



(21) 申請案號：109127784 (22) 申請日：中華民國 109 (2020) 年 08 月 14 日

(51) Int. Cl. : *A61K47/68 (2017.01)* *A61K38/20 (2006.01)*  
*A61P35/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2019/08/15 美國 62/887,400  
 2019/09/20 美國 62/903,187  
 2020/01/17 美國 62/962,668

(71) 申請人：美商欣燦克斯公司 (美國) SYNTHORX, INC. (US)  
 美國

(72) 發明人：普塔辛 杰羅德 PTACIN, JEROD (US)；卡法羅 卡羅琳娜 CAFFARO, CAROLINA E. (US)；米拉 馬可斯 MILLA, MARCOS (US)

(74) 代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：28 項 圖式數：27 共 482 頁

## (54) 名稱

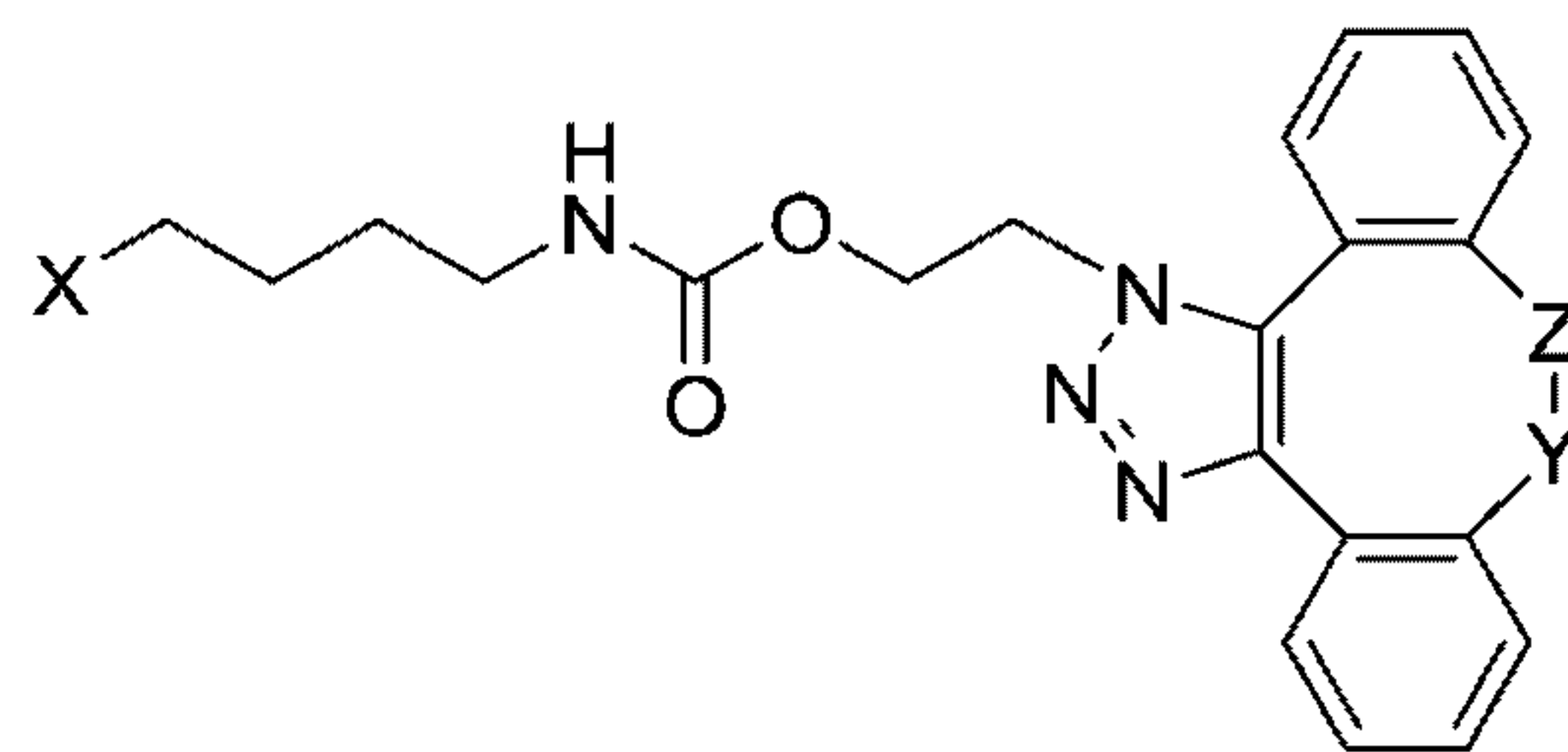
使用 IL-2 接合物之免疫腫瘤學組合療法

## (57) 摘要

文中揭示包括介白素(IL)接合物(例如，IL-2 接合物)與其他可用於治療一或多種適應症，例如治療增生性疾病之藥劑或方法組合之組成物、套組和方法。文中亦描述包括一或多個該等介白素接合物(例如，IL-2 接合物)之醫藥組成物和套組。

Disclosed herein are compositions, kits, and methods comprising interleukin (IL) conjugates (e.g., IL-2 conjugates) in combination with other agents or methods useful for the treatment of one or more indications, such as the treatment of proliferative diseases. Also described herein are pharmaceutical compositions and kits comprising one or more of the interleukin conjugates (e.g., IL-2 conjugates).

特徵化學式：



式(I)



202120128

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 使用IL-2接合物之免疫腫瘤學組合療法  
【英文發明名稱】 IMMUNO ONCOLOGY COMBINATION  
THERAPIES WITH IL-2 CONJUGATES

### 【中文】

文中揭示包括介白素(IL)接合物(例如, IL-2接合物)與其他可用於治療一或多種適應症, 例如治療增生性疾病之藥劑或方法組合之組成物、套組和方法。文中亦描述包括一或多個該等介白素接合物(例如, IL-2接合物)之醫藥組成物和套組。

### 【英文】

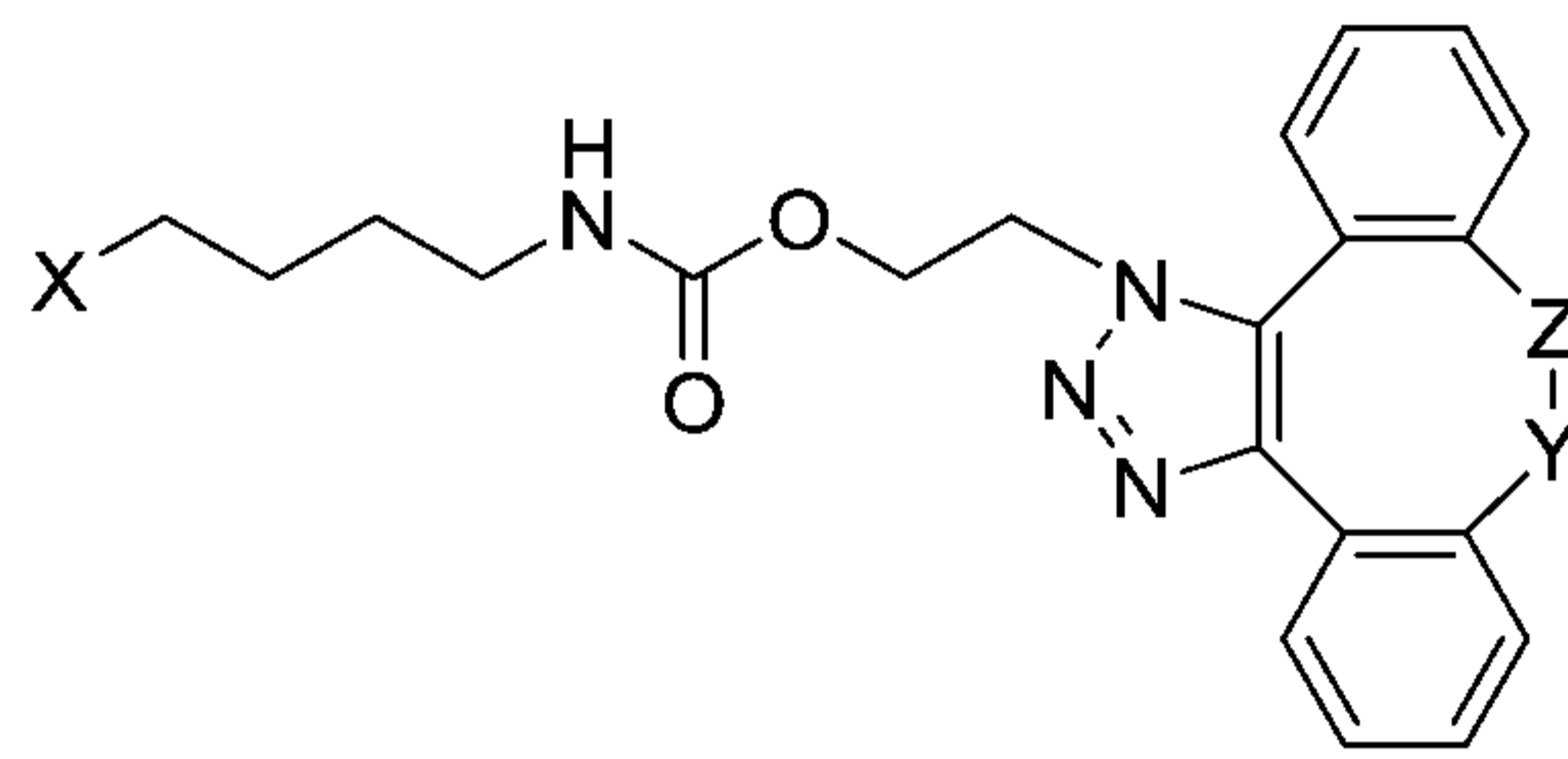
Disclosed herein are compositions, kits, and methods comprising interleukin (IL) conjugates (e.g., IL-2 conjugates) in combination with other agents or methods useful for the treatment of one or more indications, such as the treatment of proliferative diseases. Also described herein are pharmaceutical compositions and kits comprising one or more of the interleukin conjugates (e.g., IL-2 conjugates).

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



式(I)

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 使用IL-2接合物之免疫腫瘤學組合療法  
【英文發明名稱】 IMMUNO ONCOLOGY COMBINATION  
THERAPIES WITH IL-2 CONJUGATES

### 【技術領域】

相關申請案之交互參照

【0001】 本申請案係主張2019年8月15日申請的美國臨時申請案號62/887,400、2019年9月20日申請的美國臨時申請案號62/903,187及2020年1月17日申請的美國臨時申請案號62/962,668之優先權，其各自內容係以全文引用的方式併入本文中。

### 序列表

【0002】 本申請案係含有以ASCII格式電子提交的序列表且係以全文引用的方式併入本文中。該2020年8月12日所製作的ASCII副本名稱為2020-08-12\_01183-0073-00PCT\_seq\_listing.txt且大小為128,000個位元(byte)。

### 【先前技術】

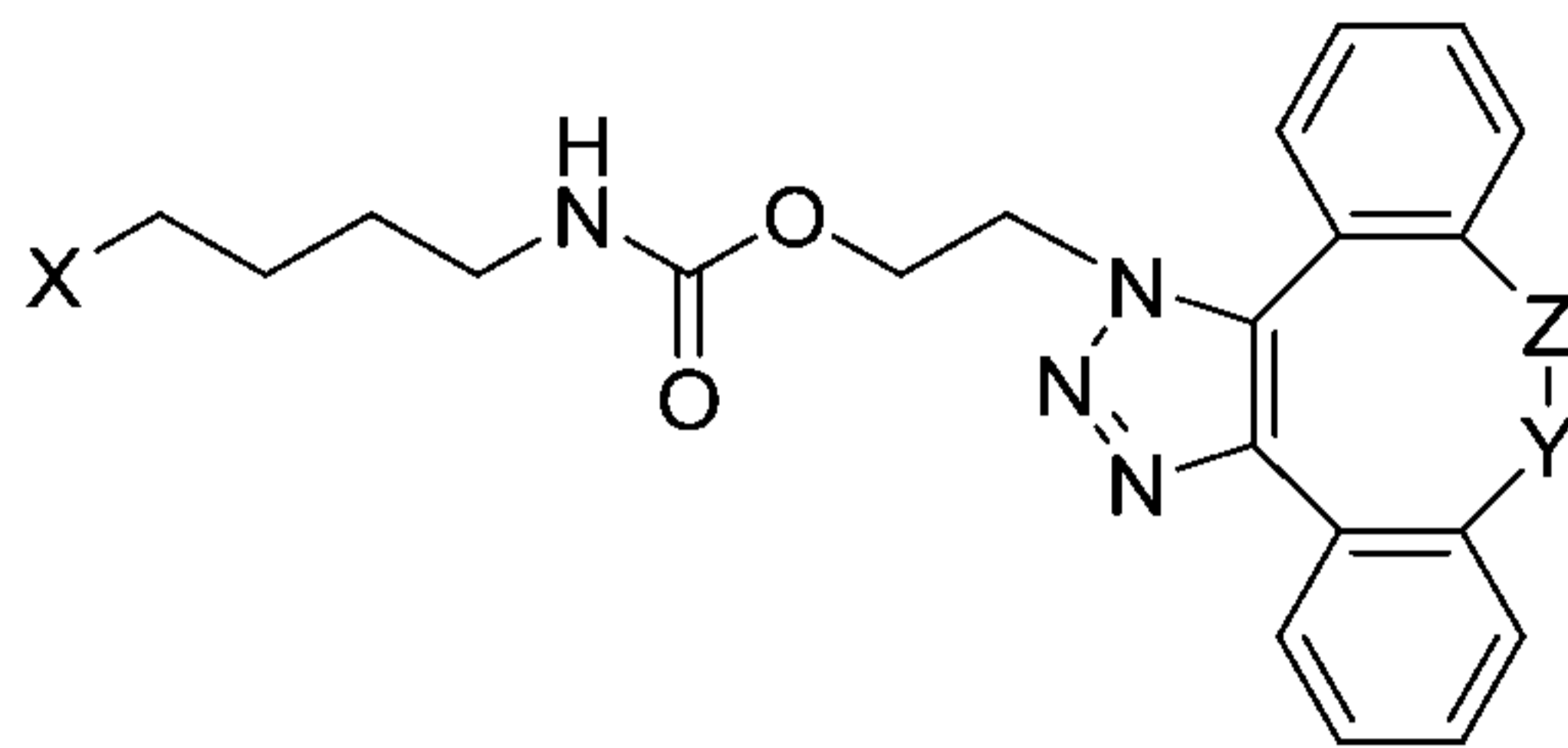
【0003】 不同的 T 細胞群族係調節免疫系統以維持免疫平衡及耐受性。例如，當細胞毒性 T 細胞靶定和摧毀受感染的細胞及/或癌細胞時，調節性 T(Treg)細胞係藉由防止病態性自我反應，來防止免疫系統不當的反應。在某些情況下，調節不同群族之 T 細胞係提供治療疾病或適應症之選擇。在某些情況下，在另外的試劑的存在下或組合治療之方法，此項為有利的。

