IL-15/IL-15Rα蛋白质复合物的浓度为约0.1mg/mL至约50mg/mL。在一个实施例中，药物组合物中IL-15/IL-15Rα蛋白质复合物的浓度为约0.1mg/mL至约20mg/mL。优选为约0.1mg/mL至约20mg/mL，最优选为约0.1mg/mL至约10 mg/mL。非限制性实例包括约0.1mg/mL、约0.2mg/mL、约0.3mg/mL、约0.4mg/mL、约0.5mg/mL、约0.6mg/mL、约0.7mg/mL、约0.8mg/mL、约0.9mg/mL、约1mg/mL、约2mg/mL、约3mg/mL、约4mg/mL、约5mg/mL、约6mg/mL、约7mg/mL、约8mg/mL、约9mg/mL、约10mg/mL。

[0159] 本披露的液体和/或固体药物组合物可以包括一种或多种稳定剂，其中非离子稳

定剂是优选的。合适的非离子稳定剂包括多元醇或糖，例如单糖、二糖或三糖，例如蔗糖、海藻糖、棉子糖、麦芽糖、山梨糖醇或甘露醇。糖可以是糖醇或氨基糖。在优选的实施例中，非离子稳定剂是多元醇或糖。在优选的实施例中，非离子稳定剂是蔗糖、海藻糖、甘油、甘露醇或山梨糖醇。在另一个优选的实施例中，非离子稳定剂是蔗糖。非离子稳定剂的浓度可以为约50mM至约500mM，例如约120mM至约350mM、例如约175mM至约350mM、例如约180mM至约300mM、例如约200mM至约300mM、例如约220mM至约300mM、例如约250mM至约270mM、约175mM、约180mM、约185mM、约190mM、约195mM、约200mM、约205mM、约210mM、约215mM、约220mM、约225mM、约230mM、约235mM、约240mM、约245mM、约250mM、约255mM、约260mM、约265mM、约270mM、约275mM、约280mM、约285mM、约290mM、约295mM、约300mM、约310mM、约320mM、约330mM、约340mM、约350mM、约360mM、约370mM、约380mM、约390mM、约400mM、约410mM、约420mM、约430mM、约440mM、约450mM、约460mM、约470mM、约480mM、约490mM、约500mM。在优选的实施例中，稳定液体药物组合物中非离子稳定剂的浓度为约120mM至约350mM。在另一个优选的实施例中，稳定液体药物组合物中非离子稳定剂的浓度为约180mM至约300mM。在又另一个优选的实施例中，非离子稳定剂是蔗糖、海藻糖、甘油、甘露醇或山梨糖醇，其中非离子稳定剂的浓度为约120mM至约350mM。在又另一个优选的实施例中，非离子稳定剂是蔗糖、海藻糖、甘油、甘露醇或山梨糖醇，其中非离子稳定剂的浓度为约180mM至约300mM。在另一个优选的实施例中，非离子稳定剂是甘露醇，其中甘露醇的浓度为约120mM至约350mM。在另一个优选的实施例中，非离子稳定剂是甘露醇，其中甘露醇的浓度为约180mM至约300mM。在又另一个实施例中，非离子稳定剂是甘露醇，其中甘露醇的浓度为约260mM。在另一个优选的实施例中，非离子稳定剂是蔗糖，其中蔗糖的浓度为约120mM至约350mM。在另一个优选的实施例中，非离子稳定剂是蔗糖，其中蔗糖的浓度为约180mM至约300mM。在又另一个实施例中，非离子稳定剂是蔗糖，其中蔗糖的浓度为约260mM。

[0160] 其他赋形剂

[0161] 本文提供的液体和/或固体药物组合物可以包含其他赋形剂，例如另外的缓冲剂、盐(例如氯化钠、琥珀酸钠、硫酸钠、氯化钾、氯化镁、硫酸镁和氯化钙)、另外的稳定剂、张力调节剂(例如盐和氨基酸[例如脯氨酸、丙氨酸、L-精氨酸、天冬酰胺、L-天冬氨酸、甘氨酸、丝氨酸、赖氨酸和组氨酸])、甘油、白蛋白、醇、防腐剂、另外的表面活性剂、抗氧化剂等。液体和/或固体药物组合物还可包含一种或多种张度剂。术语“张度剂”表示用于调节液体和/或固体药物组合物的张度的药学上可接受的赋形剂。液体和/或固体药物组合物可以是低渗的、等渗的或高渗的。等渗性通常与溶液的渗透压有关，通常相对于人血清的渗透压(约250-350mOsmol/kg)。本文所述的液体和/或固体药物组合物可以是低渗的、等渗的或高渗的，但优选是等渗的。等渗配制品是指与其他溶液相比与其具有相同张力的溶液，例如生理盐溶液和血清。合适的张度剂包括但不限于氯化钠、氯化钾、甘油、和氨基酸或糖(特别是葡萄糖)组成的组中的任何组分。张力剂通常以约0.1mM至约500mM的量使用。

[0162] 在稳定剂和张度剂中，存在一组可以以两种方式起作用的化合物，即它们可以同时是稳定剂和张度剂。其实例可以在糖、氨基酸、多元醇、环糊精、聚乙二醇和盐组成的组中找到。可以同时是稳定剂和张度剂的糖的实例是蔗糖。此类另外的药物成分的充分讨论可见于Gennaro (2000)Remington:The Science and Practice of Pharmacy.[雷明顿:药物科学与实践]第20版，ISBN:0683306472。

[0163] 液体药物组合物

[0164] 本文披露了稳定液体药物组合物，其包含例如如本文所述的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物和约0.0001％至约1％(w/v)的表面活性剂，任选地进一步包含约1mM至约100mM的缓冲剂，其提供在约4.5至约8.5的范围内的pH，任选地进一步包含约1mM至约500mM的至少一种上述稳定剂。本文详细描述了可包含在稳定的液体药物组合物中的优选的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物。特别优选的是包含如本文所披露的含有SEQ ID NO:2的IL-15和含有SEQ ID NO:5的IL-15Rα的IL-15/IL-15Rα复合物。

[0165] 适用于所披露的稳定液体药物组合物的表面活性剂包括但不限于非离子表面活性剂、离子表面活性剂、两性离子表面活性剂及其组合。用于使用的典型表面活性剂包括但不限于，山梨糖醇脂肪酸酯(例如，山梨糖醇单辛酸酯、山梨糖醇单月桂酸酯、山梨糖醇单棕榈酸酯)、山梨糖醇三油酸酯、甘油脂肪酸酯(例如，甘油单辛酸酯、甘油单肉豆寇酸酯、甘油单硬脂酸酯)、聚甘油脂肪酸酯(例如，十甘油酯单硬脂酸酯、十甘油酯二硬脂酸酯、十甘油酯亚油酸酯)、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯(例如，聚氧乙烯山梨糖醇单月桂酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇单棕榈酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇三油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇三硬酯酸)、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯(例如，聚氧乙烯山梨糖醇四硬脂酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇四油酸酯)、聚氧乙烯甘油脂肪酸酯(例如，聚氧乙烯甘油单硬脂酸酯)、聚乙二醇脂肪酸酯(例如，聚乙二醇二硬脂酸酯)、聚氧乙烯烷基醚(例如，聚氧乙烯十二烷基醚)、聚氧乙烯聚氧丙烯烷基醚(例如，聚氧乙烯聚氧丙烯乙二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯丙醚、聚氧乙烯聚氧丙烯十六醚)、聚氧乙烯烷基苯基醚(例如，聚氧乙烯壬苯基醚)、聚氧乙烯氢化蓖麻油(例如，聚氧乙烯蓖麻油、聚氧乙烯氢化蓖麻油)、聚氧乙烯蜂蜡衍生物(例如，聚氧乙烯山梨糖醇蜂蜡)、聚氧乙烯羊毛脂衍生物(例如，聚氧乙烯羊毛脂)、以及聚氧乙烯脂肪酸酰胺(例如，聚氧乙烯硬脂酸酰胺)；C10-C18烷基硫酸盐(例如十六烷基硫酸钠、十二烷基硫酸钠、油烯基硫酸钠)、平均添加2至4摩尔的环氧乙烷单元的聚氧乙烯C10-C18烷基硫酸醚(例如，聚氧乙烯十二烷基硫酸钠)、以及C1-C18烷基磺基琥珀酸酯盐(例如，十二烷基磺基琥珀酸酯钠)；以及天然表面活性剂，例如卵磷脂、甘油磷脂、磷酸鞘酯(例如鞘磷脂)和C12-C18脂肪酸的蔗糖酯。组合物可包含这些表面活性剂中的一种或多种。优选的表面活性剂是泊洛沙姆(例如泊洛沙姆188、泊洛沙姆407、泊洛沙姆403、泊洛沙姆402、泊洛沙姆181、泊洛沙姆401、泊洛沙姆185、和泊洛沙姆338或聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯，例如聚山梨酯20、40、60或80。聚山梨酯20(吐温20)(例如，以约0.01％至约0.1％(w/v)，例如约0.01％至约0.04％(w/v)，例如约0.01％、约0.02％、约0.04％、约0.06％、约0.08％、约0.1％的浓度)是有用的。聚山梨酯80(吐温80)(例如，以约0.01％至约0.1％(w/v)，例如约0.01％至约0.04％(w/v)，例如约0.01％、约0.02％、约0.04％、约0.06％、约0.08％、约0.1％的浓度)是有用的。泊洛沙姆188(例如，以约0.01％至约1％(w/v)，例如约0.1％至约0.5％(w/v)，例如约0.1％、约0.2％、约0.3％、约0.4％、约0.5％、约0.6％、约0.7％、约0.8％、约0.9％、约1％)是特别有用的。在一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约0.2％(w/v)泊洛沙姆188。在一个可替代的实施例中，稳定液体药物组合物中包含的表面活性剂是聚山梨酯，合适地是聚山梨酯20或聚山梨酯80，合适地是聚山梨酯20。合适地，聚山梨酯的浓度为约0.01％至约0.1％(w/v)，合适地为约0.02％至约0.05％(w/v)，合适地为约0.04％(w/v)。

[0166] 在一个实施例中，稳定液体药物组合物中包含的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的浓度范围为约0.1mg/mL至约50mg/mL，更优选约0.1mg/mL至约10mg/mL，最优选约1mg/mL。

[0167] 在某些实施例中，稳定液体药物组合物中包含的缓冲剂是乙酸盐缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂或组氨酸缓冲剂。特别优选的是L-组氨酸/HCl缓冲剂(即，L-组氨酸作为缓冲剂)。相对于通过SEC、AEX获得的降解产物和通过RP-HPLC获得的聚集产物，乙酸盐缓冲剂，特别是乙酸钠缓冲剂被评价为在液体药物组合物中是有益的。在一个实施例中，稳定液体组合物包含约10mM至约50mM，例如约10mM、例如约15mM、例如约20mM、例如约25mM、例如约30mM、例如约35mM、例如约40mM、例如约45mM、例如约50mM乙酸钠缓冲剂。在另一个实施例中，稳定液体组合物包含约15mM至约30mM乙酸钠缓冲剂。在另一个实施例中，稳定液体组合物包含约20mM至约30mM乙酸钠缓冲剂。在另一个实施例中，稳定液体组合物包含约10mM至约30mM乙酸钠缓冲剂。在一个实施例中，稳定液体组合物包含约10 mM至约50mM，例如约10mM、例如约15mM、例如约20mM、例如约25mM、例如约30mM、例如约35mM、例如约40mM、例如约45mM、例如约50mM组氨酸缓冲剂。在另一个实施例中，稳定液体组合物包含约15mM至约30mM组氨酸缓冲剂。在另一个实施例中，稳定液体组合物包含约20mM至约30mM组氨酸缓冲剂。在另一个实施例中，稳定液体组合物包含约10mM至约30mM组氨酸缓冲剂。

[0168] 在一个实施例中，稳定液体药物组合物的pH在约4.5至约8.5、例如约4.5至约7.5、例如约4.5至约6.5、例如约4.5至约5.5、例如约4.7至约5.5的范围内，例如约4.5、约4.6、约4.7、约4.8、约4.9、约5.0、约5.1、约5.2、约5.3、约5.4、约5.5、约5.6、约5.7、约5.8、约5.9、约6、约6.2、约6.4、约6.5、约6.6、约6.7、约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.2、约7.3、约7.4、约7.5。在优选的实施例中，稳定液体组合物的pH在约4.5至约5.5的范围内。总体测试表明，所披露的液体药物组合物的理想组合物pH为约5.0。因此，在一个实施例中，稳定液体药物组合物的pH为约5.0。在一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约50mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约15mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约50mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约15mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约50mM乙酸钠缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约15mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约30mM乙酸钠缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM乙酸钠缓冲剂，pH为约5.0。在一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约50mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约15mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在

另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约8.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约50mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约15mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约4.5至约5.5。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10 mM至约50mM组氨酸缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约15mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约10mM至约30mM组氨酸缓冲剂，pH为约5.0。在另一个实施例中，稳定液体药物组合物包含约20mM组氨酸缓冲剂，pH为约5.0。

[0169] 在特定实施例中，稳定液体药物组合物包含

[0170] a.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的乙酸钠、约260mM的蔗糖、约0.2％的泊洛沙姆188，其中组合物的pH为约4.7。

[0171] b.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的乙酸钠、约260mM的蔗糖、约0.04％的聚山梨酯20，其中组合物的pH为约4.7。

[0172] c.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的乙酸钠、约260mM的蔗糖、约0.2％的泊洛沙姆188，其中组合物的pH为约5。

[0173] d.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的乙酸钠、约260mM的蔗糖、约0.04％的聚山梨酯20，其中组合物的pH为约5。

[0174] e.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的乙酸钠、约260mM的蔗糖、约0.2％的泊洛沙姆188，其中组合物的pH为约5.5。

[0175] f.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的乙酸钠、约260mM的蔗糖、约0.04％的聚山梨酯20，其中组合物的pH为约5.5。

[0176] g.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的乙酸钠、约260mM的蔗糖、约0.2％的泊洛沙姆188，其中组合物的pH为约4.7。

[0177] h.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的组氨酸、约260mM的蔗糖、约0.04％的聚山梨酯20，其中组合物的pH为约4.7。

[0178] i.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的组氨酸、约260mM的蔗糖、约0.2％的泊洛沙姆188，其中组合物的pH为约5。

[0179] j.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的组氨酸、约260mM的蔗糖、约0.04％的聚山梨酯20，其中组合物的pH为约5。

[0180] k.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的组氨酸、约260mM的蔗糖、约0.2％的泊洛沙姆188，其中组合物的pH为约5.5或