【0004】 因此，在一方面，文中係提供治療一對象中癌症之方法，該方法係包括投予一對象 IL-2 接合物與一或多個免疫檢查點抑制劑之組合。

### 【發明內容】

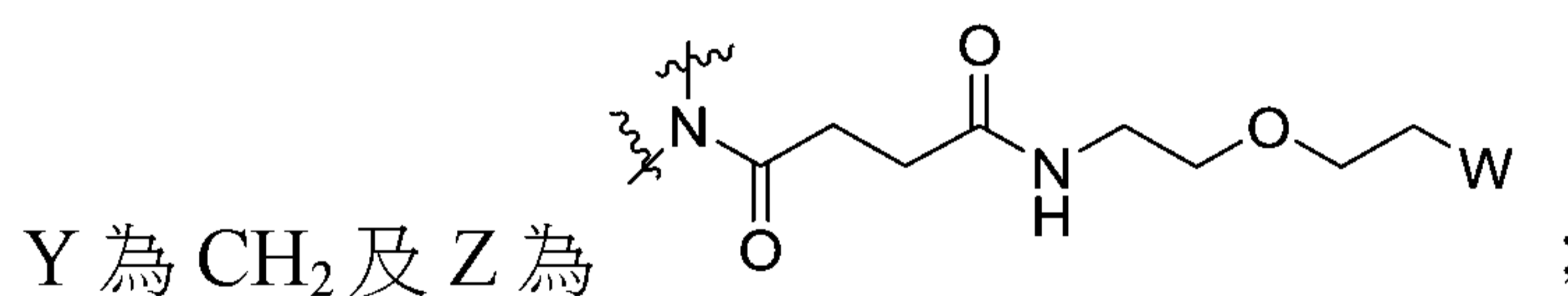
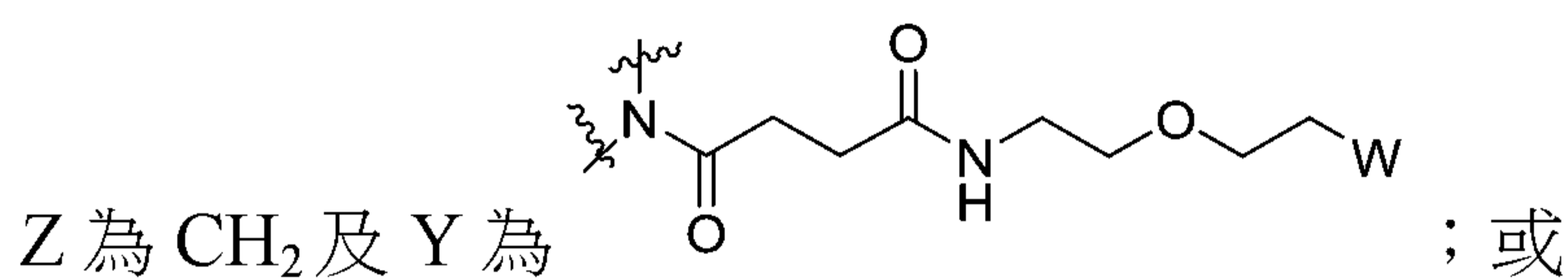
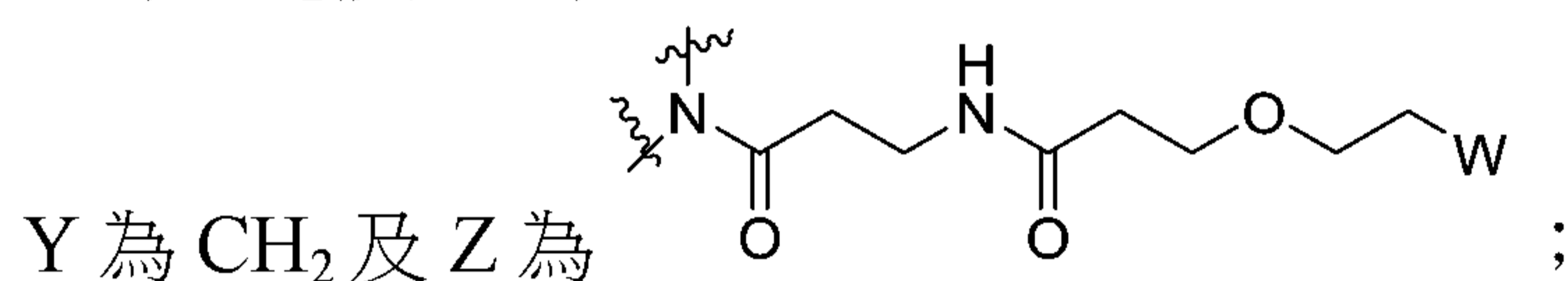
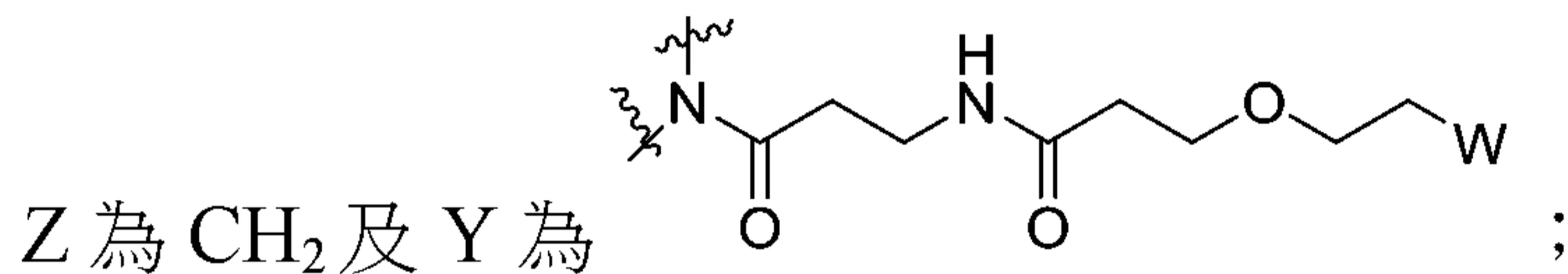
【0005】 在特定的具體實例中，文中所描述的為用於治療癌症的方法。包括下列具體實例。

【0006】 具體實例 A1 為於一有此需要的對象中治療癌症的方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個免疫檢查點抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中至少一個 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(I)之結構置換：



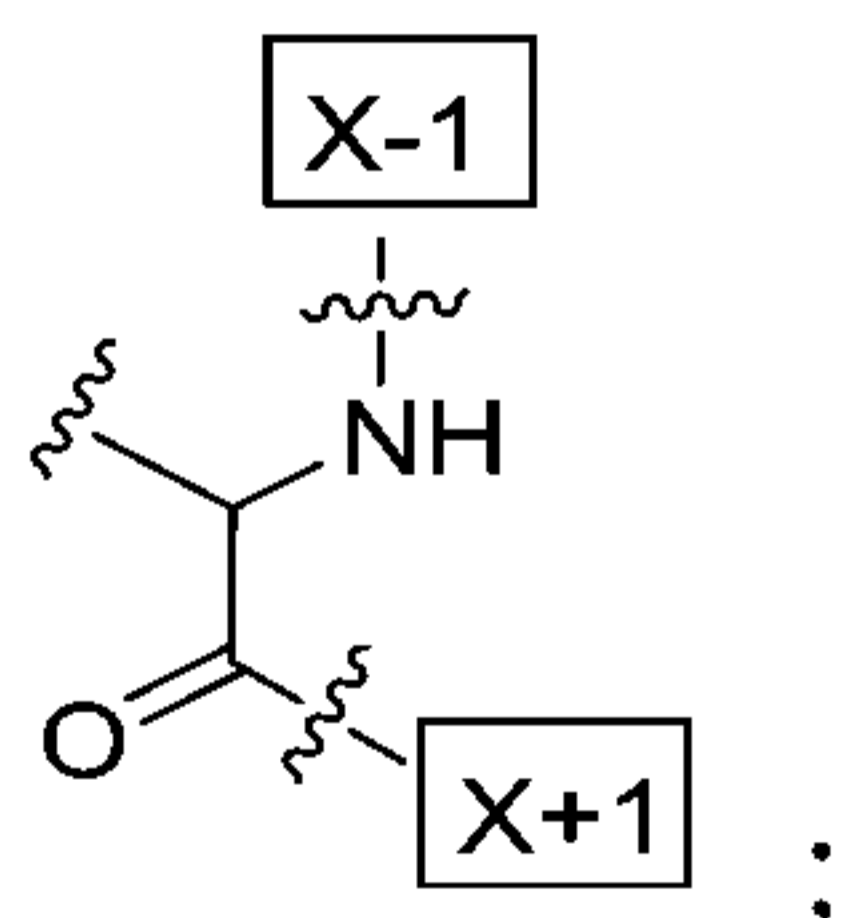
式(I)；

其中：



W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa 及 60 kDa；

X 具有下列結構：

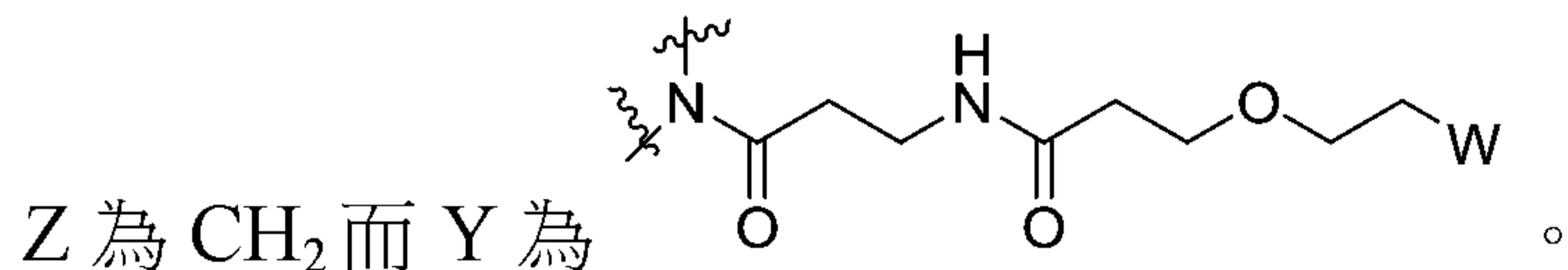


X-1 係指與前面胺基酸殘基連接的點；及

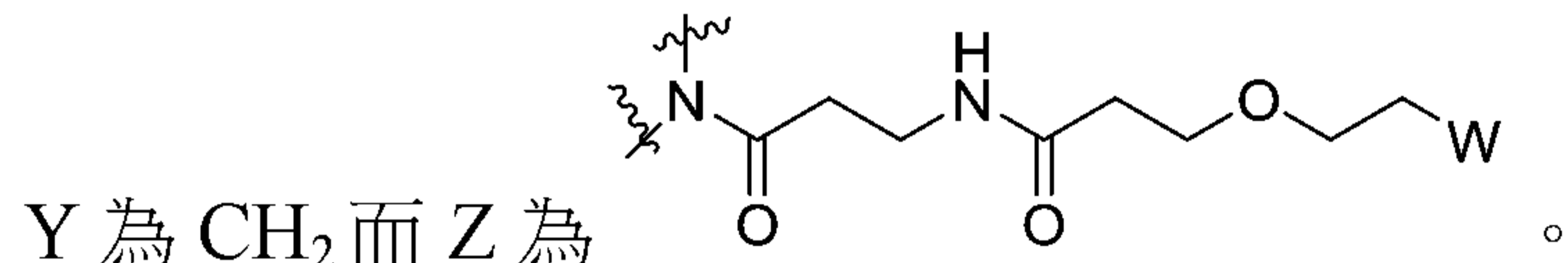
X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

其中 SEQ ID NO：3 中式(I)結構之位置係由下列選出：K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。

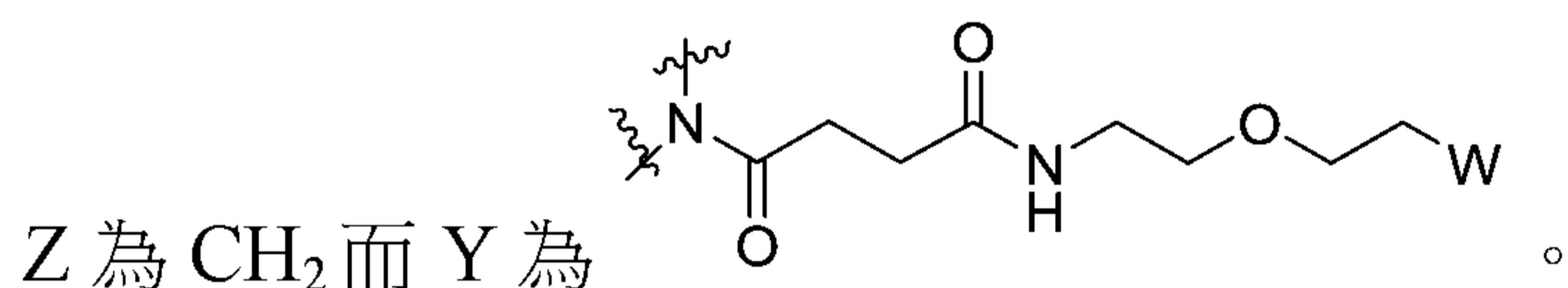
【0007】 具體實例 A2 為根據具體實例 A1 之方法，其中在 IL-2 接合物中



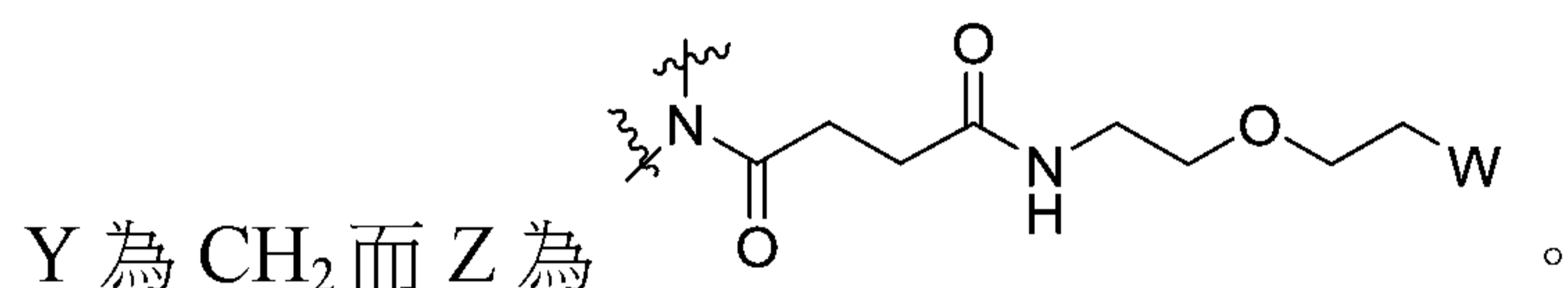
【0008】 具體實例 A3 為根據具體實例 A1 之方法，其中在 IL-2 接合物中



【0009】 具體實例 A4 為根據具體實例 A1 之方法，其中在 IL-2 接合物中



【0010】 具體實例 A5 為根據具體實例 A1 之方法，其中在 IL-2 接合物中

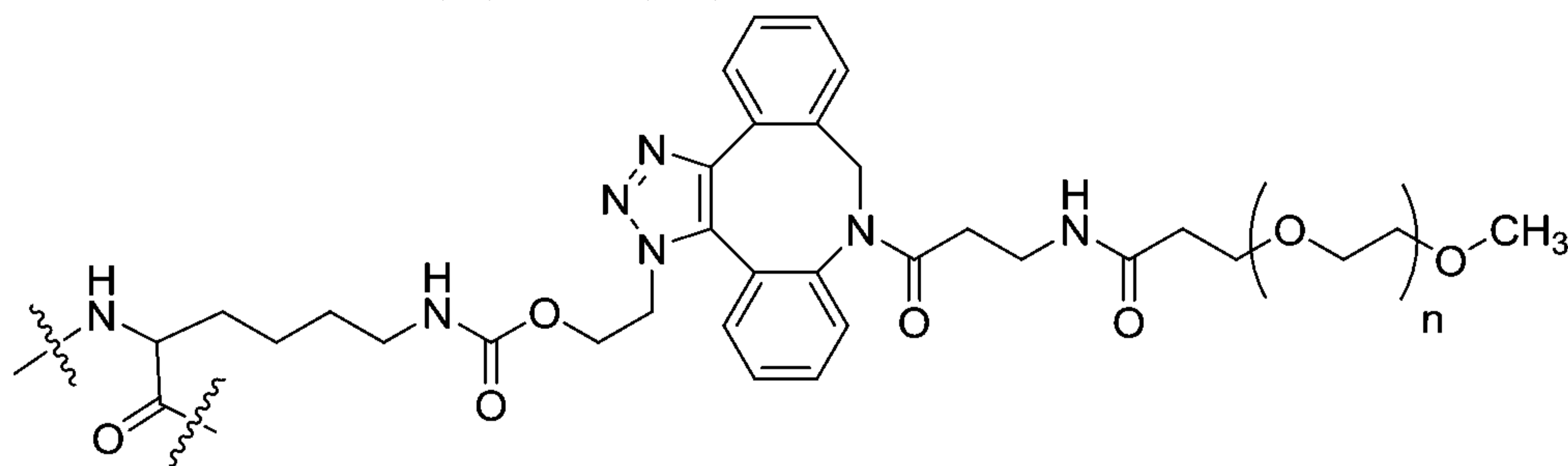


【0011】 具體實例 A6 為根據具體實例 A1-A5 中任一例之方法，其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 之平均分子量。

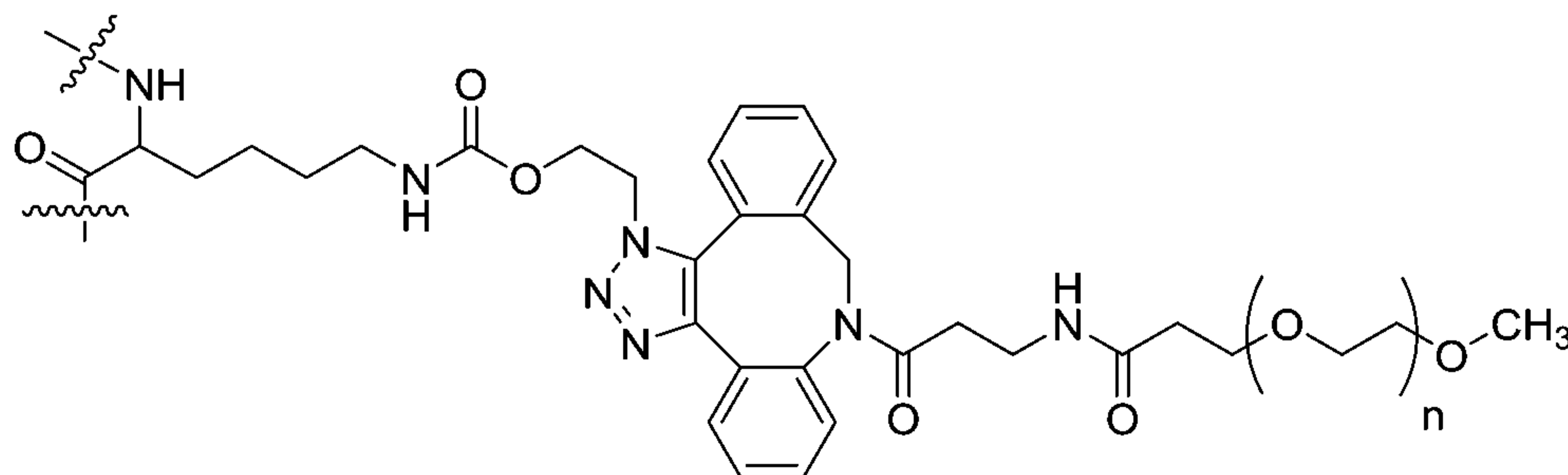
【0012】 具體實例 A7 為根據具體實例 A6 之方法，其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 30 kDa 之平均分子量。

【0013】 具體實例 A8 為根據具體實例 A1-A7 中任一例之方法，其中在 IL-2 接合物中，SEQ ID NO：3 中式(I)結構的位置為 P64。

【0014】 具體實例 A9 為具體實例 A1 之方法，其中該式(I)結構具有式(X)或式(XI)之結構，或為式(X)和式(XI)之混合物：



式(X)；



(XI) ;

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 的整數；及

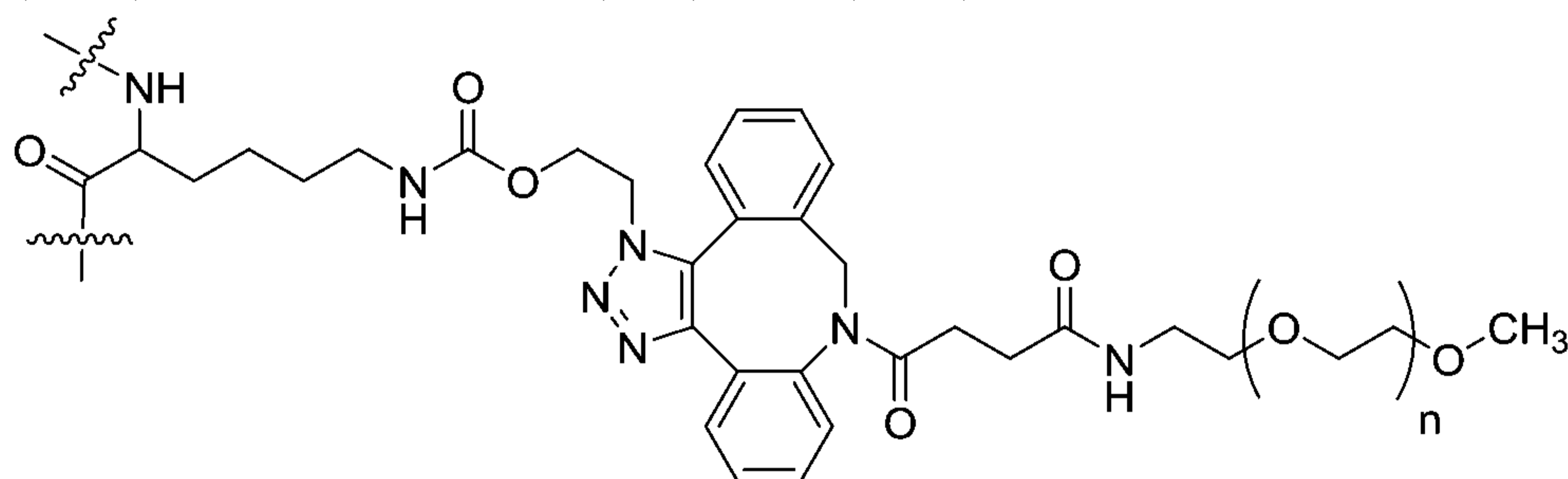
波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【0015】 具體實例 A10 為具體實例 A9 之方法，其中在 IL-2 接合物中，SEQ ID NO：3 中式(X)或式(XI)結構之位置為 P64。

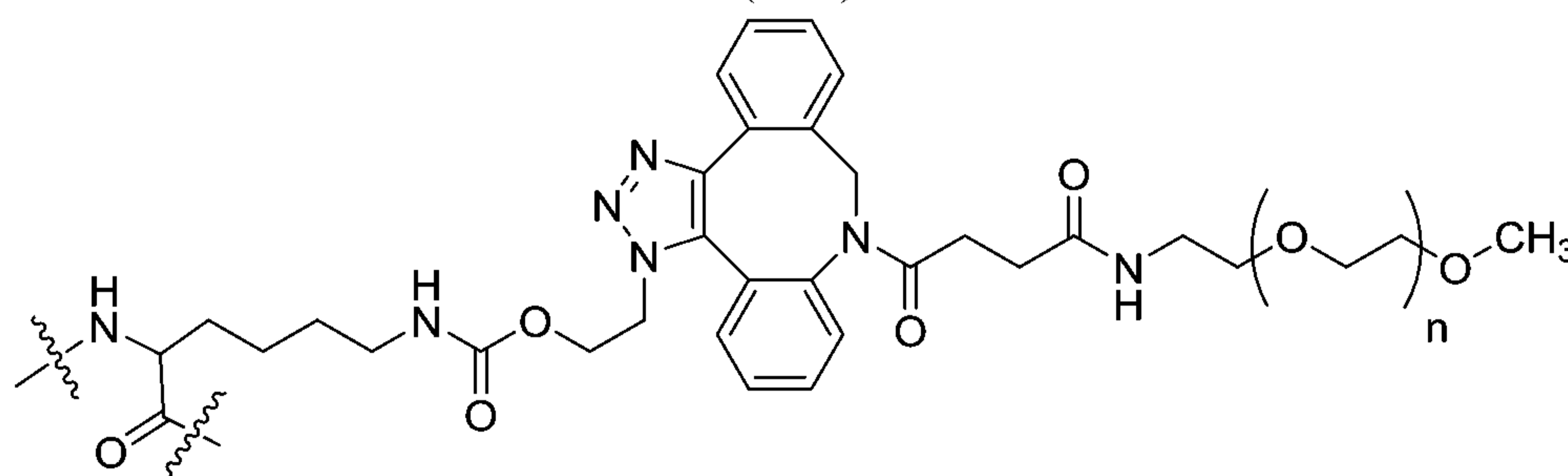
【0016】 具體實例 A11 為具體實例 A9 或 A10 之方法，其中在 IL-2 接合物中 n 為一整數使得 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 具有約 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 之分子量。

【0017】 具體實例 A12 為具體實例 A11 之方法，其中在 IL-2 接合物中 n 為一整數使得 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 具有約 30 kDa 之分子量。