[0181] l.如本文所述的约1mg/mL的IL-15/IL-15Ra复合物、约20mM的组氨酸、约260mM的蔗糖、约0.04％的聚山梨酯20，其中组合物的pH为约5.5。

[0182] 固体药物组合物

[0183] 本文还披露了固体药物组合物，其包含例如如本文所述的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物；且包含约10mM至约50mM的缓冲剂(其提供范围为约6.5至约8.5的pH)、约1mM至

约500mM的至少一种上文所述的稳定剂、和约0.1mM至约50mM的至少一种上文所述的张度剂。

[0184] 本发明的固体配制品通常通过干燥液体配制品来制备。可以使用任何合适的干燥方法，例如冻干或喷雾干燥。一方面，在冻干之前将冻干保护剂添加到配制品中。冻干涉及将液体配制品冷冻，通常是在用于储存、运输和分配配制品的容器(例如小瓶、注射器(例如单室或双室注射器)或药筒(例如单室或双室药筒)中冷冻(参见，例如，Gatlin和Nail，Protein Purification Process Engineering[蛋白质纯化工艺工程]RogerG.Harrison编辑，Marcel Dekker Inc.[马塞尔德克尔公司]，317-367(1994)。一旦配制品被冷冻，就降低大气压并调节温度以允许例如通过升华除去冷冻的溶剂。冻干过程的这一步骤有时称为初级干燥。如果需要，可以然后升高温度以通过蒸发除去仍与干燥配制品结合的任何溶剂。冻干过程的这一步骤有时称为次级干燥。当配制品达到所需的干燥度时，干燥过程结束并且密封容器。最终的固体配制品有时被称为“冻干配制品”或“块状物”。冻干过程可以使用任何合适的设备进行。合适的冻干设备可从许多商业来源获得(例如，SP科学公司(SP science)，斯通里奇(Stone Ridge)，纽约州)。

[0185] 可以使用多种合适的设备来干燥液体配制品以产生固体(例如冻干)配制品。通常，冻干配制品是由本领域技术人员使用包含搁架的密封腔室制备的，将待干燥的液体配制品的小瓶放置在搁架上。搁架的温度以及冷却和加热速率可以控制，腔室内的压力也可以控制。将理解的是，本文讨论的各种工艺参数是指使用这种类型的设备执行的工艺。如果需要，普通技术人员可以容易地使本文描述的参数适用于其他类型的干燥设备。

[0186] 普通技术人员可以容易地确定用于初级和次级干燥的合适的温度和真空量。通常，将配制品在约-30℃或更低，例如-40℃或-50℃的温度下冷冻。冷却速率会影响基质中晶体的数量和大小。初级干燥通常在比冷冻温度高约10℃、约20℃、约30℃、约40℃或约50℃的温度下进行。

[0187] 冻干后，可以在真空下将小瓶、注射器或药筒密封，例如加塞。可替代地，在密封之前可以允许例如干燥的空气或氮气等气体进入容器。在需要考虑氧化的情况下，允许进入冻干室的气体可以包括阻止或防止冻干产物氧化的气体。气体可以是非氧化气体(例如氮气)，或者可以是惰性气体(例如氦气、氖气、氩气、氪气或氙气)。

[0188] 本文详细描述了可包含在固体药物组合物中的优选的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物。特别优选的是包含如本文所披露的含有SEQ ID NO:2的IL-15和含有SEQ ID NO:5的IL-15Rα的IL-15/IL-15Rα复合物。特别优选的是包含如本文所披露的由SEQ ID NO:2组成的IL-15和由SEQ ID NO:5组成的IL-15Rα的IL-15/IL-15Rα复合物。

[0189] 在一个实施例中，固体药物组合物中包含的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的浓度范围为约0.1mg/mL至约50mg/mL，更优选约0.1mg/mL至约10mg/mL，最优选约0.1mg/mL至约0.5mg/mL。

[0190] 在某些实施例中，固体药物组合物中包含的缓冲剂是磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂或组氨酸缓冲剂。特别优选的是磷酸钠/钾缓冲剂。在一个实施例中，固体组合物包含约10mM至约50mM，例如约10mM、例如约15mM、例如约20mM、例如约25mM、例如约30mM、例如约35mM、例如约40mM、例如约45mM、例如约50mM磷酸钠/钾缓冲剂。在另一个实施例中，固体组合物包含约15mM至约30mM磷酸钠/钾缓冲剂。在另一个实施

例中，固体组合物包含约20mM至约30mM磷酸钠/钾缓冲剂。在另一个实施例中，固体组合物包含约10mM至约30mM磷酸钠/钾缓冲剂。

[0191] 在一个实施例中，固体药物组合物的pH范围为约6.5至约8.5，例如约6.5至约8，例如约6.5至约7.5，例如约6.8至约7.5，约6.5、约6.6、约6.7、约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.2、约7.3、约7.4、约7.5、约7.6、约7.7、约7.8、约7.9、约8.0、约8.1、约8.2、约8.3、约8.4、约8.5。在优选的实施例中，固体组合物的pH在约6.5至约7.5的范围内。总体测试表明，所披露的固体药物组合物的理想组合物pH为约7.3。因此，在一个实施例中，固体药物组合物的pH为约7.3。在一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约50mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约6.5至约8.5。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约30mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约6.5至约8.5。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约10mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约6.5至约8.5。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约50mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约6.5至约7.5。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约30mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约6.5至约7.5。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约10mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约6.5至约7.5。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约50mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约7.3。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约30mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约7.3。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约10mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约7.3。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约5mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约7.3。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约1.35mM磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约7.3。

[0192] 固体药物组合物还包含约1mM至约500mM的至少一种稳定剂。在优选的实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约500mM的至少两种稳定剂。合适的稳定剂例如在上文中描述。在一个实施例中，固体药物组合物包含约1mM至约500mM的蔗糖和约1mM至约500mM的甘露醇。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约5mM至约50mM的蔗糖和约100mM至约300mM的甘露醇。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约30mM的蔗糖和约220mM的甘露醇。

[0193] 固体药物组合物还包含约0.1mM至约50mM的至少一种张度剂。在优选的实施例中，固体药物组合物包含约0.1mM至约50mM的至少两种张度剂。合适的张度剂例如在上文中描述。在一个实施例中，固体药物组合物包含约0.1mM至约50mM KCl和约0.1mM至约50mM NaCl。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约0.1mM至约1mM KCl和约10mM至约50mM NaCl。在另一个实施例中，固体药物组合物包含约0.375mM KCl和约20mM NaCl。

[0194] 在一个实施例中，固体药物组合物包含约0.24mg/mL的IL-15/IL-15Rα复合物、约30mM的蔗糖、约220mM的甘露醇、约0.375mM的KCl、约20mM NaCl、和约1.35mM的磷酸钠/钾缓冲剂，pH为约7.3。

[0195] 制品

[0196] 在另一方面，本文提供了一种制品，其包含目前披露的药物配制品并提供其使用说明。制品包含容器。合适的容器包括，例如，瓶、小瓶(例如双室小瓶、带有或不带有针头的液体配制品小瓶、带有或不带有的固体配制品小瓶带有或不带有针头的重构液体的小瓶)、注射器(例如双室注射器、预装/预填充注射器(例如用于自动注射器设备(自动注射器))、药筒、笔和试管。容器可由各种材料形成，包括玻璃、金属或塑料。容器容纳配制品，并且在容器上的或与容器相关的标签可指示使用说明。在另一个实施例中，可以制备配制品用于

自我施用和/或配制品含有用于自我施用的说明书。在一个实施例中，容纳配制品的容器可以是一次性小瓶。在另一个实施例中，容纳配制品的容器可以是多次使用的小瓶，其允许重复施用配制品，例如使用多于重构配制品的一部分。从商业和用户的角度来看，该制品还可以包含其他所需材料，包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头、注射器和包装插页，以及上一部分所述的使用说明。

[0197] 在一个方面，提供了一种制品，其包含：容器和配置于所述容器内的液体药物组合物，所述组合物包含异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，约0.1mg/mL至约50mg/mL或约0.1至约10mg/mL)；和约0.0001％至约1％(w/v)的表面活性剂，任选地进一步包含约1mM至约100mM的缓冲剂(其提供范围为约4.5至约8.5的pH)，任选地进一步包含约1mM至约500mM的至少一种稳定剂，其中所述液体药物组合物不是由冻干物重构的。

[0198] 在另一方面，提供了一种制品，其包含：容器和配置于所述容器内的固体药物组合物，所述组合物包含异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，约0.1mg/mL至约50mg/mL或约0.1mg/mL至约10mg/mL)；以及约10mM至约50mM的缓冲剂(其提供范围为约6.5至约8.5的pH)、约1mM至约500mM的至少一种稳定剂和约0.1mM至约50mM的至少一种张度剂。在一个实施例中，将组合物冻干并以单剂量储存在一个容器中。容器可以存储在约2℃-8℃或25℃下，直到将其施用于有需要的受试者。

[0199] 在一些实施例中，液体或固体药物组合物具有足够量的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物，以允许每单位剂量递送至少约0.1至约10μg/kg的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)。在一些实施例中，液体或固体药物产品具有足够量的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)以允许每单位剂量递送至少约0.1μg/kg、约0.25μg/kg、约0.5μg/kg、约1μg/kg、约2μg/kg或约5μg/kg。在一些实施例中，以允许每单位剂量皮下递送约0.1μg/kg至约10μg/kg的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)的剂量配制液体或固体药物产品。在一些实施例中，以允许每单位剂量静脉内递送约0.1μg/kg至约10μg/kg的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)的剂量配制液体或固体药物组合物。

[0200] 包含药物产品和组合物的试剂盒

[0201] 本披露还涵盖用于治疗患者的试剂盒。这样的试剂盒广泛地包括所披露的药物产品或液体或固体组合物中的至少一种以及使用说明书。该说明书将披露适当的技术，以作为给药方案的一部分向患者提供药物组合物。这些试剂盒还可含有与封闭的药物组合物组合(即，同时或顺序[之前或之后])进行递送治疗的另外的药剂。

[0202] 本文披露了用于治疗有需要的患者的试剂盒，该试剂盒包含：a)容器，b)配置于所述容器的液体药物组合物，所述组合物包含：i)异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，约0.1mg/mL至约50mg/mL或约0.1mg/mL至约10mg/mL)；和约0.0001％至约1％(w/v)的表面活性剂，任选地进一步包含约1mM至约100mM的缓冲剂(其提供范围为约4.5至约8.5的pH)，任选地进一步包含约1mM至约500mM的至少一种稳定剂，其中液体药物组合物不由冻干物重构；以及c)向患者施用液体药物组合物的说明书。在一些实施例中，容器是笔、预填充注射器、自动注射器或小瓶。在一个实施例中，容器是注射器。注射器可包含在自动注射器中。在另一个实施例中，容器是包含本文描述的液体配制品的自动注射器。

[0203] 本文披露了用于治疗有需要的患者的药剂盒，其包含：a)容器，b)配置于所述容器

内的固体药物组合物，所述组合物包含：i)异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(例如，约0.1mg/mL至约0.5mg/mL)、约10mM至约50mM的缓冲剂(其提供范围为约6.5至约8.5的pH)、约1mM至约500mM的至少一种稳定剂和约0.1mM至约50mM的至少一种张度剂；以及c)向患者施用液体药物组合物的说明书。在一些实施例中，容器是笔、预填充注射器、自动注射器或小瓶。在一个实施例中，容器是注射器。注射器可包含在自动注射器中。在另一个实施例中，容器是包含本文所述固体配制品的自动注射器。

[0204] 使用药物产品及组合物的方法

[0205] 所披露的药物组合物用于治疗受益于用例如如本文所述的IL-15/IL-15Rαα复合物治疗的患者。当然，适当的剂量将根据例如待采用的特定的IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)、宿主、施用方式和所治疗病症的性质和严重性，以及患者所经历的先前治疗的性质而变化。最终，主治医疗保健提供者将决定用于治疗每个单独患者的IL-15/IL-15Rαα复合物的量。

[0206] 本文提供了治疗方法，该方法包括向有需要的患者(例如，如本文所述)施用治疗有效剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)，例如通过皮下注射，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0207] 本文还提供了用于治疗有需要的患者(例如，如本文所述)的药物组合物(例如如本文所披露的)，该方法包括向患者施用治疗有效剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)，例如通过皮下注射，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0208] 本文还提供了IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)用于制造用于治疗有需要的患者(例如，如本文所述)的药物中的用途，该方法包括向患者施用治疗有效剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)，例如通过皮下注射，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0209] 一方面，本文提供了增强IL-15介导的免疫功能的方法，该方法包括以特定的剂量方案向受试者施用IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。由于增强IL-15介导的免疫功能有益于某些障碍的预防、治疗和/或控制，因此本文提供了预防、治疗和/或控制此类障碍的方法，该方法包括向有需要的受试者施用IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。增强IL-15介导的免疫功能将带来有益效果的障碍的非限制性实例包括癌症、淋巴细胞减少症、免疫缺陷、感染性疾病和伤口。

[0210] 在一个实施例中，本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者中的障碍的方法，其中IL-15介导的免疫功能的增强有益于预防、治疗和/或控制此类障碍，该方法包括在治疗周期的持续时间内将相同剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)施用于受试者，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为

如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在一个实施例中，剂量在0.1μg/kg和0.5μg/kg的范围内。在一个实施例中，剂量在0.25μg/kg和1μg/kg的范围内。在具体实施例中，剂量在0.5μg/kg和2μg/kg的范围内。在另一个实施例中，剂量在1μg/kg和4μg/kg之间。在另一个实施例中，剂量在2μg/kg和8μg/kg之间。在另一个实施例中，剂量为0.1μg/kg、0.25μg/kg、0.5μg/kg、1μg/kg、2μg/kg、4μg/kg、5μg/kg、6μg/kg、8μg/kg。在具体实施例中，剂量为1μg/kg。在某些实施例中，将该剂量施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次或更多次，或1次至3次、1次至4次、2次至4次、2次至5次、2次至6次、3次至6次、4次至6次、6次至8次、5次至8次、或5次至10次。在一些实施例中，经5天至7天、5天至10天、7天至12天、7天至14天、7天至21天、或14天至21天的时间段，将该剂量施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次或更多次，或1次至3次、1次至4次、2次至4次、2次至5次、1次至5次、2次至6次、3次至6次、4次至6次、或6次至8次。在具体实施例中，经5天至7天、5天至10天、7天至12天、7天至14天、7天至21天、或14天至21天的时间段，将每个剂量施用至少1次、2次、3次、4次、5次、6次或更多次。在另一个具体实施例中，将每个剂量施用至少一次，并且对受试者每周施用剂量一次并持续三周。

[0211] 在另一个实施例中，本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者中的障碍的方法，其中IL-15介导的免疫功能的增强有益于预防、治疗和/或控制此类障碍，该方法包括在给药周期中，将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)以给药方案施用于受试者至少一次、两次、四次或六次，然后是非施用时间段，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在具体实施例中，IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)每周施用一次，持续三周，而在第四周中不施用，其中IL-15/IL-15Rαα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。然后重复给药周期。

[0212] 在一个替代性实施例中，本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者中的障碍的方法，其中IL-15介导的免疫功能的增强有益于预防、治疗和/或控制此类障碍，该方法包括(a)将至少一个初始低剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)施用于受试者；以及(b)在治疗周期的持续时间内向受试者连续施用更高剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在具体实施例中，本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者的癌症的方法，该方法包括(a)在治疗周期期间，将初始剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)施用于受试者；以及(b)在治疗周期的持续时间内向受试者连续施用更高剂量的IL-15/IL-15Rα复合物，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在具体实施例中，初始剂量在0.1μg/kg和0.5μg/kg的范围内。在具体实施例中，初始剂量在0.25μg/kg和1μg/kg的范围内。在另一个实施例中，初始剂量在0.5μg/kg和2μg/kg的范围内。在具体实施例中，初始剂量在1μg/kg和4μg/kg之间。在另一个实施例中，初始剂量在2μg/kg和8μg/kg之间。在另一个实施例中，初始剂量为约0.25μg/kg。在另一个实施例中，初始剂量为约0.5μg/kg。在另一个实施例中，初始剂量为约1μg/kg。在另一个实施例中，初始剂量为0.1μg/kg、0.25μg/kg、0.5μg/kg、

1μg/kg、2μg/kg、4μg/kg、5μg/kg、6μg/kg、8μg/kg。在某些实施例中，初始剂量施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次或更多次，或1次至3次、1次至4次、2次至4次、2次至5次、2次至6次、3次至6次、4次至6次、6次至8次、5次至8次、或5次至10次。在一些实施例中，经5天至7天、5天至10天、7天至12天、7天至14天、7天至21天、或14天至21天的时间段，将初始剂量施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次或更多次，或1次至3次、1次至4次、2次至4次、2次至5次、1次至5次、2次至6次、3次至6次、4次至6次、或6次至8次。在某些实施例中，每个连续更高的剂量是前一剂量1.2倍、1.25倍、1.3倍、1.35倍、1.4倍、1.45倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍或6倍，或是前一剂量高1.2倍至2倍、2倍至3倍、2倍至4倍、1倍至5倍、2倍至6倍、3倍至4倍、3倍至6倍或4倍至6倍，或是前一剂量高2倍。在一些实施例中，每个连续更高的剂量比前一剂量高25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、100％、105％、110％、115％、120％、125％、130％、135％、140％、145％、150％、155％、160％、165％、170％、175％、180％、185％、190％、195％或200％。在具体实施例中，经5天至7天、5天至10天、7天至12天、7天至14天、7天至21天、或14天至21天的时间段，将每个剂量施用至少1次、2次、3次、4次、5次、6次或更多次。在另一个具体实施例中，将每个剂量施用至少一次，并且受试者每周7天施用剂量三次(例如，周一、周三和周五)持续两周。

[0213] 在某些实施例中，监测受试者的以下不良事件：诸如3级或4级血小板减少、3级或4级粒细胞减少、3级或4级白细胞增多(白细胞(WBC)>100,000mm^3)、3级或4级WBC减少、绝对淋巴细胞计数(ALC)和/或绝对中性粒细胞计数(ANC)、淋巴细胞增多和器官功能障碍(例如，肝功能障碍或肾功能障碍)。在某些实施例中，如果受试者经历不良事件，诸如3级或4级血小板减少、3级或4级粒细胞减少、3级或白细胞增多(白细胞>100,000mm^3)、3级或4级WBC减少、绝对淋巴细胞计数(ALC)和/或绝对中性粒细胞计数(ANC)、淋巴细胞增多和器官功能障碍(例如，肝功能障碍或肾功能障碍)，则剂量不增加，并且剂量可以保持不变、停止或减少。根据这些实施例，施用于受试者的IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)的剂量可以减少或保持相同，直到不良事件减少或消失，其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0214] 在另一个实施例中，本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者中的障碍的方法，其中IL-15介导的免疫功能的增强有益于预防、治疗和/或控制此类障碍，该方法包括：将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)以剂量方案施用于人受试者，该剂量方案包括开始的第一周期以及序贯周期，第一周期包含在0.25μg/kg和4μg/kg之间的初始剂量，在序贯周期中剂量与前一剂量相比增加两倍至三倍，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。每个剂量施用至少一次、两次、四次或六次，然后将剂量升高至下一水平，并且监测在施用一定剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)之后的一定时间段，例如，在施用一定剂量的IL-15/IL-15Rα复合物之后大约24小时至大约48小时、大约24小时至大约36小时、大约24小时至大约72小时、大约48小时至大约72小时、大约36小时至大约48小时、或大约48小时至60小时，以及施用另一个剂量的IL-15/IL-15Rα复合物之前从受试者获得的样品(例如，血浆样品)中的游离的IL-15的浓度，然后将剂量升高至

下一水平，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0215] 在另一个实施例中，本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者中的障碍的方法，其中IL-15介导的免疫功能的增强有益于预防、治疗和/或控制此类障碍，该方法包括将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)以如下依次剂量的剂量方案施用于受试者：(i)0.25μg/kg；(ii)0.5μg/kg；(iii)1μg/kg；(iv)2μg/kg；(v)4μg/kg；和(vi)8μg/kg，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在某个实施例中，将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)以如下依次剂量的剂量方案施用于受试者：(i)1μg/kg；(ii)2μg/kg；(iii)4μg/kg；和(iv)8μg/kg，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在一个给药周期中每个剂量施用至少一次、两次、四次或六次，然后将剂量升高至下一水平，并且其中监测在施用一定剂量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)之后的一定时间段，例如，在施用一定剂量的IL-15/IL-15Rα复合物之后大约24小时至大约48小时、大约24小时至大约36小时、大约24小时至大约72小时、大约48小时至大约72小时、大约36小时至大约48小时、或大约48小时至60小时，以及施用另一个剂量的IL-15/IL-15Rα复合物之前从受试者获得的样品(例如，血浆样品)中的游离的IL-15的浓度，然后将剂量升高至下一水平，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0216] 在另一个实施例中，本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者的癌症的方法，该方法包括将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)以如下依次剂量的剂量方案施用于受试者：(i)1μg/kg；(ii)2μg/kg；(iii)4μg/kg；和(iv)8μg/kg，其中在一个给药周期中每个剂量施用至少一次、两次、四次或六次，然后将剂量升高至下一水平，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在具体实施例中，所述方法包括使用周期性施用方案向受试者施用IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)，其中所述周期性施用方案包括：(a)在1周至3周的第一时间段内每1、2或3天将0.1至10μg/kg剂量的IL-15/IL-15Rα复合物皮下施用于受试者；以及(b)在1周至2个月的第二时间段(其中未将IL-15/IL-15Rα复合物施用于受试者)之后，在1周至3周的第三时间段内每1、2或3天将0.1至10μg/kg剂量的IL-15/IL-15Rα复合物皮下施用于受试者，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0217] 在特定实施例中，受试者是人受试者。在某些实施例中，将治疗周期中的剂量施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次或更多次，或1次至3次、1次至4次、1次至5次、2次至4次、2次至5次、1次至6次、2次至6次、1次至6次、3次至6次、4次至6次、6次至8次、5次至8次、或5次至10次。在一些实施例中，经5天至7天、5天至10天、7天至12天、7天至14天、7天至21天、或14天至21天的时间段，将剂量施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次或更多次，或1次至3次、1次至4次、1次至5次、2次至4次、2次至5次、2次至6次、1次至6次、3次至6次、4次至6次、或6次至8次。在某些实施例中，将每个剂量每给药周期施用1次、2

次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次或更多次，或1次至3次、1次至4次、1次至5次、2次至4次、2次至5次、1次至6次、2次至6次、1次至6次、3次至6次、4次至6次、6次至8次、5次至8次、或5次至10次。在具体实施例中，经5天至7天、5天至10天、7天至12天、7天至14天、7天至21天、或14天至21天的时间段，将每个剂量施用至少1次、2次、3次、4次、5次、6次或更多次，或1次至3次、1次至4次、1次至5次、2次至4次、2次至5次、1次至6次、2次至6次、1次至6次、3次至6次、4次至6次、6次至8次、5次至8次、或5次至10次。

[0218] 在另一个具体实施例中，受试者每周7天施用剂量三次(例如，周一、周三和周五)。在某些实施例中，监测受试者的以下不良事件：诸如3级或4级血小板减少、3级或4级粒细胞减少、3级或4级白细胞增多(白细胞(WBC)＞100,000mm3)、3级或4级WBC减少、绝对淋巴细胞计数(ALC)和/或绝对中性粒细胞计数(ANC)、淋巴细胞增多和器官功能障碍(例如，肝功能障碍或肾功能障碍)。在某些实施例中，如果受试者经历不良事件，诸如3级或4级血小板减少、3级或4级粒细胞减少、3级或白细胞增多(白细胞＞100,000mm3)、3级或4级WBC减少、绝对淋巴细胞计数(ALC)和/或绝对中性粒细胞计数(ANC)、淋巴细胞增多和器官功能障碍(例如，肝功能障碍或肾功能障碍)，则剂量不增加，并且剂量可以保持不变、停止或减少。根据这些实施例，施用于受试者的IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)的剂量可以减少或保持不变，直到不良事件减少或消失。

[0219] 在具体实施例中，根据本文所述的方法，将每个剂量每周施用一次并持续三周。在具体实施例中，根据本文所述的方法，将每个剂量每周施用一次、三次并持续两周。在具体实施例中，根据本文所述的方法，将每个剂量每周施用一次、三次并持续两周、三周或四周。在具体实施例中，根据本文所述的方法，将每个剂量每周施用一次、六次并持续两周、三周或四周。在具体实施例中，根据本文所述的方法，将每个剂量每隔一天施用一次并持续两周、三周或四周。在具体实施例中，根据本文所述的方法，将每个剂量每天施用一次并持续两周、三周或四周。

[0220] 在某些实施例中，根据本文所述的方法将例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物皮下施用于受试者，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在一些实施例中，根据本文所述的方法将例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物静脉内或肌肉内施用于受试者，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在某些实施例中，根据本文所述的方法将例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物肿瘤内施用于受试者，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在一些实施例中，根据本文所述的方法将例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物局部施用于受试者的一个部位(例如，感染部位)，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0221] 在某些实施例中，根据本文描述的方法从受试者获得的样品是血液样品。在具体实施例中，样品是血浆样品。IL-15的基础血浆水平在人体中为大约1pg/ml，在猴子(诸如猕猴)中为大约8-10pg/ml，在啮齿动物(诸如小鼠)中为大约12pg/ml。可以使用本领域技术人

员已知的技术从受试者获得样品。

[0222] 可以使用本领域技术人员已知的标准技术来评估IL-15的血浆水平。例如，血浆可以从获自受试者的血液样品获得，并且可以通过ELISA来测量血浆中的IL-15水平。

[0223] 在具体实施例中，通过本文所述的方法增强的免疫功能的实例包括淋巴细胞的增殖/扩增(例如，淋巴细胞数量的增加)、淋巴细胞凋亡的抑制、树突状细胞(或抗原呈递细胞)的活化和抗原呈递。在特定实施例中，通过本文所述的方法增强的免疫功能是$CD4^+$T细胞(例如，Th1和Th2辅助T细胞)、$CD8^+$T细胞(例如，细胞毒性T淋巴细胞、α/βT细胞和γ/δT细胞)、B细胞(例如，浆细胞)、记忆T细胞、记忆B细胞、树突状细胞(未成熟或成熟)、抗原呈递细胞、巨噬细胞、肥大细胞、自然杀伤T细胞(NKT细胞)、肿瘤驻留T细胞、$CD122^+$T细胞或自然杀伤细胞(NK细胞)的数量的增殖/扩增或活化。在一个实施例中，本文所述的方法增加淋巴细胞祖细胞的增殖/扩增或数量。在一些实施例中，相对于阴性对照，本文所述的方法使$CD4^+$T细胞(例如，Th1和Th2辅助T细胞)、$CD8^+$T细胞(例如，细胞毒性T淋巴细胞、α/β T细胞和γ/δT细胞)、B细胞(例如，浆细胞)、记忆T细胞、记忆B细胞、树突状细胞(未成熟或成熟)、抗原呈递细胞、巨噬细胞、肥大细胞、自然杀伤T细胞(NKT细胞)、肿瘤驻留T细胞、$CD122^+$T细胞或自然杀伤细胞(NK细胞)的数量增加大约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍或更多倍。

[0224] 在具体实施例中，相对于未施用例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物和抗PD-1抗体分子的组合的受试者中的免疫功能，本文所述的方法将受试者中的免疫功能增强或诱导至少0.2倍、0.5倍、0.75倍、1倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或至少10倍，如使用本领域熟知的测定法(例如，ELISPOT、ELISA和细胞增殖测定法)所测定，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在具体实施例中，相对于未施用例如如本文所披露的IL-15/IL-15Rα复合物和抗PD-1抗体分子的组合的受试者中的免疫功能，本文所述的方法将受试者中的免疫功能增强或诱导至少99％、至少95％、至少90％、至少85％、至少80％、至少75％、至少70％、至少60％、至少50％、至少45％、至少40％、至少45％、至少35％、至少30％、至少25％、至少20％、或至少10％，如使用本领域熟知的测定法(例如ELISPOT、ELISA和细胞增殖测定法)所测定，并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供，例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在具体实施例中，免疫功能是细胞因子释放(例如，干扰素-γ、IL-2、IL-5、IL-10、IL-12或转化生长因子(TGF)-β)。在一个实施例中，IL-15介导的免疫功能是NK细胞增殖，它可以例如通过流式细胞术(检测表达NK细胞的标记物(例如，CD56)的细胞数)来测定。在一个实施例中，IL-15介导的免疫功能是CD8+T细胞增殖，它可以例如通过流式来测定。在另一个实施例中，IL-15介导的免疫功能是抗体产生，它可以例如通过ELISA来测定。在一些实施例中，IL-15介导的免疫功能是效应子功能，它可以例如通过细胞毒性测定法或本领域熟知的其他测定法来测定。可以使用本领域技术人员已知的标准技术来监测/评估一个或多个剂量的IL-15/IL-15Rα复合物和抗PD-1抗体分子的组合对外周血淋巴细胞计数的作用。哺乳动物中的外周血淋巴细胞计数可以通过例如以下步骤来确定：从所述哺乳动物获得外周血样品，使用例如聚蔗糖-泛影葡胺(法玛西亚公司)(FicollHypaque(Pharmacia))梯度离心将淋巴细胞与外周血的其他组分(诸如血浆)分离，以及使用台盼蓝