【0018】 具體實例 A13 為具體實例 A1 之方法，其中該式(I)結構具有式(XII)或式(XIII)之結構，或為式(XII)和式(XIII)之混合物：



式(XII)；



(XIII)；

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 的整數；及

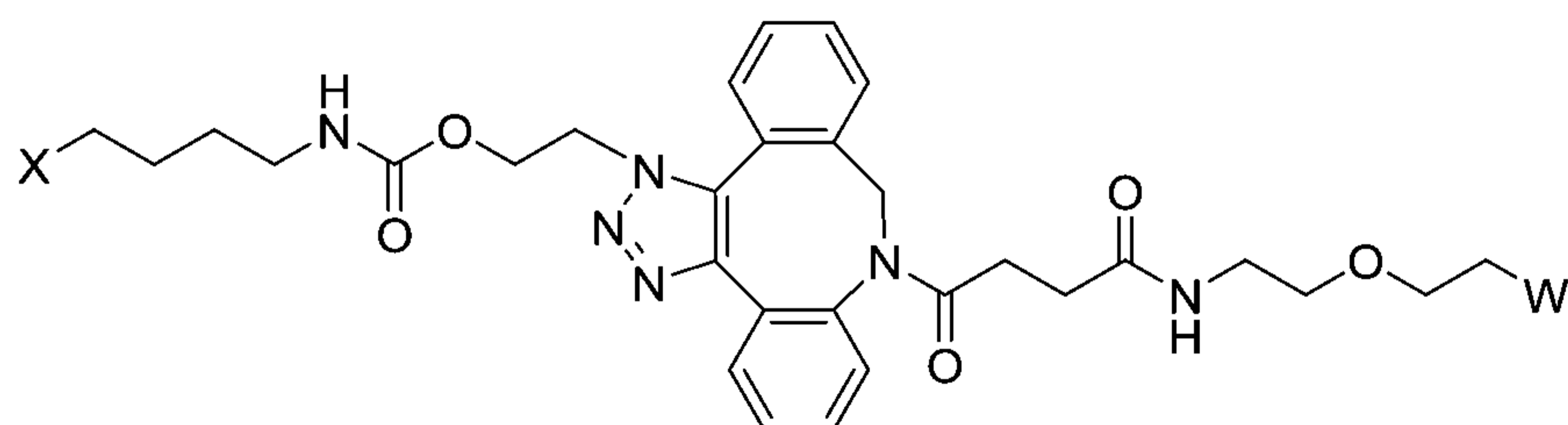
波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【0019】 具體實例 A14 為具體實例 A13 之方法，其中在 IL-2 接合物中，SEQ ID NO：3 中式(XII)或式(XIII)結構之位置係在 P64。

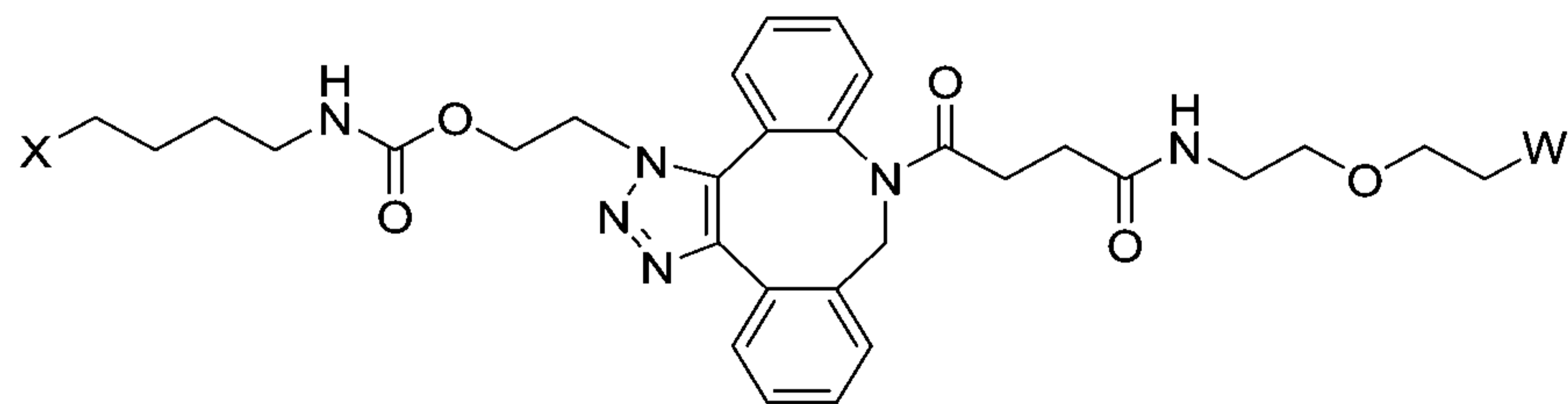
【0020】 具體實例 A15 為具體實例 A13 或 A14 之方法，其中在 IL-2 接合物中 n 為一整數使得 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{OCH}_3$  具有約 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 之分子量。

【0021】 具體實例 A16 為具體實例 A15 之方法，其中在 IL-2 接合物中 n 為一整數使得 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{OCH}_3$  具有約 30 kDa 之分子量。

【0022】 具體實例 A17 為於一有此需要的對象中治療癌症的方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個免疫檢查點抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG30kD] 具有式(IV)或式(V)之結構或為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；



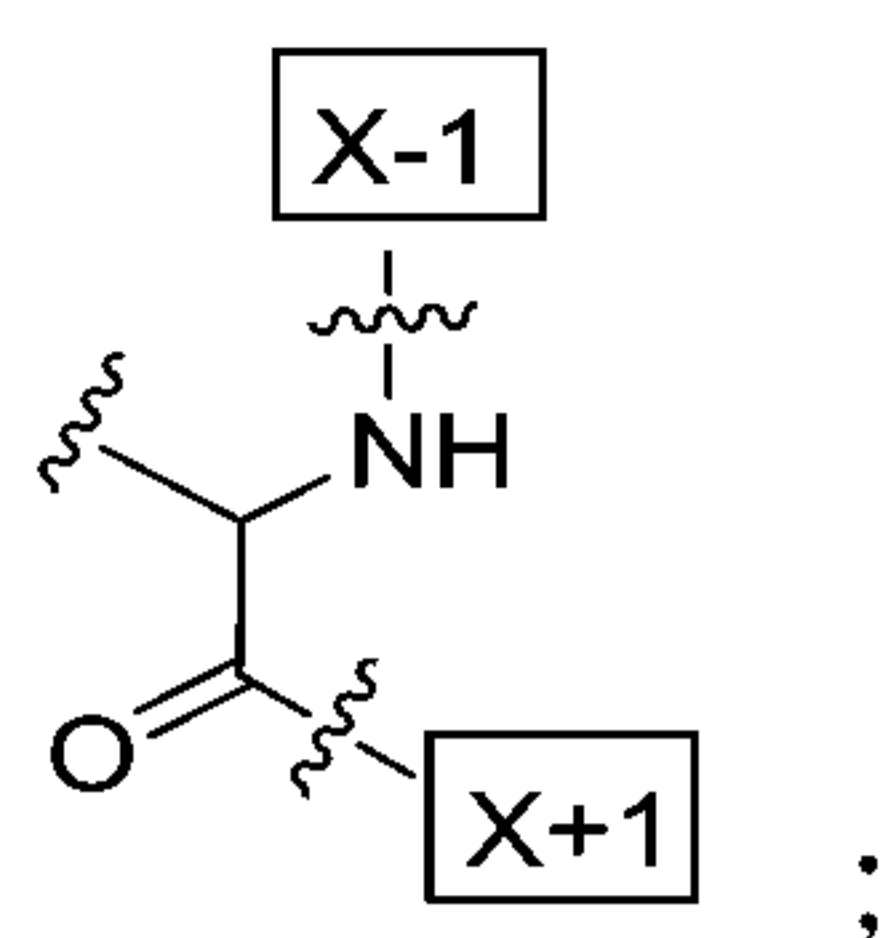
式(V)；

其中：

W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa 及 60 kDa；

X 具有下列結構：





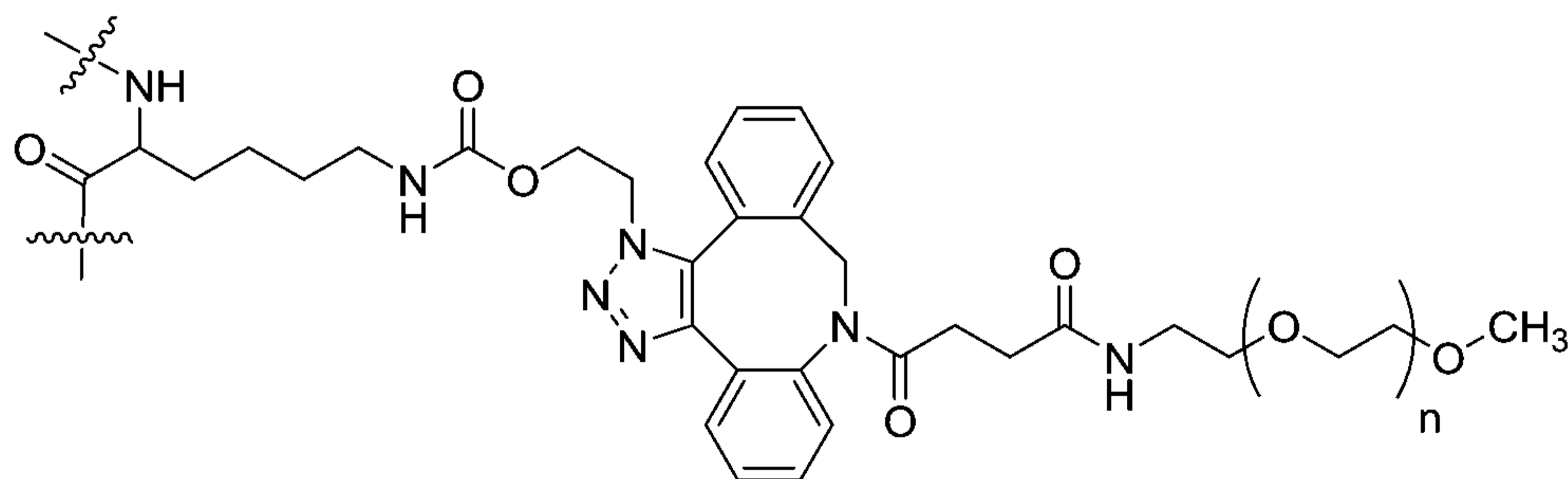
X-1 係指與前面的胺基酸殘基連接的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點。

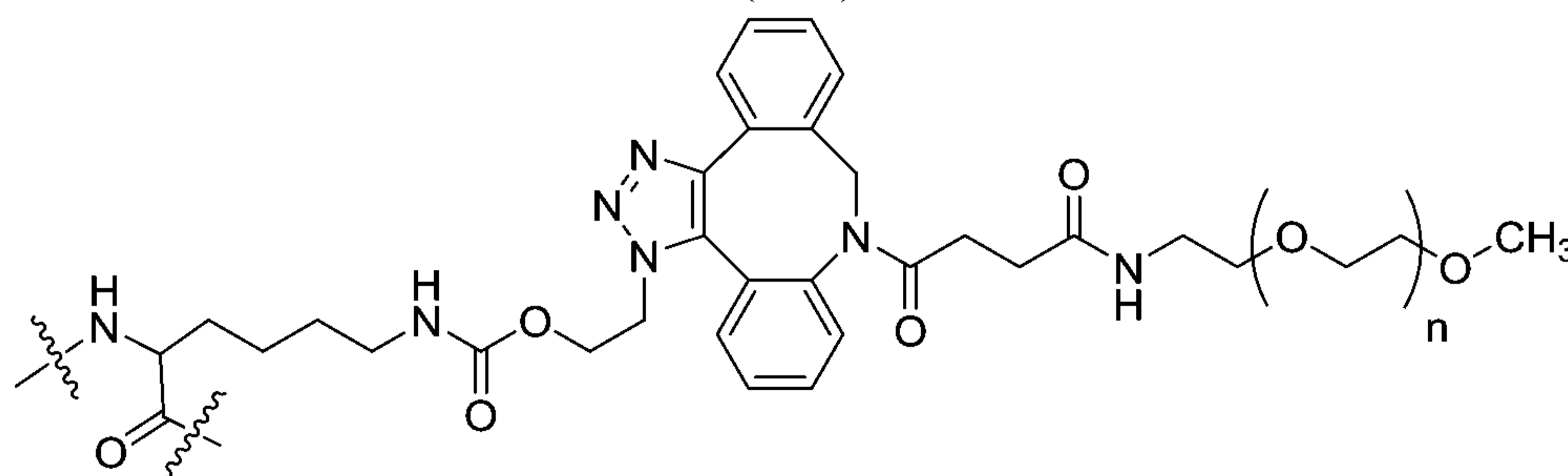
【0023】 具體實例 A18 為根據具體實例 A17 之方法，其中 W 為一具有選自 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0024】 具體實例 A19 為根據具體實例 A18 之方法，其中 W 為一具有 30 kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0025】 具體實例 A20 為於一有此需要的對象中治療癌症的方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個免疫檢查點抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG30kD]具有式(XII)或式(XIII)之結構，或為式(XII)和式(XIII)結構之混合物：



式(XII)；



(XIII)；

其中：

n 為一整數使得 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 具有約 30 kDa 之分子量；及

波形線係指連接 SEQ ID NO：50 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【0026】 具體實例 A21 為根據具體實例 A1-A20 中任一例之方法，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑為一或多個 PD-1 抑制劑。