对淋巴细胞进行计数。哺乳动物中的外周血T细胞计数可以通过例如以下步骤来确定:使用例如使用聚蔗糖-泛影葡胺(法玛西亚公司)(Ficoll-Hypaque(Pharmacia))梯度离心将淋巴细胞与外周血的其他组分(诸如血浆)分离,用针对缀合至FITC或藻红蛋白的T细胞抗原(诸如CD3、CD4和CD8)的抗体来标记T细胞,以及通过FACS来测量T细胞的数量。此外,可以使用本领域技术人员已知的标准技术(诸如FACS)来确定对特定T细胞(例如,$CD2^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、$CD4^+RO^+$、$CD8^+RO^+$、$CD4^+RA^+$或$CD8^+RA^+$)或NK细胞亚群的作用。

[0225] 组合疗法

[0226] 还提供了可与IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)组合使用的其他疗法。一方面,本文提供了预防、治疗和/或控制癌症的方法,该方法包括施用有效量的IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文所披露的)和至少一种另外的治疗剂,其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0227] 在一个实施例中,所述至少一种另外的治疗剂是抗PD-1抗体。

[0228] 在优选的实施例中,抗PD-1抗体是派姆单抗、纳武单抗、塞米普利单抗、斯巴达利珠单抗、卡瑞利珠单抗、信迪利单抗、替雷利珠单抗或特瑞普利单抗。

[0229] 在特别优选的实施例中,抗PD-1抗体是斯巴达利珠单抗。

[0230] 在具体实施例中,根据本文所述的方法将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合施用于受试者实现了以下一种、两种或三种或更多种结果:(1)减少肿瘤或赘生物的生长;(2)减少肿瘤的形成;(3)根除、除去或控制原发性、区域性和/或转移性癌症;(4)减少转移性扩散;(5)降低死亡率;(6)提高生存率;(7)延长生存期;(8)增加缓解期的患者人数;(9)降低住院率;(10)缩短住院时间;以及(11)维持肿瘤的大小,使其增加不超过10%、或不超过8%、或不超过6%、或不超过4%、或不超过2%,其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0231] 在具体实施例中,相对于施用阴性对照的患有癌症的受试者中的肿瘤的生长,根据本文所述方法将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合施用于患有癌症的受试者使肿瘤的生长抑制或减少至少2倍、优选地至少2.5倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少7倍、或至少10倍,如使用本领域已知的测定法所测量,并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在另一个实施例中,相对于施用阴性对照、或作为单一药剂的IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)或抗PD-1抗体分子的患有癌症的受试者中的肿瘤的生长,根据本文所述方法将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合施用于患有癌症的受试者使肿瘤的生长抑制或减少至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、或至少95%,如使用本领域已知的测定法所测量,并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0232] 癌性疾病的实例包括但不限于实体瘤、血液癌症、软组织肿瘤和转移性病灶。实体瘤的实例包括各种器官系统(诸如影响肝、肺、乳腺、淋巴、胃肠(例如,结肠)、泌尿生殖道

(例如,肾细胞、尿路上皮细胞)、前列腺和咽的那些器官系统)的恶性肿瘤,例如肉瘤和癌(包括腺癌和鳞状细胞癌)。腺癌包括诸如大多数结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌和食管癌的恶性肿瘤。鳞状细胞癌包括恶性肿瘤,例如在肺、食管、皮肤、头颈部区域、口腔、肛门和子宫颈中。在一个实施例中,癌症是黑素瘤,例如晚期黑素瘤。还可以使用本发明的方法和组合物治疗或预防前述癌症的转移性病灶。

[0233] 使用IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合可以抑制癌症生长的示例性癌症包括通常对免疫疗法有反应的癌症。用于治疗的优选的癌症的非限制性实例包括黑素瘤(例如,转移性恶性黑素瘤)、肾癌(例如,透明细胞癌)、前列腺癌(例如,激素难治性前列腺腺癌)、乳腺癌、结肠癌和肺癌(例如,非小细胞肺癌)。另外,可以使用本文所述的组合疗法来治疗难治性或复发性恶性肿瘤。

[0234] 可以治疗的其他癌症的实例包括骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门癌、胃食道癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、默克(Merkel)细胞癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包括急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性成淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病)、儿童实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西氏(Kaposi)肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症(包括石棉诱导的癌症(例如,间皮瘤))以及所述癌症的组合。

[0235] 在具体实施例中,癌症是黑素瘤、肾癌、结肠癌或前列腺癌。在一个实施例中,癌症是黑色素瘤。在另一个实施例中,癌症是转移性的。在另一个实施例中,癌症是转移性黑色素瘤。在另一个实施例中,受试者先前已经用免疫检查点抑制剂(CPI),例如抗PD-1和/或抗PD-L1、和/或抗CTLA-4进行了治疗,并且已经应答并进展。

[0236] IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合可以与一种或多种其他疗法(例如抗癌剂、细胞因子或抗激素剂)一起施用以治疗和/或控制癌症,其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。下文描述了非限制性示例性抗癌剂。

[0237] 在一个实施例中,本文提供了用于预防、治疗和/或控制受试者中的障碍(例如,受试者中的过度增殖性病症或障碍(例如,癌症))的方法,该方法包括将IL-15/IL-15Rα复合物(例如如本文披露的)和抗PD-1抗体分子施用于有需要的受试者,并且其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在一些实施例中,通过注射(例如,皮下注射或静脉内注射)以约200mg至500mg,例如约250mg至450mg、约300mg至400mg、约250mg至350mg、约350mg至450mg、或约300mg、或约400mg的剂量(例如,平稳剂量)施用抗PD-1抗体分子。给药日程表(例如,平稳给药日程表)可以从例如每周至约每2周、约每3周、约每4周、约每5周或约每6周一次变化。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约300mg至400mg的剂量施用,约每三周一次或约每四周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约300mg的剂量施

用,约每三周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约400mg的剂量施用,约每四周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约300mg的剂量施用,约每四周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约400mg的剂量施用,约每三周一次。

[0238] 根据本文描述的方法,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的),可以以药物组合物(例如,如本文所披露的液体药物组合物或如本文所披露的固体药物组合物)施用于受试者。在一个实施例中,将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)以液体药物组合物施用于受试者。在另一个实施例中,将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)以固体药物组合物施用于受试者。在具体实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)与一种或多种其他治疗剂(例如抗PD-1抗体分子)组合施用,其中IL-15/IL-15Rαα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。组合疗法包括同时和连续施用IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子,其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。如本文所用,如果IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子在同一天(例如,同时或相隔约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时或约8小时)施用于患者,则将其称为同时施用。相比之下,如果IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子在不同的日期施用于患者(例如IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子可以以1天、2天或3天的间隔施用),则将其称为连续施用。在本文所述的方法和用途中,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)的施用可以在施用抗PD-1抗体分子之前或之后进行。当同时施用时,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子可以在相同的药物组合物中或在不同的药物组合物中。

[0239] IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合也可以与放射疗法(包括例如使用X射线、γ射线和其他辐射源)一起施用,以破坏癌细胞。在具体实施例中,放射治疗作为外部束辐射或远距离疗法施用,其中辐射来自远程源。在其他实施例中,放射治疗作为内部疗法或近距离疗法施用,其中放射源放置于靠近癌细胞或肿瘤块的体内。IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子也可以与化学疗法组合地施用。在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子可以在放射疗法或化学疗法之前、期间或之后根据本文所述的方法或用途施用。在一个实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合可以在手术之前、期间或之后施用。

[0240] 在一些实施例中,将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)与抗PD-1抗体分子的组合施用于患有或诊断为患有癌症的受试者,其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。在其他实施例中,将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合施用于易患或易发展为癌症的受试者,其中IL-15/IL-15Rα复合物作为如本文所述的药物组合物的一部分提供,例如作为如本文所述的液体药物组合物或固体药物组合物的一部分提供。

[0241] 在某些实施例中,将IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体

分子的组合施用于0个月至6个月大、6个月至12个月大、1岁至5岁、5岁至10岁、10岁至15岁、15岁至20岁、20岁至25岁、25岁至30岁、30岁至35岁、35岁至40岁、40岁至45岁、45岁至50岁、50岁至55岁、55岁至60岁、60岁至65岁、65岁至70岁、70岁至75岁、75岁至80岁、80岁至85岁、85岁至90岁、90岁至95岁、或95岁至100岁的受试者。在其他实施例中，将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合施用于成人。在某些实施例中，将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合施用于将要经历或已经经历手术、化学疗法和/或放射疗法的受试者。在一些实施例中，将IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合施用于难治性患者。在一个实施例中，难治性患者是标准抗癌疗法难以治愈的患者。在一个实施例中，当癌症未被显著根除和/或症状未显著缓解时，患有癌症的患者是疗法难以治愈的。在这种情况下，使用本领域公认的“难治性”含义，可以通过本领域已知的任何方法体内或体外确定患者是否为难治性的，从而测定治疗的有效性。在各种实施例中，当癌性肿瘤未减少或已增加时，患有癌症的患者是难治性的。

[0242] 本文考虑的其他方法和用途用于治疗已经暴露于特定毒素或病原体的患者。因此，在另一个方面，提供了治疗受试者中的感染性疾病的方法，该方法包括将如本文披露的组合(例如包含IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)，和抗PD-1抗体分子的组合)施用于受试者，以治疗受试者的感染性疾病。

[0243] 除了刺激宿主对感染的天然免疫防御之外或代替刺激宿主对感染的天然免疫防御，在感染(例如急性感染和/或慢性感染)的治疗中，IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合的施用可以与常规治疗组合。宿主对感染的天然免疫防御包括但不限于炎症、发热、抗体介导的宿主防御、T淋巴细胞介导的宿主防御(包括淋巴因子分泌和细胞毒性T细胞(特别是在病毒感染期间))、补体介导的裂解和调理作用(促进吞噬作用)和吞噬作用。抗PD-1抗体分子使功能异常的T细胞重新活化的能力用于治疗慢性感染，特别是细胞介导的免疫对于完全恢复很重要的那些慢性感染。

[0244] 抗体介导的PD-1阻断可以作为IL一15/IL一15Rα复合物施用的辅助或与IL-15/IL-15Rα复合物和/或疫苗组合，以刺激对病原体、毒素和自体抗原的免疫应答。该治疗方法对其是特别有用的病原体的实例包括目前不存在有效疫苗的病原体，或常规疫苗不完全有效的病原体。这些病原体包括但不限于人类免疫缺陷病毒(HIV)、肝炎病毒(A、B和/或C)、流感病毒、单纯疱疹病毒、贾第虫属、疟原虫物种、利什曼原虫属、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌。IL-15/IL-15Rα复合物和PD-1阻断产生的免疫系统刺激对于介质(诸如在感染的过程中提供改变的抗原的HIV)产生的已确立的感染特别有用。例如，这些新型表位在治疗时被识别为外来的，因此引起强烈的T细胞应答，并且通过PD一1的负信号不会抑制该T细胞应答。

[0245] 可以与IL-15/IL-15Rα复合物(例如，如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子组合使用以预防、治疗和/或控制疾病(例如，癌症、感染性疾病、淋巴细胞减少症、免疫缺陷和伤口)的其他疗法包括但不限于小分子、合成药物、肽(包括环状肽)、多肽、蛋白质、核酸(例如，DNA和RNA核苷酸，包括但不限于反义核苷酸序列、三螺旋、RNAi和编码生物活性蛋白、多肽或肽的核苷酸序列)、抗体、合成或天然无机分子、模拟剂以及合成或天然有机分子。此类疗法的具体实例包括但不限于免疫调节剂(例如，干扰素)、抗炎剂(例如，肾上腺皮质激素、

皮质类固醇(例如,倍氯米松(beclomethasone)、布地奈德(budesonide)、氟尼缩松(flunisolide)、氟替卡松(fluticasone)、曲安奈德(triamcinolone)、甲基泼尼松龙(methylprednisolone)、泼尼松龙(prednisolone)、泼尼松(prednisone)、氢化可的松(hydrocortisone))、糖皮质激素、类固醇和非甾体类抗炎药(例如,阿司匹林、布洛芬、双氯芬酸和COX-2抑制剂))、止痛药、白三烯拮抗剂(例如,孟鲁司特(montelukast)、甲基黄嘌呤、扎鲁司特(zafirlukast)和齐留通(zileuton))、β2-激动剂(例如,阿布特罗(albuterol)、比特罗(biterol)、非诺特罗(fenoterol)、异他林(isoetharie)、奥西普那林(metaproterenol)、吡布特罗(pirbuterol)、沙丁胺醇(salbutamol)、特布他林福莫特罗(terbutalinformoterol)、沙美特罗(salmeterol)和沙丁胺醇特布他林(salbutamol terbutaline))、抗胆碱药(例如,异丙托溴铵(ipratropium bromide)和氧托溴铵(oxitropium bromide))、柳氮磺胺吡啶(sulphasalazine)、青霉胺、氨苯砜(dapsone)、抗组胺药、抗疟疾药(例如,羟氯喹)、抗病毒药(例如,核苷类似物(例如,齐多夫定(zidovudine)、阿昔洛韦(acyclovir)、更昔洛韦(ganciclovir)、维达拉滨(vidarabine)、碘苷(idoxuridine)、三氟胸苷(trifluridine)和利巴韦林(ribavirin))、膦甲酸(foscarnet)、金刚烷胺(amantadine)、金刚乙胺(rimantadine)、沙奎那韦(saquinavir)、茚地那韦(indinavir)、利托那韦(ritonavir)和AZT)和抗生素(例如,放线菌素D(dactinomycin)(以前称为放线菌素)、博来霉素、红霉素、青霉素、光辉霉素(mithramycin)和安曲霉素(anthramycin))。

[0246] 已知可以用于或已经用于或目前用于预防、控制和/或治疗受IL-15功能/信号传导和/或免疫检查点调节影响的疾病的任何疗法均可以与IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合疗法组合使用。参见例如Gilman等人,Goodman and Gilman′s:ThePharmacological Basis of Therapeutics[古德曼和吉尔曼治疗学的药理学基础],第10版,McGraw-Hill,New York[纽约麦格劳·希尔公司],2001;The Merck Manual of Diagnosis and Therapy[默克诊疗手册],Berkow,M.D.等人(编),第17版,Merck Sharp&Dohme Research Laboratories,Rahway,NJ[新泽西州拉威的默沙东研究实验室],1999;Cecil Textbookof Medicine[希氏内科学教科书],第20版,Bennett和Plum(编),W.B.Saunders,Philadelphia[费城的桑德斯出版公司],1996和Physicians' Desk Reference[医师案头参考](第66版,2012)的关于疗法(例如,预防剂或治疗剂)的信息,这些疗法已经用于或目前用于预防、治疗和/或控制疾病或障碍(例如,癌症、感染性疾病、淋巴细胞减少症、免疫缺陷和伤口)。

[0247] 除了IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合疗法之外可以使用的一种或多种其他疗法的非限制性实例包括免疫调节剂,诸如但不限于化疗剂和非化疗免疫调节剂。化疗剂的非限制性实例包括氨甲蝶呤、环孢菌素A、来氟米特(leflunomide)、顺铂、异环磷酰胺(异环磷酰胺)、紫杉烷类(诸如汰癌胜(taxo$_1$)和紫杉醇(paclitaxol))、拓扑异构酶I抑制剂(例如,CPT-11、托泊替康(topotecan)、9-AC和GG-211)、吉西他滨(gemcitabine)、长春瑞滨(vinorelbine)、奥沙利铂(oxaliplatin)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲酰四氢叶酸(leucovorin)、长春瑞滨、替莫唑胺(temodal)、细胞松弛素B、短杆菌肽D、吐根碱(emetine)、丝裂霉素、依托泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide)、长春新碱、长春花碱、秋水仙素、多柔比星(doxorubicin)、柔红霉素(daunorubicin)、二羟基

蒽二酮、米托蒽醌(mitoxantrone)、光辉霉素、放线菌素D、1-脱氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛尔(propranolol)和嘌呤霉素同系物和环磷酰胺。

[0248] 生物学活性

[0249] IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和/或抗PD-1抗体分子增加了免疫应答,该免疫应答可以是例如抗体应答(体液应答)或细胞免疫应答(例如细胞因子分泌(例如干扰素-γ)、辅助活性或细胞毒性)。在一个实施例中,增加的免疫应答是增加的细胞因子分泌、抗体产生、效应子功能、T细胞增殖和/或NK细胞增殖。测量此类活性的各种测定法是本领域熟知的,并且包括酶联免疫吸附测定法(ELISA;参见例如Current Protocols in Immunology[免疫学实验室指南]的第2.1节,Coligan等人(编),John Wiley and Sons,Inc.[约翰·威立父子出版公司]1997)、鉴定抗原特异性T细胞的"四聚体染色"测定法(参见Altman等人,(1996),Science[科学]274:94-96)、混合淋巴细胞靶标培养测定法(参见例如Palladino等人,(1987),Cancer Res.[癌症研究]47:5074-5079)以及可用于测量体外细胞因子释放的ELISPOT测定法(参见例如Scheibenbogen等人,(1997),Int.J.Cancer[国际癌症杂志]71:932-936)。

[0250] 相对于阴性对照或作为单一药剂施用的IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)或抗PD-1抗体分子引起的免疫应答,通过IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合诱导或增强的免疫应答被增强或增加至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、或12倍,如通过本领域的任何已知方法所测定。在某些实施例中,相对于阴性对照诱导的免疫应答,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合诱导的免疫应答增强至少0.5倍至2倍、至少2倍至5倍、至少5倍至10倍、至少10倍至50倍、至少50倍至100倍、至少100倍至200倍、至少200倍至300倍、至少300倍至400倍、或至少400倍至500倍,如通过本领域的任何已知方法所测定。在一些实施例中,用于评估免疫应答的测定法测量抗体产生、细胞因子产生或细胞毒性的水平。在一些实施例中,用于测量免疫应答的测定法是确定抗体或细胞因子水平的酶联免疫吸附测定法(ELISA)、确定细胞因子释放的ELISPOT测定法、或确定细胞毒性的[^{51}Cr]释放测定法。

[0251] 在具体实施例中,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合增加了葡萄球菌肠毒素B(SEB)活化的全血上的IL-2表达。例如,与IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)、抗PD-1抗体分子或同种型对照(例如,IgG4)单独使用时IL-2的表达相比,IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子使IL-2的表达增加至少约2倍、约3倍、约4倍或约5倍。

[0252] 在一个实施例中,相对于与阴性对照或作为单一药剂的IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)或抗PD-1抗体分子接触时癌细胞的增殖,与IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)和抗PD-1抗体分子的组合接触的癌细胞的增殖或活力被抑制或减少至少约2倍、优选地至少约2.5倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约7倍、或至少约10倍,如使用本领域已知的测定法(例如,使用CSFE、BrdU或放射性胸苷掺入的细胞增殖测定法)所测量。替代性地,可以通过测量乳酸脱氢酶(LDH)(乳酸脱氢酶是细胞溶解时释放的稳定的胞质酶)的测定法,或通过细胞溶解时[^{5}1Cr]的释放来测量细胞活力。在另一个实施例中,相对于与阴性对照或作为单一药剂的IL-15/IL-15Rα复合物(例如,如本文所披露的)

或抗PD-1抗体分子接触的癌细胞，与IL-15/IL-15Rα复合物和抗PD-1抗体分子的组合接触的癌细胞的增殖被抑制或减少至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、或至少95％，如使用本领域已知的测定法(例如，使用CSFE、BrdU或放射性胸苷掺入的细胞增殖测定法)所测量。

[0253] 可以进行这些测定的癌细胞系是本领域技术人员已知的。还可以对原代细胞(例如，组织外植体)进行坏死、凋亡和增殖测定。

[0254] 本披露的一个或多个实施例的细节陈述于上文所附的说明书中。此外，应当理解的是，每个实施例可以与一个或多个其他实施例组合，直到达到此类组合与实施例的描述相一致的程度。还应理解，以上提供的实施例应理解为包括所有实施例，包括由实施例的组合产生的此类实施例。现在描述优选方法和材料，但类似或等效于本文所述的任何方法和材料也可以用于本披露的实践或测试。根据说明书并且根据权利要求书，本披露的其他特征、目标和优点将是清楚的。

[0255] 进行本发明的模式

[0256] 提供以下实例以便更充分地说明本披露的优选实施例。本领域普通技术人员将认识到可以在不改变本披露的精神或范围的情况下进行多种修改和变化。这样的修改和变化涵盖在本披露的范围内。这些实例决不应被解释为限制如由所附权利要求书限定的披露的主题的范围。

[0257] 实例1

[0258] 这项研究的目的是在三种不同配制品在2℃-8℃长期储存的头对头比较(head to head comparison)中评估包含异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(其中IL-15含有SEQ ID NO:2以及IL-15Rα含有SEQ ID NO:5)的液体药物组合物的稳定性。另外，评估了在应力(40℃)和加速(25℃)条件下的稳定性，以及将冻融和摇动应力应用至填充于1.2mL小瓶中的组合物。

[0259] 材料和设备

[0260] 在pH 6.5的5mM组氨酸中提供浓度为10mg/mL的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(分别含有SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:5)。在此研究过程中，总共评估了3种配制品，如表2所示。

[0261] 表2目标组合物

[0262]

配制品ID	复合物浓度(mg/mL)	pH	缓冲剂	缓冲剂浓度(mM)	稳定剂	稳定剂浓度(mM)	表面活性剂	表面活性剂浓度
F1	1	5.5	乙酸钠	20	蔗糖	260	聚山梨酯20	0.04%
F2	1	5.5	组氨酸	20	蔗糖	260	聚山梨酯20	0.04%
F3	1	5.0	乙酸钠	20	蔗糖	260	泊洛沙姆188	0.2%

[0263] 异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的制备

[0264] 将5mM组氨酸(pH 6.5)中的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物在30℃±5℃的水浴

中解冻，直至完全解冻。

[0265] 为了获得基于乙酸盐的配制品，对异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物进行了缓冲剂交换：使用储备溶液E6(20mM乙酸盐缓冲剂，pH 5.0)将复合物以1mg/mL的浓度稀释至120ml，然后分成总计8个旋转柱(MWCO 10kDa)，每个15ml。将旋转柱在10℃以4500rpm离心10分钟。除去滤液，将保留物灌装至15ml，并重悬，并且重复该过程，总共进行6个缓冲剂交换循环。在离心、滤液去除、重新填充和再悬浮的最后循环之后，开始浓缩步骤。将旋转柱以4500rpm离心10分钟。每次离心后，将去除的体积替换为来自其他旋转柱的蛋白质溶液，从而将旋转柱的数量从8个柱减少到1个柱，达到浓缩药物物质的目标体积。浓缩复合物后，将浓缩的材料转移至Nalgene瓶中，并通过Nanodrop确定浓度。用它们各自的缓冲剂将浓缩溶液稀释至10±0.5mg/mL的浓度，以简化复配过程中的处理。

[0266] 复配和过滤

[0267] 通过添加适当的储备溶液来复配基于组氨酸的配制品，以获得表2中详述的最终组合物。直接在最小容量为60ml的Nalgene瓶中进行复配。适当地，针对不同的配制品，添加了以下量的储备溶液：

[0268] $$V_{复合物,乙酸盐} = \frac{55\ ml * 1\ mg/ml}{10\ mg/ml} = 5.5\ ml$$

[0269] $$V_{组氨酸中的复合物} = \frac{55\ ml * 1\ mg/ml}{10.95\ mg/ml} = 5.02\ ml$$

[0270] $$V_{蔗糖} = \frac{55\ ml * 260\ mM}{2000\ mM} = 7.15\ ml$$

[0271] $$V_{PS20} = \frac{55\ ml * 0.04\ \%}{2\ \%} = 1.1\ ml$$

[0272] $$V_{泊洛沙姆} = \frac{55\ ml * 0.2\ \%}{5\ \%} = 2.2\ ml$$

[0273] $$V_{缓冲剂(乙酸盐)} = \frac{(55 - 5.5)\ ml * 20\ mM}{500\ mM} = 1.98\ ml$$

[0274] $$V_{缓冲剂(组氨酸)} = \frac{55\ ml * 20\ mM - 5.02\ ml * 5\ mM}{500\ mM} = 2.15\ ml$$

[0275] 然后将体积调节至50ml，并使用1M NaOH(乙酸盐缓冲剂)和1M HCl(组氨酸缓冲剂)确定和调节pH。忽略密度变化。记录添加的体积，溶液最终用MilliQ水填充至55ml。在层流条件下，将配制品通过0.22μm PVDF过滤器进行无菌过滤，并等分于6R小瓶中，每个小瓶中装有1.2mL。将小瓶压接(crimped)，相应地打上标签，并根据下面描述的稳定性计划进行储存。在各个拉点(pullpoint)，将根据以下概述的分析计划对所有样品进行分析。

[0276] 稳定性研究与分析

[0277] 对样品进行了稳定性研究，其时间点和存储条件如表3所述，并按表4所详述进行了分析。

[0278] 表3异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的储存/应力条件、分析时间点

[0279]

时间点	T = 0	T = 6W	T = 3M	T = 6M	T = 12M
2°C-8°C		X	X	X	x
25°C	X	X	X	-	-
40°C		X	-	-	-

[0280] 表4应用的测试方法、仪器、样品制备

[0281]

测试值	仪器：	样品制备
pH	Metrohm 691	不需要
浑浊度	Hach Lange 2100AN	不需要
通过 PAMAS 评估的亚可见颗粒	PAMAS SVSS	不需要
通过 SEC 评估的纯度	合适的 HPLC 系统，例如 Agilent LC1100/1200	用流动相稀释至 0.5 mg/mL
通过 CE-SDS 评估的纯度	CE 系统 Beckman PA800 Plus 或增强型	用水稀释至 0.75 mg/mL
通过 RP-HPLC 评估的纯度	合适的 HPLC 系统，例如 Agilent LC1100/1200	用水稀释至 0.5 mg/mL
通过 AEX 获得的电荷变体	合适的 HPLC 系统，例如 Agilent LC1100/1200	在水和去糖基化酶中稀释至 0.8 mg/mL

[0282] 通过SEC评估的纯度

[0283] 该测试基于具有UV检测的尺寸排阻色谱(SEC)。在天然条件下，通过SEC在合适的柱上分离不同大小的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物变体(例如，较低和较高分子量变体和相关物质)。确定主峰的纯度以及聚集体和片段的数量，以每个色谱图中针对样品获得的总面积的百分比表示。

[0284] 通过CE-SDS评估的纯度

[0285] 毛细管电泳SDS(CE-SDS)通过在分离缓冲剂中添加亲水性筛分聚合物，根据电场中蛋白质的大小分离蛋白质。样品在毛细管的入口侧注入，并在从入口到检测器的毛细管的较长部分进行分离。通过UV进行检测。

[0286] 通过RP-HPLC评估的纯度

[0287] 通过反相HPLC(RP-HPLC)分离异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合产物相关物质。通过应用不同的有机溶剂浓度，可以根据疏水性，将蛋白质单独从疏水性基质洗脱出来。在C8色谱柱上使用乙腈含量增加的梯度进行分离。通过在215nm的波长处的UV吸收来监测蛋白质

洗脱。

[0288] 通过AEX获得的电荷变体

[0289] 阴离子交换色谱法(AEX)用于在通过酶消化除去N和O连接的聚糖后分离基于电荷的异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物的变体。在色谱分离过程中，总体上带负电荷的蛋白质被固定相上带正电荷的官能团保留。通过应用盐浓度增加的梯度，弱结合的变体(带正电荷)首先被洗脱，然后是越来越多的带负电荷的变体。通过在210nm处的UV吸收来监测洗脱。

[0290] 结果

[0291] 所有配制品均显示出良好的稳定性，并且在测试的配制品之间，对于总聚集体(参见图1)、通过SEC评估的总降解产物(参见图2)、对于电荷变体的变化(参见图3)、以及通过CE-SDS评估的纯度(参见图4)均未观察到显著差异。然而，当经由RP-HPL℃分析时，F3与F2和F1相反，在加速和应力温度下表现出优异的稳定性(见图5)。对于在2℃-8℃储存的F1和F2，观察到>2μm的亚可见颗粒以及>10μm的颗粒显著增加，而对于F3，未观察到亚可见颗粒(参见图6)。这些发现得到F1和F2浊度增加的支持，如图7所示。