【0027】 具體實例 A22 為根據具體實例 A21 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)及西普利單抗(cemiplimab)。

【0028】 具體實例 A23 為根據具體實例 A22 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。

【0029】 具體實例 A24 為根據具體實例 A22 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。

【0030】 具體實例 A25 為根據具體實例 A1-A24 中任一例之方法，其中該癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、經典何杰金氏淋巴瘤(cHL)、原發性縱膈腔大B細胞淋巴瘤(PMBCL)、泌尿道上皮細胞癌、微小衛星體的不穩定性癌、微小衛星體的穩定性癌症、胃癌、大腸癌、大腸直腸癌(CRC)、子宮頸癌、肝細胞癌(HCC)、默克(Merkel)細胞癌(MCC)、黑色素瘤、小細胞肺癌(SCLC)、食道癌、食道鱗狀細胞癌(ESCC)、膠質母細胞瘤、間皮瘤、乳癌、三陰性乳癌、前列腺癌、去勢抗性前列腺癌、轉移性去勢抗性前列腺癌、或具有 DNA 損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢抗性前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低度突變負荷之腫瘤、皮膚鱗狀細胞癌(CSCC)、鱗狀細胞皮膚癌(SCSC)、低至無表現 PD-L1 之腫瘤、在其原發解剖起源位置以外全身性傳播至肝臟及 CNS 之腫瘤及瀰漫性大 B-細胞淋巴瘤。

【0031】 具體實例 A26 為根據具體實例 A1-A25 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物係每週一次，每二週一次，每三週一次，每 4 週一次，每 5 週一次，每 6 週一次，每 7 週一次，或每 8 週一次投予該對象。

【0032】 具體實例 A27 為根據具體實例 A1-A26 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物係藉由靜脈內給藥投予一對象。

【0033】 具體實例 A28 為根據具體實例 A1-A27 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物為醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

### 【圖式簡單說明】

【0034】 參照下列陳述圖例的具體實例之詳細說明將更能了解本發明之特色和優點，其中係利用本發明之原理及其伴隨的圖式：

【0035】 圖 1 係顯示來自實例 11 研究 1 以 QWx3 時程 IV 投予化合物 A 之抗腫瘤活性的圖式。黑色箭頭代表化合物 A 的投予日。

【0036】 圖 2 係顯示來自實例 11 研究 1 以 QWx3 時程 IV 投予化合物 A 之腫瘤體積的圖式。

【0037】 圖 3 係顯示來自實例 11 研究 1 以 QWx3 時程投予化合物 A，各治療的動物於治療後第 15 天之腫瘤體積。黑色箭頭代表化合物 A 的投予日。

【0038】 圖 4 係顯示來自實例 11 研究 1 以 Q2Wx2 時程投予化合物 A，各動物於治療後第 15 天之腫瘤體積。

【0039】 圖 5 係顯示來自實例 11 研究 2 以媒劑、6 mg/kg 化合物 A 作為單一藥劑、抗-PD-1 抗體作為單一藥劑及 6 mg/kg 化合物 A 和抗-PD-1 抗體之組合治療小鼠的平均腫瘤生長曲線。黑色箭頭代表化合物 A 的投予日。

【0040】 圖 6 係顯示來自實例 11 研究 2 以化合物 A 和抗-PD-1 抗體組合治療的組別，相較於以媒劑、單獨化合物 A 或單獨的抗-PD-1 抗體治療的組別，於治療後第 15 天的 %TGI 數據之圖式。 $*p<0.05$ ， $**p<0.01$  及 $***p<0.01$ ；對媒劑對照組。 $^{\dagger}p<0.05$  對抗-PD-1 抗體。 $\#p<0.05$  對化合物 A。數據係代表平均腫瘤體積 $\pm$ SEM(14 隻小鼠/組)。

【0041】 圖 7 係顯示來自實例 11 研究 2 之治療組的 Kaplan-Meier 存活曲線圖。 $*p<0.05$  對媒劑對照組。 $^{\dagger}p<0.05$  對抗-PD-1 抗體。 $\#p<0.05$  對化合物 A。

【0042】 圖 8 係代表實例 11 研究 3 中化合物 A 以 1 mg/kg、3 mg/kg、6 mg/kg 及 9 mg/kg 單一試劑投予時的平均腫瘤生長曲線。數據係代表平均腫瘤體積 $\pm$ SEM(14 隻小鼠/組；9 mg/kg 化合物 A 除外，為 12 隻小鼠/組)。黑色箭頭代表化合物 A 的投予日。

【0043】 圖 9 係代表來自實例 11 研究 3 於治療後第 15 天的個別腫瘤體積。數據係代表個別的腫瘤體積；平均值 $\pm$ SEM 及亦顯示與媒劑對照組相比的 %TGI。 $***p<0.01$  對媒劑對照組。

【0044】 圖 10 係顯示以媒劑(對照組)、單獨抗-PD-1 抗體、單獨化合物 A 及化合物 A 和抗-PD-1 抗體組合治療之治療組的 Kaplan-Meier 存活曲線圖。

來自實例 11 研究 3，\* $p < 0.05$  對媒劑對照組。<sup>†</sup> $p < 0.05$  對抗-PD-1 抗體。# $p < 0.05$  對化合物 A。

【0045】圖 11A 和圖 11B 係顯示就實例 12 之單一捐贈者，單獨的 IL-2 和 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 以及與納武單抗(Nivo)或帕博利珠單抗(Pem)組合之代表性細胞激素量的圖式。圖 11A 係顯示 IFN- $\gamma$ 、IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-4 及 IL-5 量之圖式。圖 11B 係顯示 IL-6、TNF- $\alpha$  及 IL-5 量之圖式。

【0046】圖 12 係顯示根據實例 13 在化合物 B(IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1)和帕博利珠單抗組合之混合淋巴細胞反應(MLR)分析中干擾素- $\gamma$  的釋放。

【0047】圖 13 和圖 14 係顯示根據實例 13 在化合物 B(IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1)和納武單抗組合之混合淋巴細胞反應(MLR)分析中干擾素- $\gamma$  的釋放。

【0048】圖 15 係顯示來自實例 14 化合物 B 的藥物動力學性質。

【0049】圖 16A-16D 係顯示根據實例 14 在投予化合物 B 之後，分別在週邊血液 CD8+T 細胞、CD8+記憶 T 細胞、NK 細胞及 Treg 細胞中 pSTAT5+細胞的量。

【0050】圖 17A-17G 係顯示根據實例 14 被化合物 B 所活化的 CD8+T、NK 及 Treg 細胞群族中之 Ki67。

【0051】圖 18A-18D 係顯示根據實例 14 以化合物 B 治療後的腫瘤樣本分析(CD8+T 細胞、NK 細胞及 Treg 細胞量和 CD8+/Treg 比率)。

【0052】圖 19 係顯示根據實例 15 以化合物 B 和小鼠抗-PD-1 抗體治療後的 TCR 多樣性。

【0053】圖 20 係顯示根據實例 15 在所指的治療(例如化合物 B 及/或小鼠抗-PD-1 抗體)之後 TIL 單株性(clonality)對 T 細胞分量。

【0054】圖 21 係顯示根據實例 15 以化合物 B 治療之後與媒劑對照組相比的 T 細胞單株性。

【0055】圖 22 係顯示來自實例 16 在以對照(媒劑)、化合物 B(6 mg/kg)和小鼠抗-PD-1(10 mg/kg)，或化合物 B 和小鼠抗-PD-1 之組合(每組 N=10 隻小鼠)治療後，來自第 8 天 CT26 腫瘤樣本表現熱圖。

【0056】圖 23A-23C 係顯示根據實例 16 以化合物 B 治療後的腫瘤微環境狀況之關鍵表現報導子：活化的 CD8<sup>+</sup>效應子和效應子記憶 T 細胞及溶細胞 NK 細胞的浸潤分析。CTL = 對照組(媒劑)；Cmpd B 化合物 B；aPD1 = 小鼠抗-PD-1 抗體；Cmpd B aPD1 = 化合物 B 和小鼠抗-PD-1 抗體之組合。

【0057】圖 24A-24B 係顯示根據實例 16 回應治療之干擾素  $\gamma$  基因表現標記量的分析工具分析。CTL = 對照組(媒劑)；Cmpd B 化合物 B；aPD1 = 小鼠抗-PD-1 抗體；Cmpd B aPD1 = 化合物 B 和小鼠抗-PD-1 抗體之組合。

【0058】圖 25 和 圖 26 係顯示根據實例 17 於再挑戰(re-challenged)的無腫瘤動物中之存活和腫瘤生長評估。

【0059】圖 27A 和圖 27B 係顯示根據實例 17 於再挑戰的小鼠中化合物 B 促進整體週邊記憶 T 細胞(CD3<sup>+</sup>)，包括記憶 CD8<sup>+</sup>T 細胞增加。

#### 【實施方式】

【0060】應了解，前述的一般性說明和下列的詳細說明僅作為例示和解釋而非限制所請求的任何標的事項。在某種程度上，以引用的方式併入文中的任何物體與本揭示文的表現內容不相符合時，則以表現內容為主。

#### 定義

【0061】除非另有說明，否則所有文中所用的技術和科學術語具有如請求標的事項所屬技術之一般技術者所正常理解之相同意義。在本申請書中，除非有特別陳述，否則所使用的單數型係包括多數型。應必須注意，除非內容中明確地指出，否則如本說明書和所附的申請專利範圍中所用，單數形式「一」、「此」亦包括複數參照物。在本申請書中，除非有陳述，否則「或」係指「及/或」。再者，所用的術語「包括」以及其他形式，例如「包含」、「含有」和「涵蓋」並無限制。

【0062】在本說明書中有關「某些具體實例」、「一具體實例」或「其他具體實例」係指與該具體實例有關的所述特定特色、結構或特徵係包括在至少某些具體實例中，但不一定是本發明的所有具體實例。

【0063】如文中所用，範圍和數量可以「大約」表示一特定數值或範圍。大約亦包括確切的量。因此，「大約 5  $\mu$ L」係指「大約 5  $\mu$ L」以及「5  $\mu$ L」。

一般而言，術語「大約」係包括可預期在實驗誤差內的量，例如，舉例而言，在 15%、10%或 5%內。

**【0064】** 文中所用的章節標題僅用於組織目的且不應視為限制所述的標的事項。

**【0065】** 除非另有明確指出，否則術語「或」係以包括的意義來使用，等同「及/或」。

**【0066】** 如文中所用，術語「個體」、「對象」和「病患」係指任何的哺乳動物。在某些具體實例中，該哺乳動物為人類。在某些具體實例中，該哺乳動物為非人類。並無任何的術語要求或受限於醫護人員(例如，醫師、護理師、職業護理師、醫師助理、看護或臨終照護人員)之督導(例如，固定或間歇性)所定的狀況。

**【0067】** 如文中所用，有關結合親和力，術語「明顯」或「顯著地」係指細胞激素(例如，IL-2 多肽)的結合親和力之變化係足以影響細胞激素(例如，IL-2 多肽)與目標受體結合。在某些情況下，此術語係指至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多的變化。在某些情況下，此術語係指至少 2-倍、3-倍、4-倍、5-倍、6-倍、7-倍、8-倍、9-倍、10-倍、50-倍、100-倍、500-倍、1000-倍或更多的變化。

**【0068】** 在某些情況下，有關一或多種細胞群族經由一細胞激素訊號傳遞複合活化，術語「明顯」或「顯著地」係指足以活化細胞群族之變化。在某些情況下，活化細胞群組之變化係以受體訊號傳遞效力來測量。在某些情況下，可能提供 EC50 值。在其他情況下，可能提供 ED50 值。在另外的情況下，可能提供細胞激素的濃度或劑量。

**【0069】** 如文中所用，術語「效力」係指產生一目標效應所需之細胞激素(例如，IL-2 多肽)的量。在某些情況下，術語「效力」係指活化一目標細胞激素受體(例如，IL-2 受體)所需之細胞激素(例如，IL-2 多肽)的量。在其他的情況下，術語「效力」係指活化一目標細胞群族所需之細胞激素(例如，IL-2 多肽)的量。在某些情況下，效力係以 ED50(有效劑量 50)，或產生 50%最大效應所需的劑量來測量。在其他的情況下，效力係以 EC50(有效濃度 50)，或在 50%此群族中產生目標效應所需的劑量來測量。

【0070】如文中所用，術語「非天然胺基酸」係指 20 種天然生成胺基酸以外的胺基酸。例示的非天然胺基酸係描述於 Young et al., “Beyond the canonical 20 amino acids: expanding the genetic lexicon,” *J. of Biological Chemistry* **285**(15): 11039-11044 (2010)中，該揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0071】術語「抗體」在文中係以廣義來使用並包括各種抗體結構，其包括，但不限於單株抗體、多株抗體、多專一性抗體 (例如，雙專一性抗體) 及抗體片段，只要其展現所欲的抗原結合活性即可。「抗體片段」係指非完整抗體之分子，其係包括完整抗體的一部分，而該部分係與完整抗體結合之抗原相結合。抗體片段之實例包括，但不限於 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>；雙抗體；線性抗體；單鏈抗體分子(例如 scFv)；和從抗體片段所形成的多專一性抗體。在某些具體實例中，該抗原為 EGFR。