[0292] 机械应力测试

[0293] 通过冷冻/解冻(F/T)应力和摇动过夜对F2和F3进行机械应力测试。出于测试目的，将玻璃小瓶填充有1.2mL，并通过在-80℃的冰箱中反复将小瓶进行深度冷冻，然后在室温下解冻，进行总共5次冻融循环。为了摇动，将小瓶水平放置在摇床上，并在正常光线下摇动过夜。通过SEC分析所有样品。图8中示出了结果。两种配制品均显示出良好的机械稳定性，即F/T或摇动应力后聚集体或片段没有变化。

[0294] 实例2

[0295] 这项研究的目的是在完全析因设计中评估包含异源二聚体IL-15/IL-15Rα复合物(其中IL-15含有SEQ ID NO:2以及IL-15Rα含有SEQ ID NO:5)的液体药物组合物的稳定性，以确定稳定性的影响因素。测试了12种不同的配制品(参见表5)。

[0296] 表5目标组合物

[0297]

ID	hetIL-15 浓度(mg/mL)	pH	缓冲剂	缓冲剂浓度(mM)	稳定剂	稳定剂浓度(mM)	表面活性剂	表面活性剂浓度
F1	1	4.7	乙酸盐	20	蔗糖	260	泊洛沙姆 188	0.2%
F2	1	4.7	乙酸盐	20	蔗糖	260	聚山梨酯 20	0.04%
F3	1	5	乙酸盐	20	蔗糖	260	泊洛沙姆 188	0.2%
F4	1	5	乙酸盐	20	蔗糖	260	聚山梨酯 20	0.04%
F5	1	5.5	乙酸盐	20	蔗糖	260	泊洛沙姆 188	0.2%
F6	1	5.5	乙酸盐	20	蔗糖	260	聚山梨酯 20	0.04%
F7	1	4.7	组氨酸	20	蔗糖	260	泊洛沙姆 188	0.2%

[0298]

F8	1	4.7	组氨酸	20	蔗糖	260	聚山梨酯20	0.04%
F9	1	5	组氨酸	20	蔗糖	260	泊洛沙姆188	0.2%
F10	1	5	组氨酸	20	蔗糖	260	聚山梨酯20	0.04%
F11	1	5.5	组氨酸	20	蔗糖	260	泊洛沙姆188	0.2%
F12	1	5.5	组氨酸	20	蔗糖	260	聚山梨酯20	0.04%

[0299] 对于上述所有配制品，评估了纯度(通过RP-HPLC)和颗粒形成。通过RP-HPLC观察到所有含有聚山梨酯20的配制品在40℃的应力条件下储存的纯度均降低。相反，对于含有泊洛沙姆188的配制品，在40℃下，通过RP-HPLC仅观察到纯度的少量降低。对于含有乙酸盐的配制品，该观察不太明显，而对于含有组氨酸的配制品，该观察更明显(参见图10)。对于包含聚山梨酯20的组合物，在表面活性剂的存在下，在2℃-8℃下储存的尺寸＞2μm(参见图9A)和＞10μm(参见图9B)的亚可见颗粒(SVP)的形成更为明显，而在泊洛沙姆188的存在下，观察到亚可见颗粒的形成明显减少。含组氨酸的配制品的颗粒增加不如含乙酸盐的配制品的颗粒增加明显(参见图9C、图9D和图9E)，但在两种情况下均保持在可接受的范围内。

序列表

<110> 诺华股份有限公司(NOVARTIS AG)

<120> 异源二聚体人白介素-15(HETIL-15)的药物组合物和药物产品

<130> PAT058681-WO-PCT

<140>

<141>

<150> 63/013,801

<151> 2020-04-22

<160> 17

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 162

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr
1 5 10 15
Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His
20 25 30
Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys Thr Glu Ala
35 40 45
Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
50 55 60
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
65 70 75 80
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
85 90 95
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
100 105 110
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
115 120 125
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
130 135 140
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
145 150 155 160
Thr Ser

<210> 2

<211> 114

<212> PRT
<213> 智人
<400> 2

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

<210> 3
<211> 267
<212> PRT
<213> 智人
<400> 3

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala
1 5 10 15
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr
20 25 30
Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser
35 40 45
Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys
50 55 60
Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
65 70 75 80
Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp
85 90 95
Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr
100 105 110
Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu
115 120 125

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

<210> 4
<211> 200
<212> PRT
<213> 智人
<400> 4

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala
1 5 10 15
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr
20 25 30
Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser
35 40 45
Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys
50 55 60
Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
65 70 75 80
Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp
85 90 95
Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr
100 105 110
Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu
115 120 125

Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala
130 135 140
Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr
145 150 155 160
Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser
165 170 175
Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln
180 185 190
Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly
195 200

<210> 5
<211> 170
<212> PRT
<213> 智人
<400> 5

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val
1 5 10 15
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly
20 25 30
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn
35 40 45
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile
50 55 60
Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val
65 70 75 80
Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly
85 90 95
Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr
100 105 110
Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro
115 120 125
Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr
130 135 140
Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser
145 150 155 160
His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly
165 170

<210> 6
<211> 8

<212> PRT
<213> 智人
<400> 6
Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr
1 5
<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<400> 7
Pro Gln Gly His Ser Asp Thr
1 5
<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 8
Pro Gln Gly His Ser Asp
1 5
<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人
<400> 9
Pro Gln Gly His Ser
1 5
<210> 10
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人
<400> 10
Pro Gln Gly His
1
<210> 11
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人
<400> 11
Pro Gln Gly

1

<210> 12

<211> 175

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

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

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

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

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

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

Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly
85 90 95

Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr
100 105 110

Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro
115 120 125

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

Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser
145 150 155 160

His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr
165 170 175

<210> 13

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln Pro Pro Gly Val Tyr
1 5 10 15

Pro Gln Gly

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人
<400> 14
Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val
1 5 10 15
Lys
<210> 15
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人
<400> 15
Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val
1 5 10 15
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser
20 25 30
<210> 16
<211> 436
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成
多肽
<400> 16
Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala
1 5 10 15
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr
20 25 30
Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser
35 40 45
Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys
50 55 60
Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
65 70 75 80
Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp
85 90 95
Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr
100 105 110
Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu
115 120 125
Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala

130 135 140

Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr
145 150 155 160
Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser
165 170 175
Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln
180 185 190
Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Pro Lys Ser
195 200 205
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
210 215 220
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
260 265 270
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
275 280 285
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
290 295 300
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
305 310 315 320
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
340 345 350
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
355 360 365
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
370 375 380
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
385 390 395 400
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
405 410 415
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
420 425 430
Ser Pro Gly Lys
435

<210> 17
<211> 431
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成
多肽
<400> 17

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

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

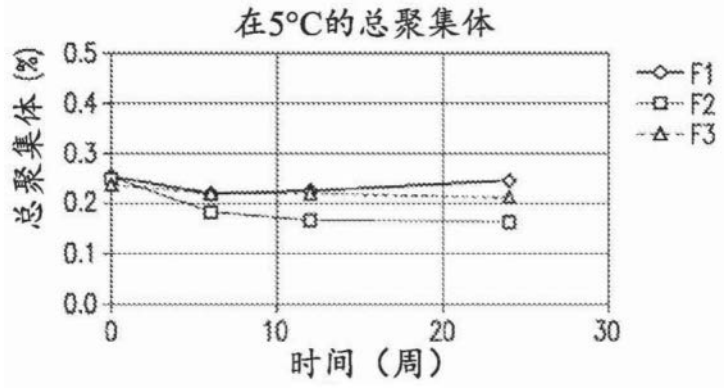

在5°C的总聚集体
总聚集体 (%)
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0
10
20
30
时间（周）
F1
F2
F3

图1A

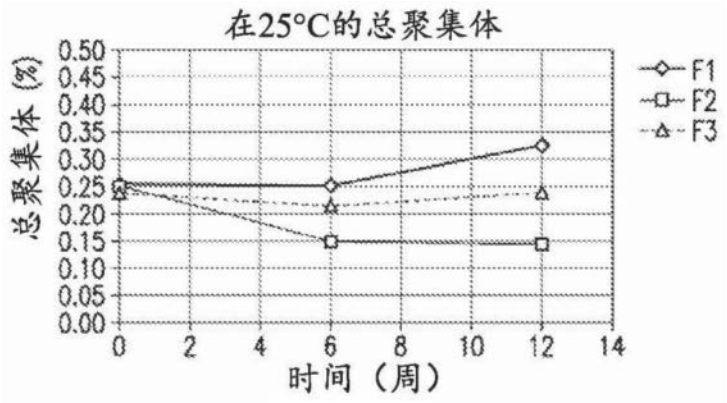

在25°C的总聚集体
总聚集体 (%)
0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
0
2
4
6
8
10
12
14
时间（周）
F1
F2
F3

图1B

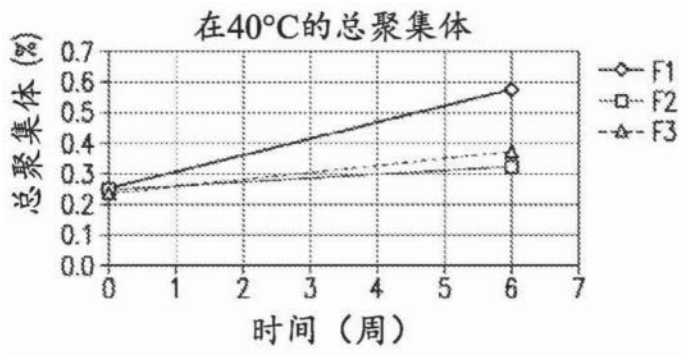

在40°C的总聚集体
总聚集体 (%)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0
1
2
3
4
5
6
7
时间（周）
F1
F2
F3

图1C

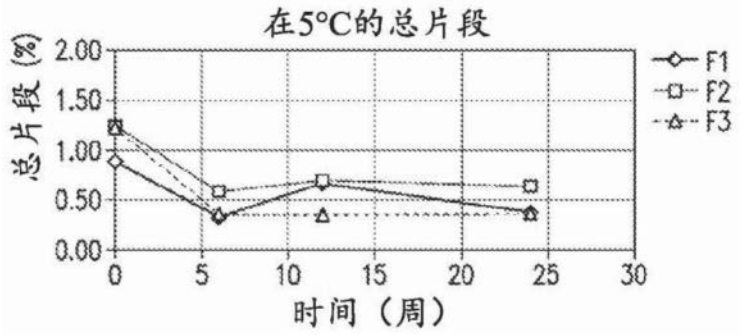

在5°C的总片段
总片段 (%)
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图2A

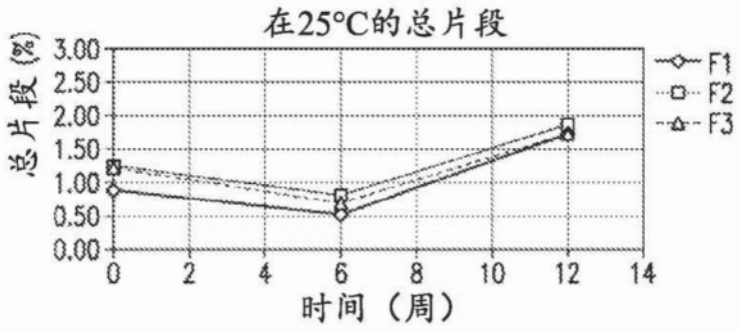

在25°C的总片段
总片段 (%)
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
0
2
4
6
8
10
12
14
时间（周）
F1
F2
F3

图2B

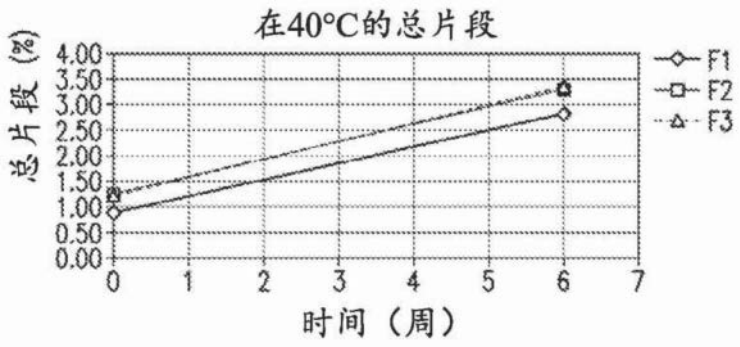

在40°C的总片段
总片段 (%)
4.00
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
时间（周）
F1
F2
F3

图2C

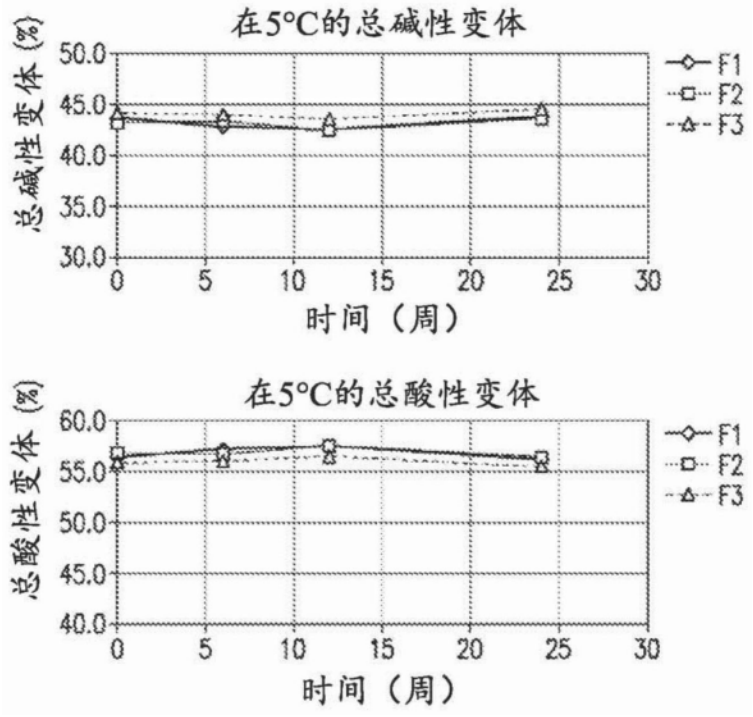

在5°C的总碱性变体
总碱性变体 (%)
50.0
45.0
40.0
35.0
30.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3
在5°C的总酸性变体
总酸性变体 (%)
60.0
55.0
50.0
45.0
40.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图3A

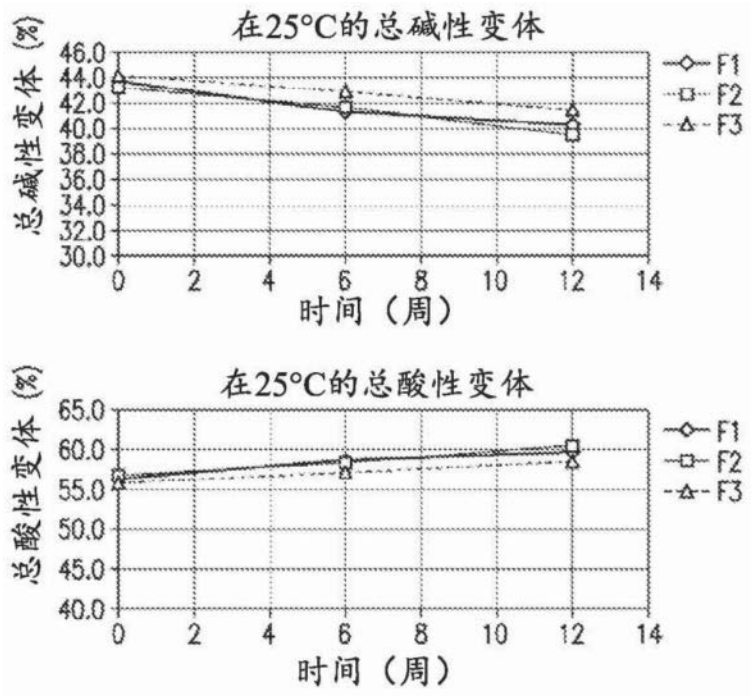

在25°C的总碱性变体
总碱性变体 (%)
46.0
44.0
42.0
40.0
38.0
36.0
34.0
32.0
30.0
0
2
4
6
8
10
12
14
时间（周）
F1
F2
F3
在25°C的总酸性变体
总酸性变体 (%)
65.0
60.0
55.0
50.0
45.0
40.0
0
2
4
6
8
10
12
14
时间（周）
F1
F2
F3

图3B

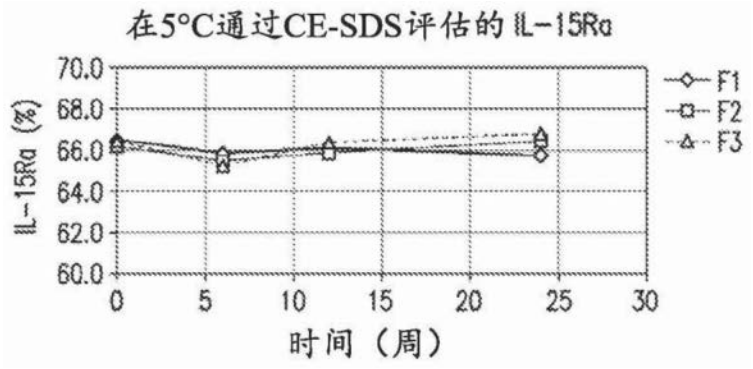

在5°C通过CE-SDS评估的IL-15Rα
IL-15Rα (%)
70.0
68.0
66.0
64.0
62.0
60.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图4A

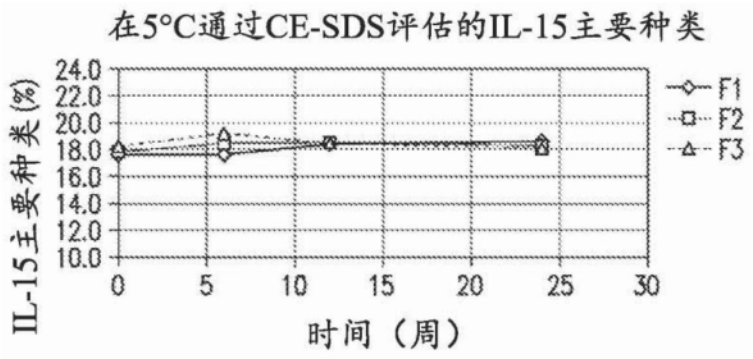

在5°C通过CE-SDS评估的IL-15主要种类
IL-15主要种类(%)
24.0
22.0
20.0
18.0
16.0
14.0
12.0
10.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图4B

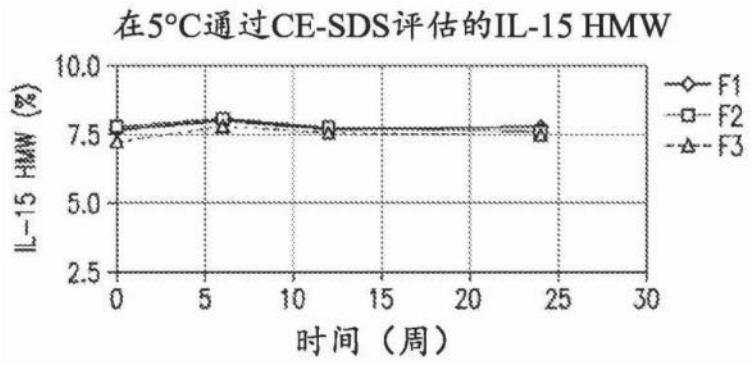

在5°C通过CE-SDS评估的IL-15 HMW
IL-15 HMW (%)
10.0
7.5
5.0
2.5
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图4C

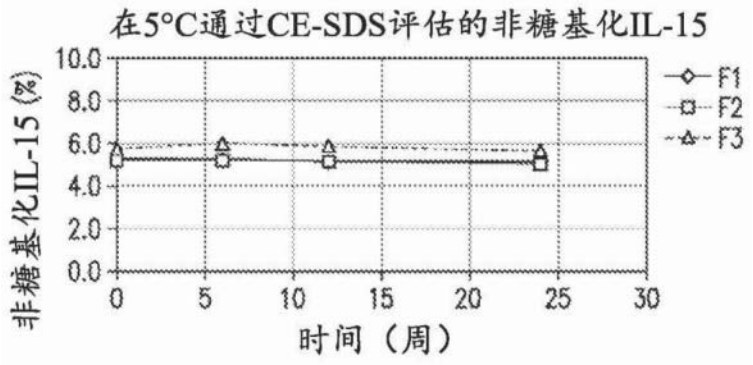

在5°C通过CE-SDS评估的非糖基化IL-15
非糖基化IL-15 (%)
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图4D

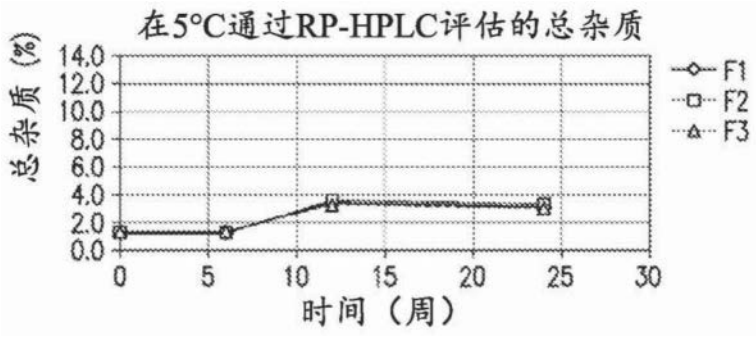

在5°C通过RP-HPLC评估的总杂质
总杂质 (%)
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图5A

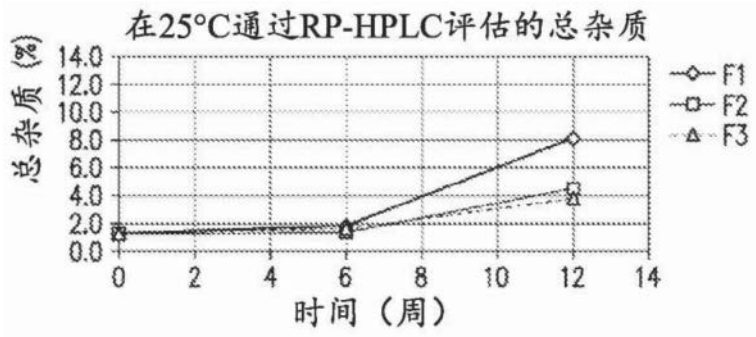

在25°C通过RP-HPLC评估的总杂质
总杂质 (%)
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
0
2
4
6
8
10
12
14
时间（周）
F1
F2
F3

图5B

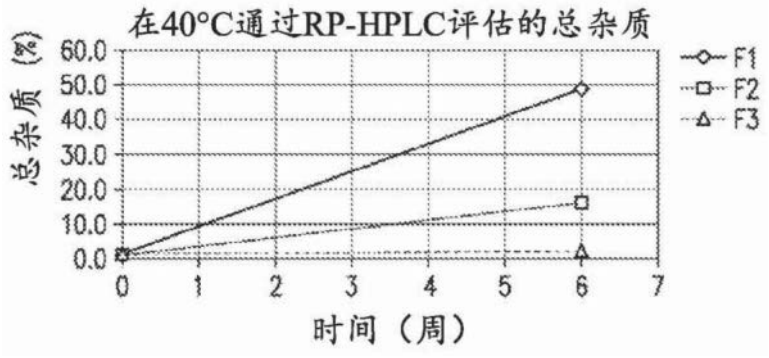

在40°C通过RP-HPLC评估的总杂质
总杂质（%）
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
0
1
2
3
4
5
6
7
时间（周）
F1
F2
F3

图5C

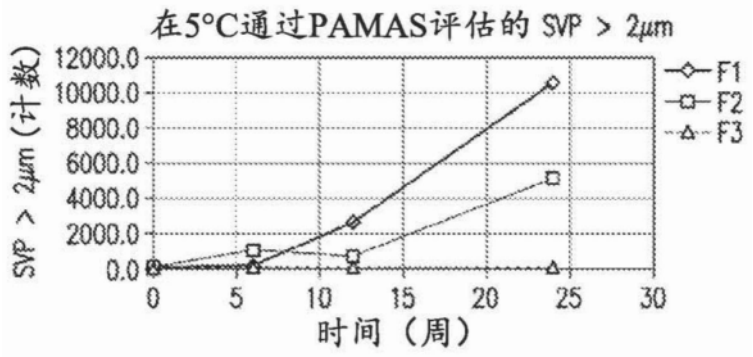

在5°C通过PAMAS评估的 SVP > 2μm
SVP > 2μm（计数）
12000.0
10000.0
8000.0
6000.0
4000.0
2000.0
0.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图6A

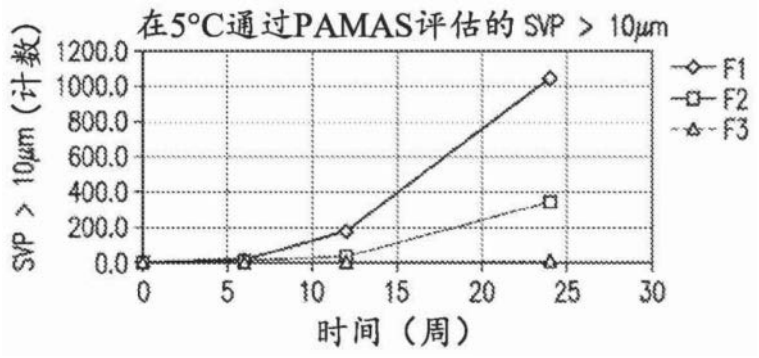

在5°C通过PAMAS评估的 SVP > 10μm
SVP > 10μm（计数）
1200.0
1000.0
800.0
600.0
400.0
200.0
0.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图6B

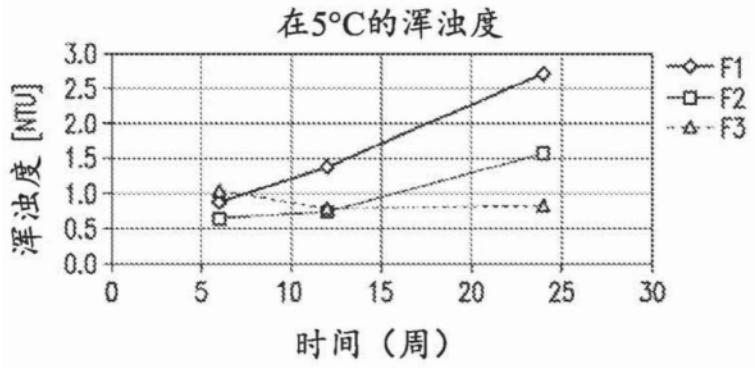

在5°C的浑浊度
浑浊度 [NTU]
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
5
10
15
20
25
30
时间（周）
F1
F2
F3

图7

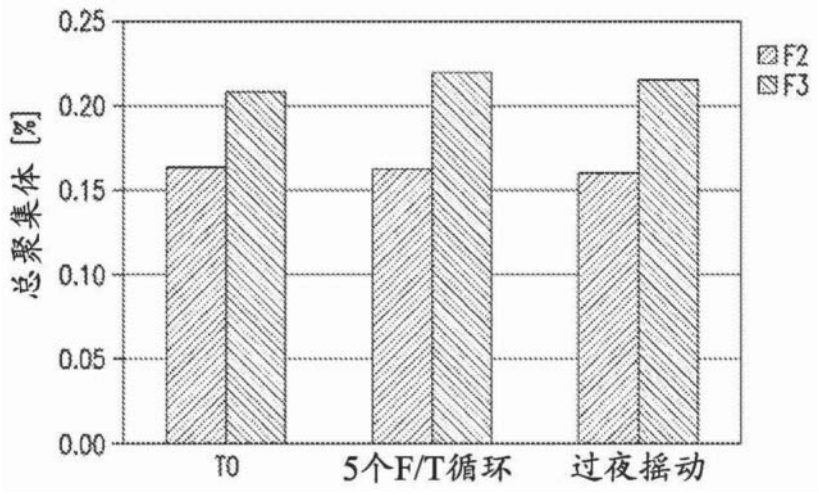

总聚集体 [%]
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
T0
5个F/T循环
过夜摇动
F2
F3

图8A

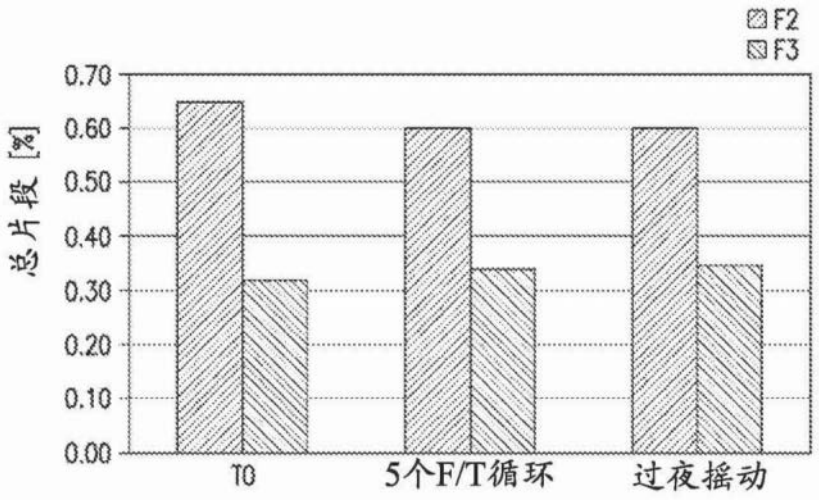

总片段 [%]
0.70
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00
T0
5个F/T循环
过夜摇动
F2
F3