【0072】術語「單株抗體」如文中所用係指從一群實質上同源的抗體所得到的抗體，亦即包括該群族之個別抗體為相同的及/或結合相同表位，但可能的變體抗體除外，例如，含有天然發生的突變或在製造單株抗體期間產生的，此等變體一般係以較小量存在。與多株抗體製備相反，其典型地係包括抗不同決定位(表位)之不同抗體，單株抗體製備的各單株抗體係針對一抗原上的單一決定位。因此，修飾物「單株抗體」係指抗體的特徵係從實質上同源的抗體群族所得來，且不應解釋為需要藉由任何特別的方法製造此抗體。例如，依照本發明所使用的單株抗體可藉由各種技術來製作，其包括，但不限於雜交瘤法、重組 DNA 法、噬菌體表現法及利用含有全部或部分人類免疫球蛋白基因座之基因轉殖動物的方法，此等用於製造單株抗體之方法和其他的例示方法係描述於本文中。

【0073】如文中所用，「核苷酸」係指包括一核苷基團和一磷酸基團之化合物。例示的天然核苷酸包括，不限於腺苷三磷酸(ATP)、尿苷三磷酸(UTP)、胞苷三磷酸(CTP)、鳥苷三磷酸(GTP)、腺二磷酸(ADP)、尿苷二磷酸(UDP)、胞苷二磷酸(CDP)、鳥苷二磷酸(GDP)、腺苷單磷酸(AMP)、尿苷單磷酸(UMP)、胞苷單磷酸(CMP)及鳥苷單磷酸(GMP)、去氧腺苷三磷酸(dATP)、去氧胸苷三磷酸(dTTP)、去氧胞苷三磷酸(dCTP)、去氧鳥苷三磷酸(dGTP)、去氧腺苷二

磷酸(dADP)、胸苷二磷酸(dTDP)、去氧胞苷二磷酸(dCDP)、去氧鳥苷二磷酸(dGDP)、去氧腺苷單磷酸(dAMP)、去氧胸苷單磷酸(dTMP)、去氧胞苷單磷酸(dCMP)及去氧鳥苷單磷酸(dGMP)。包括一去氧核糖作為糖基之例示的天然去氧核糖核苷酸包括 dATP、dTTP、dCTP、dGTP、dADP、dTDP、dCDP、dGDP、dAMP、dTMP、dCMP 及 dGMP。包括一核糖作為糖基之例示的天然核糖核苷酸包括 ATP、UTP、CTP、GTP、ADP、UDP、CDP、GDP、AMP、UMP、CMP 及 GMP。

**【0074】** 如文中所用，「鹼基」或「核鹼基」係指至少該核苷或核苷酸的核鹼基部分(核苷或核苷酸係包括核糖或去氧核糖變體)，其在某些情況下可能在核苷或核苷酸的糖部分含有另外的修飾。在某些情況下，「鹼基」亦用來代表整個核苷或核苷酸(例如，可能藉由 DNA 聚合酶將「鹼基」併入 DNA 中，或藉由 RNA 聚合酶併入 RNA 中)。然而，除非文中需要，否則術語「鹼基」並不一定解釋為代表整個核苷或核苷酸。為求清楚起見，在文中所提供的鹼基或核鹼基之化學結構中，僅顯示核苷或核苷酸的鹼基，而省略糖基團及，視需要任何的磷酸殘基。如文中所提供的鹼基或核鹼基之化學結構中所用，波形線係代表連接核苷或核苷酸，其中核苷或核苷酸的糖部分可進一步經修飾。在某些具體實例中，波形線係代表鹼基或核鹼基與糖部份的連接，例如與核苷或核苷酸的五糖連接。在某些具體實例中，此五糖為核糖或去氧核糖。

**【0075】** 在某些具體實例中，核鹼基一般為核苷的雜環鹼基部分。核鹼基可為天然生成的，可為修飾的，可不帶有天然鹼基的相似性，及/或可為合成的，例如，藉由有機合成。在特定的具體實例中，核鹼基係包括核苷或核苷酸中的任何原子或原子基團，其中該原子或原子基團能在有或無使用氫鍵下與另外核酸的鹼基相互作用。在特定的具體實例中，非天然的核鹼基並非衍生自天然的核鹼基。應注意，非天然核鹼基並不一定具有鹼性，然而，其可能為了簡單起見而稱為核鹼基。在某些具體實例中，當提及一核鹼基時，「(d)」係指該核鹼基可連接一去氧核糖或核糖，而無括弧的「d」係指該核鹼基係連接去氧核糖。



【0076】如文中所用，「核苷」為一包括核鹼基基團和糖基團之化合物。核苷包括，但不限於，天然生成的核苷(如在 DNA 和 RNA 所見)、去鹼基核苷、修飾的核苷和具有模擬鹼基及/或糖基之核苷。核苷包括含有任何各種取代的核苷。核苷可為經由核酸鹼基和糖之還原基之間的糖苷鍵聯所形成的糖苷化合物。

【0077】化學結構之「類似物」，此術語如文中所用係指保留與母結構之實質上相似性的化學結構，雖然其可能在合成上並不易衍生自母結構。在某些具體實例中，核苷酸類似物為非天然核苷酸。在某些具體實例中，核苷酸類似物為非天然核苷。合成上可衍生自母化學結構的相關化學結構係稱為「衍生物」。

【0078】雖然本發明之各種特質可描述於單一具體實例的內文中，但該等特質亦可個別或以任何適合的組合來提供。反之，雖然為了清楚起見本發明可以個別的具體實例之內文描述於文中，但本發明亦可於單一具體實例中施行。

## IL-2 接合物

【0079】細胞激素係包括一細胞訊號傳遞蛋白之家族，例如趨化激素、干擾素、介白素(interleukin)、淋巴介質(lymphokine)、腫瘤壞死因子及在先天性和後天性免疫細胞平衡中扮演一角的其他生長因子。細胞激素係由免疫細胞，例如巨噬細胞、B 淋巴細胞、T 淋巴細胞和肥大細胞、內皮細胞、纖維母細胞及不同的幹細胞所製造。在某些情形下，細胞激素係調節體液和以細胞為基礎的免疫反應間的平衡。

【0080】介白素為調節 T 和 B 淋巴細胞、單核細胞群系之細胞、嗜中性白血球、嗜鹼性白血球、嗜酸性白血球、大核細胞及造血細胞之發育和分化的訊號傳遞蛋白。介白素係由幫手 CD4 T 和 B 淋巴細胞、單核細胞、巨噬細胞、內皮細胞及其他組織駐留細胞所產生。

【0081】介白素 2(IL-2)為一種第 I 型多效能細胞激素(pleiotropic type-1 cytokine)，其結構係包括一 15.5 kDa 四  $\alpha$ -螺旋束。IL-2 的前驅物形式為長度 153 個胺基酸殘基，其中前 20 個胺基酸形成一訊號胜肽及殘基 21-153 形成此成熟形式。IL-2 主要係由 CD4+ T 細胞在抗原刺激後產生，及較輕程度上由 CD8+

細胞、天然殺手(NK)細胞及天然殺手 T(NKT)細胞、活化的樹突細胞(DC)及肥大細胞產生。經由與特定組合的IL-2受體(IL-2R)亞單元IL-2R $\alpha$ (亦稱為CD25)、IL-2R $\beta$ (亦稱為CD122)及IL-2R $\gamma$ (亦稱為CD132)交互作用發生IL-2訊號傳遞。IL-2與IL-2R $\alpha$ 的交互作用形成具有約 $10^{-8}$ M之 $K_d$ 的「低親和力」IL-2受體複合物。IL-2與IL-2R $\beta$ 和IL-2R $\gamma$ 的交互作用形成具有約 $10^{-9}$ M之 $K_d$ 的「中度親和力」IL-2受體複合物。IL-2與全部三種亞單元IL-2R $\alpha$ 、IL-2R $\beta$ 及IL-2R $\gamma$ 之交互作用形成具有大於約 $10^{-11}$ M之 $K_d$ 的「高親和力」IL-2受體複合物。

**【0082】** 在某些情形下，經由「高親和力」IL-2R $\alpha\beta\gamma$ 複合物的IL-2訊號傳遞係調整調節性T細胞的活化和增生。調節性T細胞或CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>調節性T(Treg)細胞係藉由抑制效應子細胞，例如CD4<sup>+</sup>T細胞、CD8<sup>+</sup>T細胞、B細胞、NK細胞及NKT細胞，媒介免疫平衡的維護。在某些情形下，Treg細胞係從胸腺產生(tTreg細胞)或從週邊中的純淨T細胞(naïve T cell)所誘發(pTreg細胞)。在某些情況下，Treg細胞被視為週邊耐受性的仲介體(mediator)。實際上，在一研究中，轉移CD25-依賴的週邊CD4<sup>+</sup>T細胞在裸小鼠中產生了各種自體免疫疾病，而共轉移CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T細胞則抑制自體免疫力的發展(Sakaguchi, *et al.*, “Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25),” *J. Immunol.* 155(3): 1151-1164 (1995)，該揭示文係以引用的方式併入本文中)。Treg細胞群族的增加下調了效應子T細胞增生並抑制自體免疫力和T細胞抗-腫瘤反應。

**【0083】** 經由「中度親和力」IL-2R $\beta\gamma$ 複合物之IL-2訊號傳遞係調節CD8<sup>+</sup>效應子T(Teff)細胞、NK細胞及NKT細胞的活化和增生。CD8<sup>+</sup>Teff細胞(亦稱為細胞毒性T細胞、Tc細胞、細胞毒性T淋巴細胞、CTL、T-殺手細胞、溶細胞T細胞、Tcon或殺手T細胞)為辨識和殺死受損細胞、癌細胞及病原感染細胞之T淋巴細胞。NK和NKT細胞，其與CD8<sup>+</sup>Teff細胞、標靶癌細胞和病原感染細胞相類似，為淋巴細胞形式。

**【0084】** 在某些情形下，係利用IL-2訊號傳遞來調節T細胞反應及後續用於治療癌症。例如，IL-2係以高劑量形式給藥用以誘發Teff細胞群組的表現供治療癌症。然而，高劑量IL-2進一步導致Treg細胞的共伴刺激，而衰減抗腫瘤免疫反應。高劑量IL-2亦誘發由結合脈管系統中IL-2R $\alpha$ 鏈-表現細胞，

包括第 2 型先天免疫細胞(ILC-2)、嗜酸性白血球和內皮細胞媒介的毒性不良事件。此舉造成了嗜酸性白血球增多症、毛細血管滲漏和血管滲漏症候群(VLS)。

【0085】 授受性細胞療法(Adoptive cell therapy)使醫師能有效利用病患自身的免疫細胞對抗疾病，例如增生性疾病(例如，癌症)以及感染性疾病。在某些具體實例中，文中係揭示用於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括投予一有此需要的對象一治療上有效量的(a)IL-2 接合物及(b)一或多種另外的藥劑，其中該一或多種另外的藥劑可包括一或多個免疫檢查點抑制劑。

【0086】 在某些具體實例中，文中所描述的為介白素 2(IL-2)接合物。在某些具體實例中，文中所描述的為表 1 中所示的例示多肽。在某些具體實例中，文中所描述的 IL-2 接合物係舉例說明於表 1 中。

表 1.

名稱	序列	SEQ ID NO :
IL-2 [智人(homo sapiens)] (成熟形式)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	1
IL-2 [智人(homo sapiens)] (前驅物) NCBI 登錄號： AAB46883.1	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYM PKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFH LRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFCQSIISTLT	2
阿地介白素 (aldesleukin)	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	3

IL-2_C125S	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	4
IL-2_P65X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK <u>X</u> L EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	5
IL-2_E62X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEE <u>X</u> LKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	6
IL-2_F42X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT <u>X</u> K FYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	7
IL-2_K43X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF <u>X</u> FYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	8
IL-2_K35X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN <u>P</u> <u>X</u> LTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	9
IL-2_P65[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFK FYMPKKATELKHLQCLEEELK[Az <u>K</u> ]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	10
IL-2_E62[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN	11

	PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[AzK]L KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_F42[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT[AzK]KFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	12
IL-2_K43[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF[AzK]FYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	13
IL-2_K35[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN P[AzK]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	14
IL-2_P65[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[Az K_PEG]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSI STLT	15
IL-2_E62[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[AzK_P EG]LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSI STLT	16
IL-2_F42[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT[AzK_PEG]KFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSI	17

	ISTLT	
IL-2_K43[AzK_PEG ]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF[ <b>AzK_PEG</b> ]FYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSI ISTLT	18
IL-2_K35[AzK_PEG ]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN P[ <b>AzK_PEG</b> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSI ISTLT	19
IL-2_P65[AzK_PEG 5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[ <b>Az K_PEG5kD</b> ]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	20
IL-2_E62[AzK_PEG 5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <b>AzK_P EG5kD</b> ]LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	21
IL-2_F42[AzK_PEG 5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT[ <b>AzK_PEG5kD</b> ]KFYMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	22
IL-2_K43[AzK_PEG 5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF[ <b>AzK_PEG5kD</b> ]FYMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN	23

	VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	
IL-2_K35[AzK_PEG 5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN P[ <b>AzK_PEG5kD</b> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	24
IL-2_P65[AzK_PEG 30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	25
IL-2_E62[AzK_PEG 30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]LKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	26
IL-2_F42[AzK_PEG 30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]KFYMPKKATELKH LQCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	27
IL-2_K43[AzK_PEG 30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]FYMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	28
IL-2_K35[AzK_PEG 30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN P[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHL	29

	QCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	
IL-2_P65X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK <u>X</u> LE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	30
IL-2_E62X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE <u>X</u> LKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	31
IL-2_F42X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT <u>X</u> KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	32
IL-2_K43X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF <u>X</u> FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	33
IL-2_K35X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP <u>X</u> LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	34
IL-2_P65[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[Az K]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	35
IL-2_E62[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[AzK]LK	36



	PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKG SETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_F42[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT[ <u>AzK</u> ]KFYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKG SETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	37
IL-2_K43[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF[ <u>AzK</u> ]FYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKG SETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	38
IL-2_K35[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[ <u>AzK</u> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGS ETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	39
IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[ <u>AzK_L1_PEG</u> ]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	40
IL-2_E62[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <u>AzK_L1_PEG</u> ]LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINV VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	41
IL-2_F42[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT[ <u>AzK_L1_PEG</u> ]KFYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINV VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	42

IL-2_K43[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF[ <b>AzK L1 PEG</b> ]FYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	43
IL-2_K35[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[ <b>AzK L1 PEG</b> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQC LEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	44
IL-2_P65[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[ <b>AzK L1 PEG5kD</b> ]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	45
IL-2_E62[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <b>AzK L1 PEG5kD</b> ]LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	46
IL-2_F42[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT[ <b>AzK L1 PEG5kD</b> ]KFYMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	47
IL-2_K43[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF[ <b>AzK L1 PEG5kD</b> ]FYMPKKATELKH LQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT	48

	FSQSIISTLT	
IL-2_K35[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[ <u><b>AzK L1 PEG5kD</b></u> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKH LQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	49
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKH LQCLEEELK [ <u><b>AzK L1 PEG30kD</b></u> ]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	50
IL-2_E62[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKH LQCLEE [ <u><b>AzK L1 PEG30kD</b></u> ]LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	51
IL-2_F42[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT [ <u><b>AzK L1 PEG30kD</b></u> ]KFYMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	52
IL-2_K43[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF [ <u><b>AzK L1 PEG30kD</b></u> ]FYMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	53
IL-2_K35[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[ <u><b>AzK L1 PEG30kD</b></u> ]LTRMLTFKFYMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN	54

	INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELK[AzK_L1_PEG]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	55
IL-2_E62[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEE[AzK_L1_PEG]LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	56
IL-2_F42[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT[AzK_L1_PEG]KIFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	57
IL-2_K43[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF[AzK_L1_PEG]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	58
IL-2_K35[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN P[AzK_L1_PEG]LTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	59
IL-2_P65[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELK[AzK	60

	<b><u>K L1 PEG5kD</u></b> LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[AzK <b><u>L</u></b> <b><u>1 PEG5kD</u></b> ]LKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	61
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT[AzK <b><u>L1 PEG5kD</u></b> ]KFYMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	62
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF[AzK <b><u>L1 PEG5kD</u></b> ]FYMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	63
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN P[AzK <b><u>L1 PEG5kD</u></b> ]LTRMLTFKFYMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISN INVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FSQSIISTLT	64
IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[Az <b><u>K L1 PEG30kD</u></b> ]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	65
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN	66

L1_PEG30kD]-2	PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <b>AzK L</b> <b>1_PEG30kD]</b> LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLT[ <b>AzK L1_PEG30kD]</b> KFYMPKKATEL KHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	67
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTF[ <b>AzK L1_PEG30kD]</b> FYMPKKATEL KHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	68
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN P[ <b>AzK L1_PEG30kD]</b> LTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFSQSIISTLT	69
IL-2_P65[AzK_PEG] -1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[ <b>Az</b> <b>K_PEG]</b> LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSII STLT	70
IL-2_E62[AzK_ PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <b>AzK PE</b> <b>G]</b> LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIIS TLT	71

IL-2_F42[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT[ <u>AzK_PEG</u> ]KFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSII STLT	72
IL-2_K43[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF[ <u>AzK_PEG</u> ]FYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSII STLT	73
IL-2_K35[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[ <u>AzK_PEG</u> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSII STLT	74
IL-2_P65[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[ <u>Az K_PEG5kD</u> ]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	75
IL-2_E62[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <u>AzK PE G5kD</u> ]LKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	76
IL-2_F42[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT[ <u>AzK_PEG5kD</u> ]KFYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ	77

	SIISTLT	
IL-2_K43[AzK_PEG 5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF[ <b>AzK_PEG5kD</b> ]FYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	78
IL-2_K35[AzK_PEG 5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[ <b>AzK_PEG5kD</b> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQC LEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	79
IL-2_P65[AzK_PEG 30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	80
IL-2_E62[AzK_PEG 30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINV IVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	81
IL-2_F42[AzK_PEG 30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLT[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]KFYMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	82
IL-2_K43[AzK_PEG 30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTF[ <b>AzK_PEG30kD</b> ]FYMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN	83



	VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLT	
IL-2_K35[AzK_PEG 30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP[ <b><u>AzK_PEG30kD</u></b> ]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQ SIISTLT	84
IL-2_F44X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFK <u>X</u> YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	85
IL-2_F44X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFK <u>X</u> YMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	86
IL-2_R38X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLT <u>X</u> MLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	87
IL-2_R38X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLT <u>X</u> MLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	88
IL-2_T41X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRML <u>X</u> FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	89
IL-2_T41X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRML <u>X</u> FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE	90

	EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	
IL-2_E68X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL <u>E</u> XVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSE TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	91
IL-2_E68X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE <u>X</u> VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	92
IL-2_Y45X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKF <u>X</u> MPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSE TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	93
IL-2_Y45X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKF <u>X</u> MPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	94
IL-2_V69X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EE <u>X</u> LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSE TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	95
IL-2_V69X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE <u>E</u> XLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	96
IL-2_L72X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLN <u>X</u> AQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKKGSE	97

	TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	
IL-2_L72X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLN <u>X</u> AQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	98

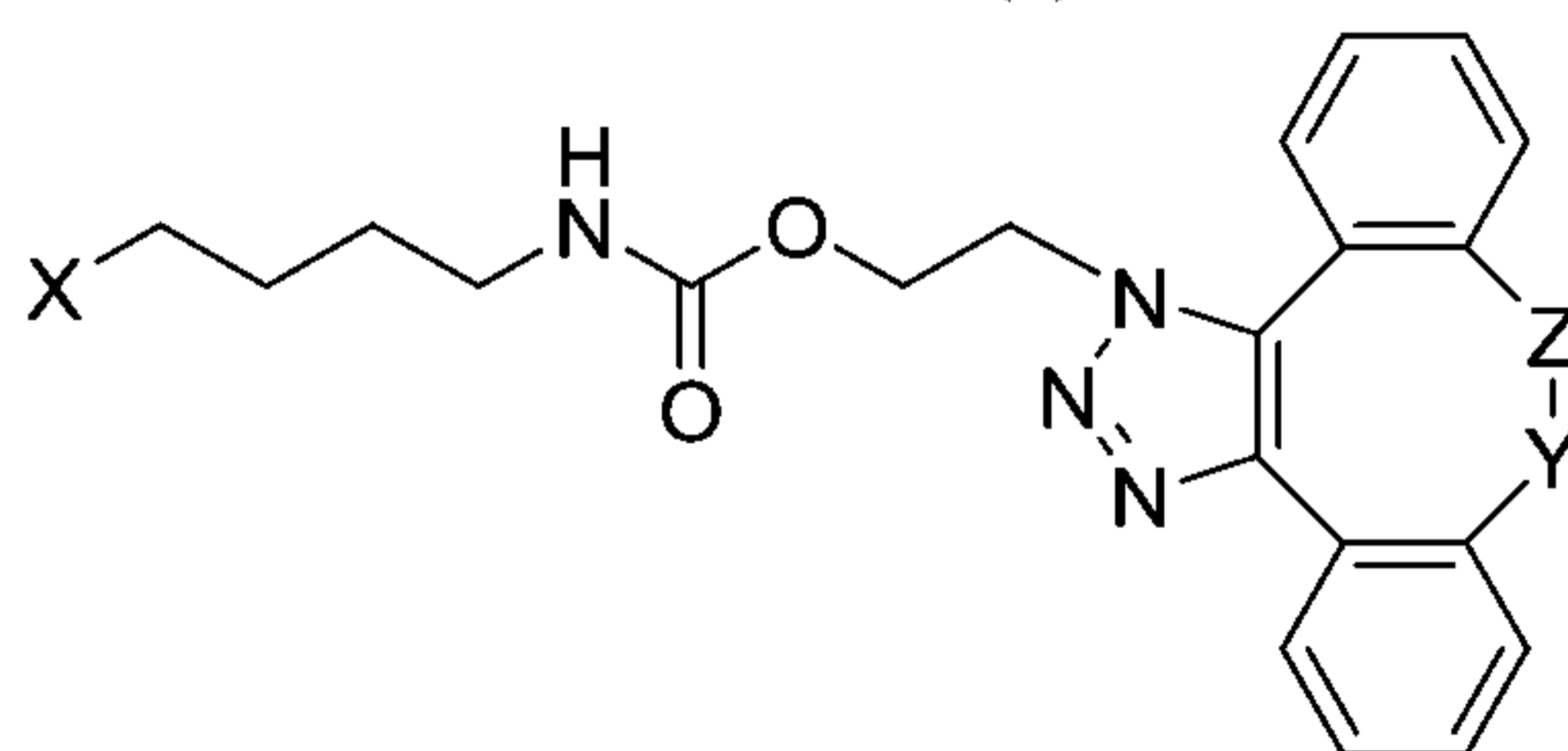
**X** = 包括一非天然胺基酸的位置

**[AzK]** = N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸，具有化學文摘社登記號 1167421-25-1。

**[AzK\_PEG]** =經由 DBCO-媒介的點擊化學與 PEG 穩定接合之 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸，形成一包括式(II)或式(III)結構的化合物。例如，若指定，PEG5kD 係指端點連接甲氧基基團，具有 5 千道爾頓之平均分子量的直鏈聚乙二醇鏈。從點擊反應所產生的位置異構物比率為大約 1:1 或大於 1:1。術語「DBCO」係指包括二苯并環辛炔基團之化學基團，例如包括實例 2 流程 1 中所示的 mPEG-DBCO 化合物。甲氧基 PEG 基團之例示結構係如實例 2 流程 1 中所示的 mPEG-DBCO。

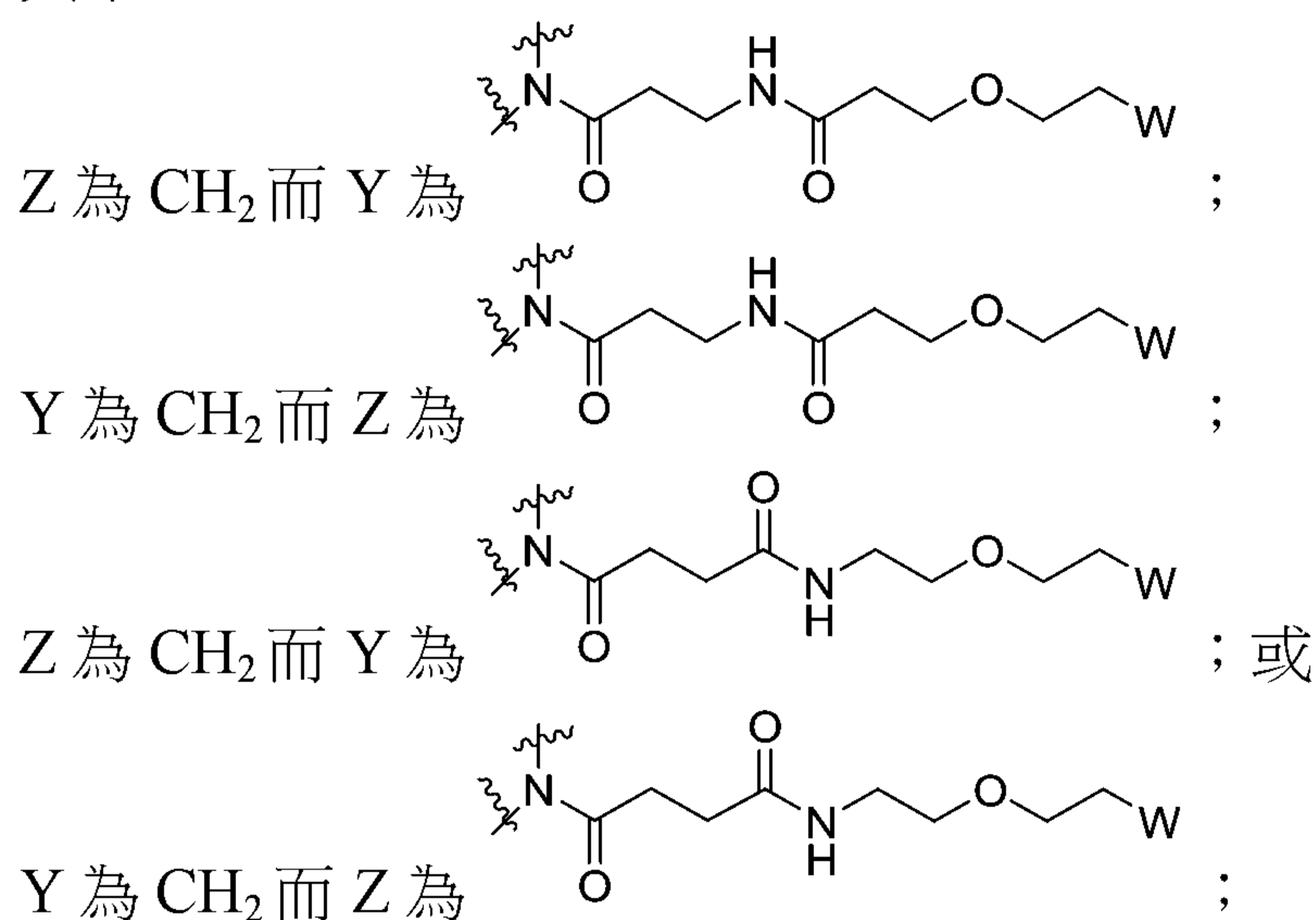
**[AzK\_L1\_PEG]** = 經由 DBCO-媒介的點擊化學與 PEG 穩定接合之 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸，形成一包括式(IV)或式(V)結構的化合物。例如，若指定，PEG5kD 係指端點連接甲氧基基團，具有 5 千道爾頓之平均分子量的直鏈聚乙二醇鏈。從點擊反應所產生的位置異構物比率為大約 1:1 或大於 1:1。術語「DBCO」係指包括二苯并環辛炔基團之化學基團，例如包括實例 2 流程 1 中所示的 mPEG-DBCO 化合物。