图8B

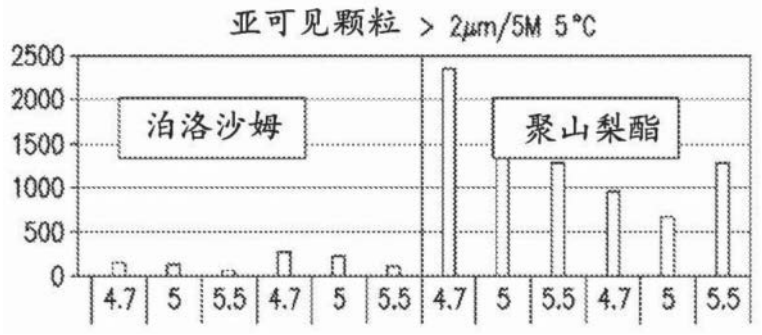

亚可见颗粒 > 2μm/5M 5°C
2500
2000
1500
1000
500
0
泊洛沙姆
聚山梨酯
4.7
5
5.5
4.7
5
5.5
4.7
5
5.5
4.7
5
5.5

图9A

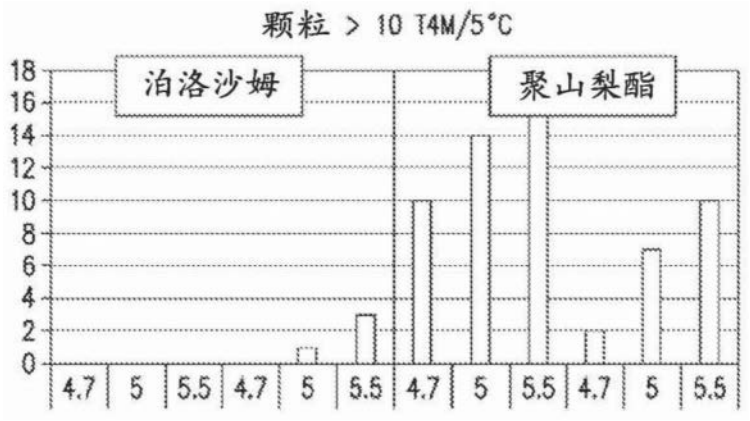

颗粒 > 10 T4M/5°C
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
泊洛沙姆
聚山梨酯
4.7
5
5.5
4.7
5
5.5
4.7
5
5.5
4.7
5
5.5

图9B

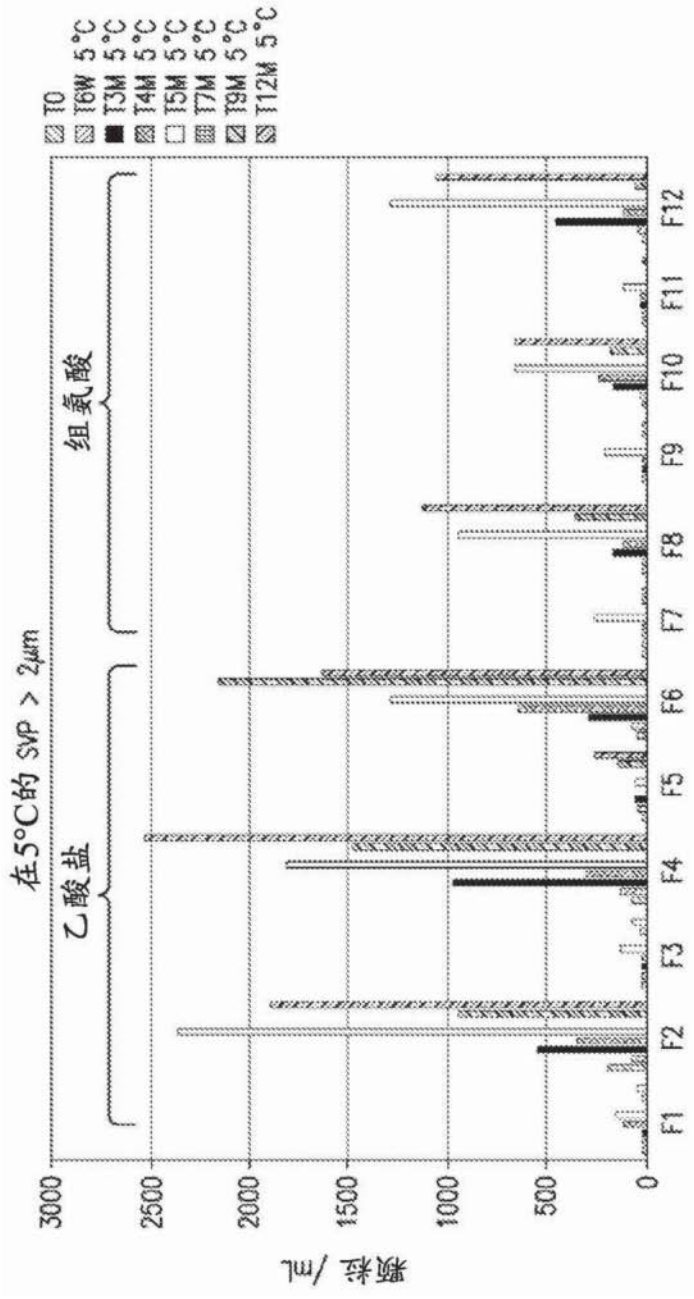

T0
T6W 5°C
T3M 5°C
T4M 5°C
T5M 5°C
T7M 5°C
T9M 5°C
T12M 5°C
在5°C的 SVP > 2μm
乙酸盐
组氨酸
颗粒 /mL
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
F1
F2
F3
F4
F5
F6
F7
F8
F9
F10
F11
F12

图9C

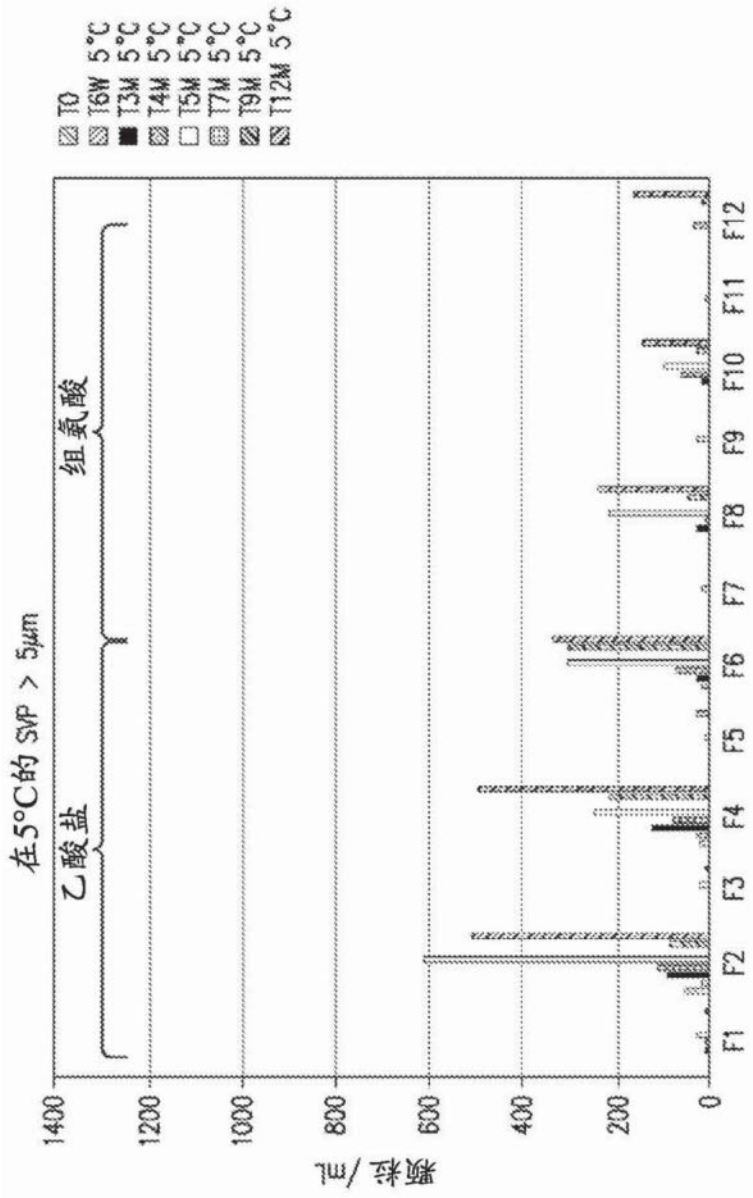

T0
T6W 5°C
T3M 5°C
T4M 5°C
T5M 5°C
T7M 5°C
T9M 5°C
T12M 5°C
在5°C的 SVP > 5μm
乙酸盐
组氨酸
颗粒 /mL
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
F1
F2
F3
F4
F5
F6
F7
F8
F9
F10
F11
F12

图9D

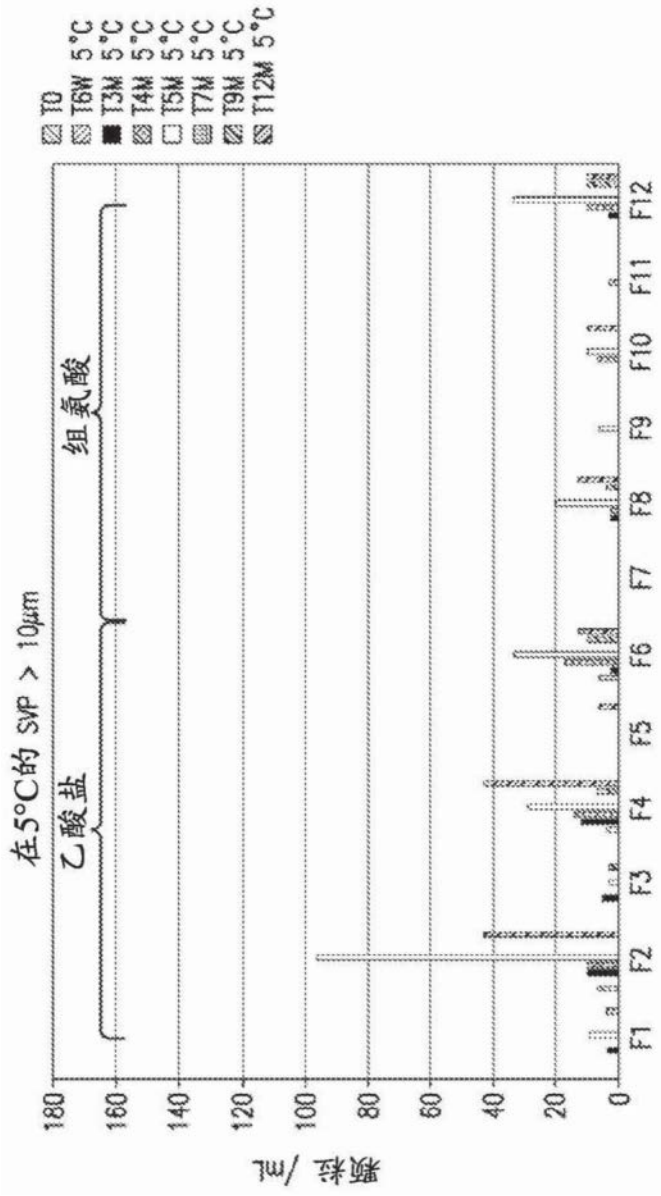

T0
T6W 5°C
T3M 5°C
T4M 5°C
T5M 5°C
T7M 5°C
T9M 5°C
T12M 5°C
在5°C的 SVP > 10μm
乙酸盐
组氨酸
颗粒 /mL
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
F1
F2
F3
F4
F5
F6
F7
F8
F9
F10
F11
F12

图9E

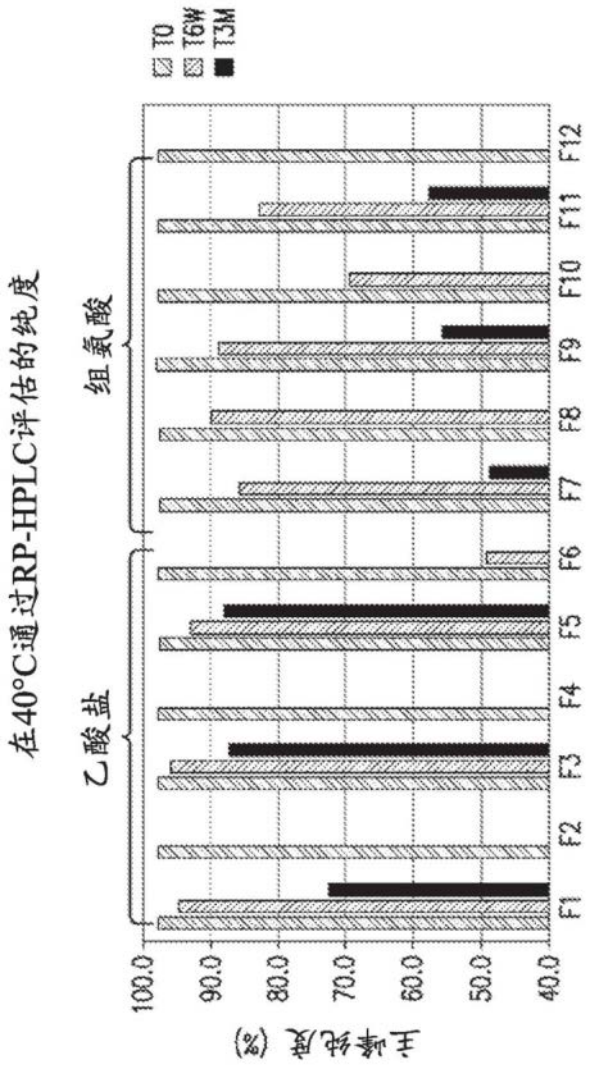

在40°C通过RP-HPLC评估的纯度
乙酸盐
组氨酸
T0
T6W
T3M
F1
F2
F3
F4
F5
F6
F7
F8
F9
F10
F11
F12
100.0
90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
主峰纯度 (%)

图10