**【0087】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，其中至少一個 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(I)之結構置換：



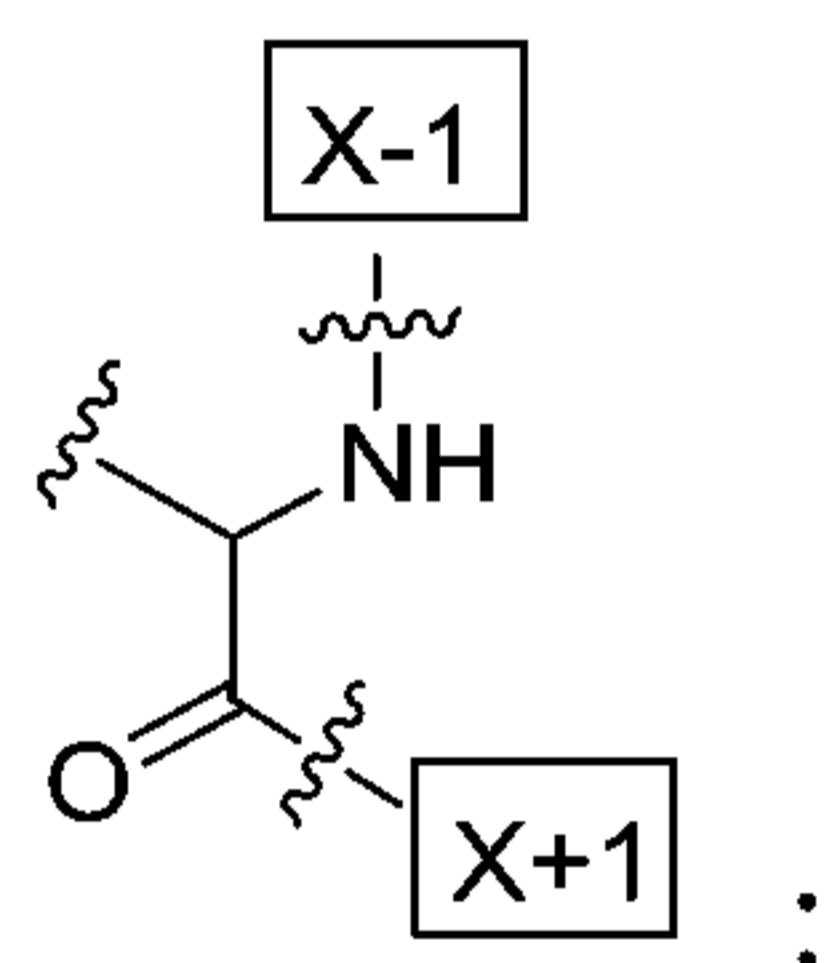
式(I)；

其中：



W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



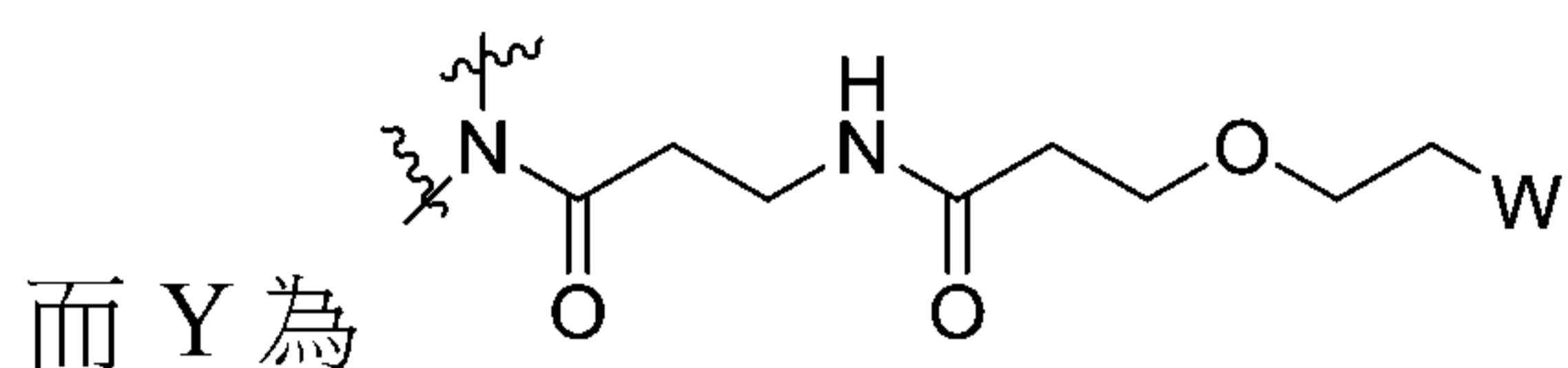
X-1 係指與前面的胺基酸殘基連接的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點。

**【0088】** 本處及全文，術語「IL-2 接合物」係包含所指結構之醫藥上可接受鹽類、溶劑合物和水合物。

**【0089】** 本處及全文，式(I)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，式(I)之結構或其任何具體實例或任何變體，係以其醫藥上可接受鹽提供。在某些具體實例中，式(I)之結構或其任何具體實例或任何變體係以其溶劑合物來提供。在某些具體實例中，式(I)之結構或其任何具體實例或任何變體係以其水合物來提供。在某些具體實例中，式(I)之結構或其任何具體實例或任何變體係以游離鹼來提供。

【0090】 在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中 Z 為 CH<sub>2</sub>

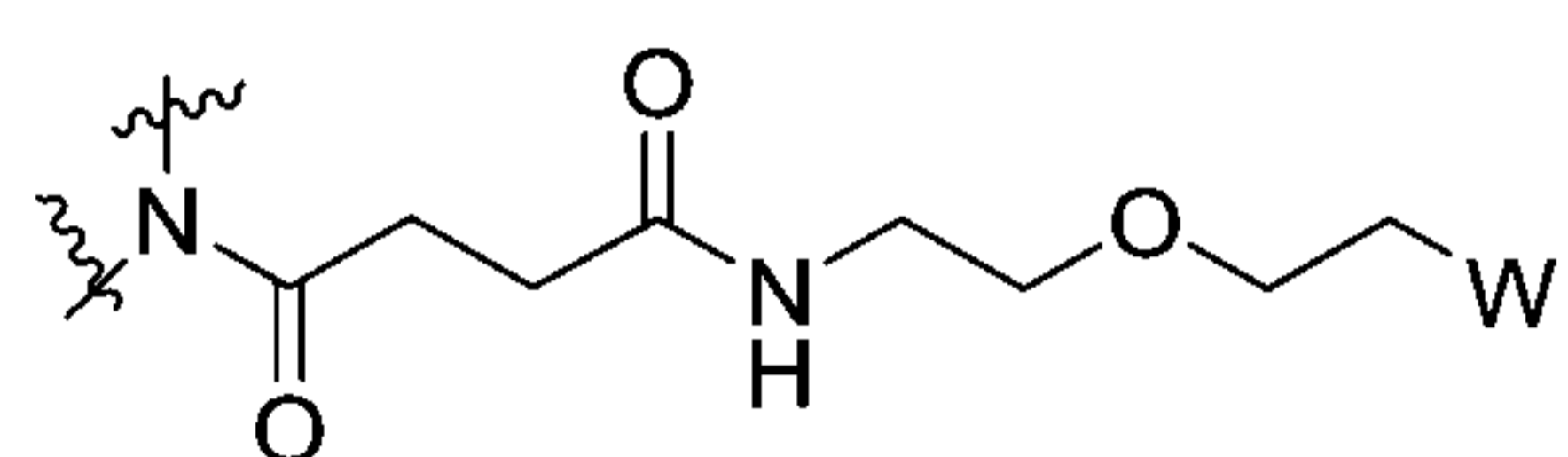


。在文中所述的方法之某些具體實例中，在

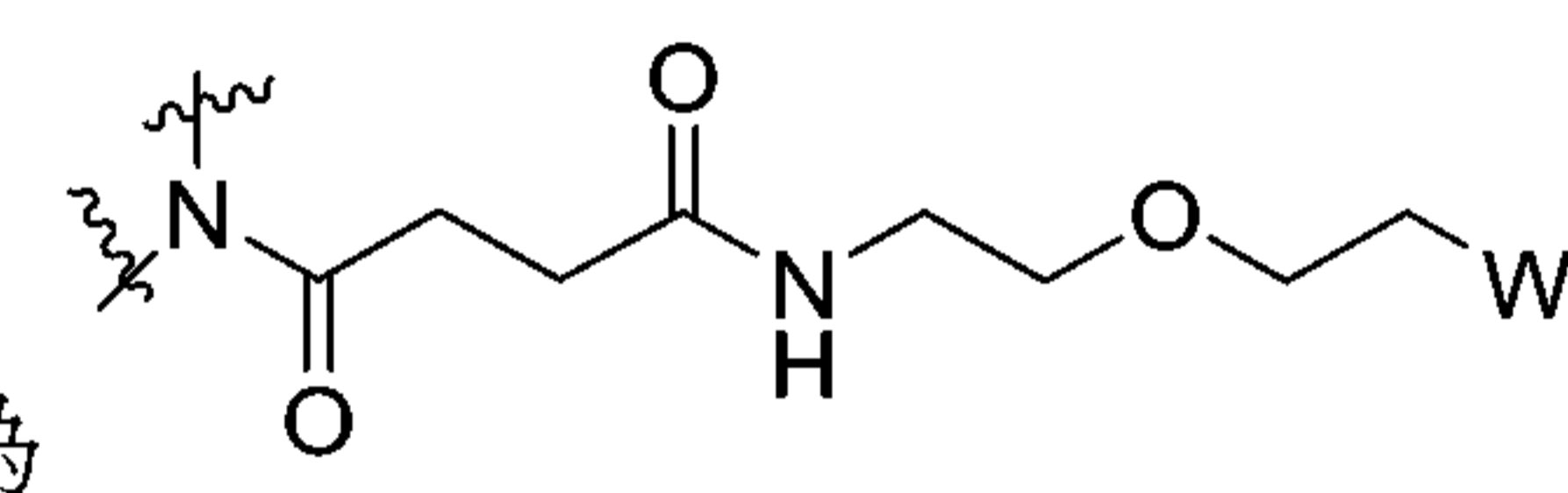
IL-2 接合物中 IL-2 接合物 Y 為 CH<sub>2</sub> 而 Z 為 。在文中

所述的方法之某些具體實例中，Z 為 CH<sub>2</sub> 而 Y 為 。

在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中 Z 為 CH<sub>2</sub> 而 Y 為



。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接

合物中 Y 為 CH<sub>2</sub> 而 Z 為 。本處及全文，Z 和 Y 的具

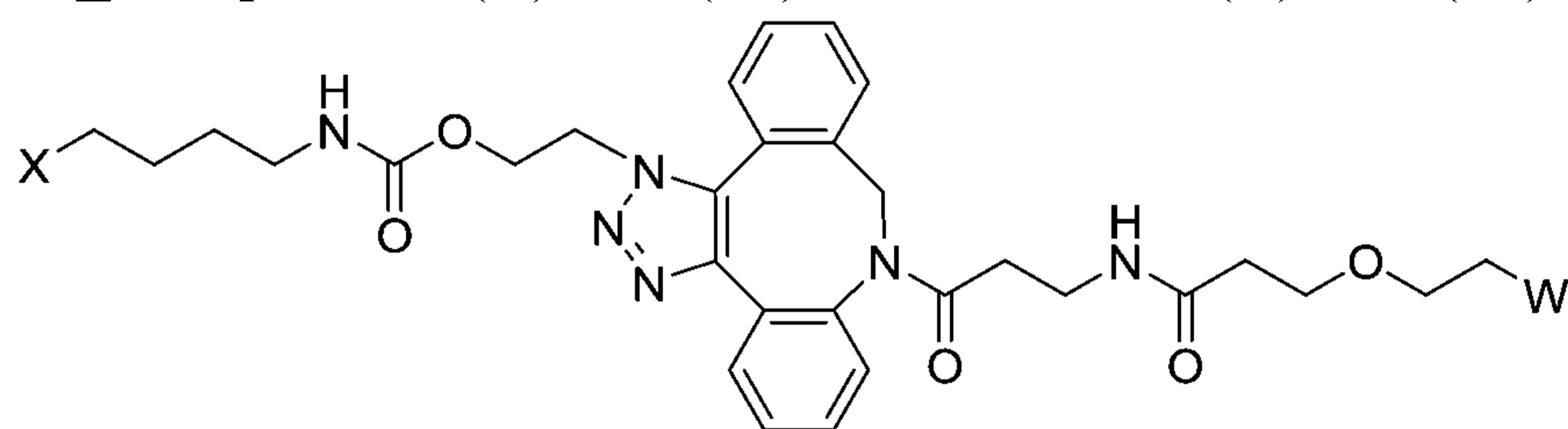
體實例亦包含其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0091】 在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中 PEG 基團具有選自 5kDa、10kDa、20 kDa 和 30kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中 PEG 基團具有 5kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中 PEG 基團具有 10kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中 PEG 基團具有 15kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此等方法係使用 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 20kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 25kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 30kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 35kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 40kDa 之平均分子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 45kDa 之平均分

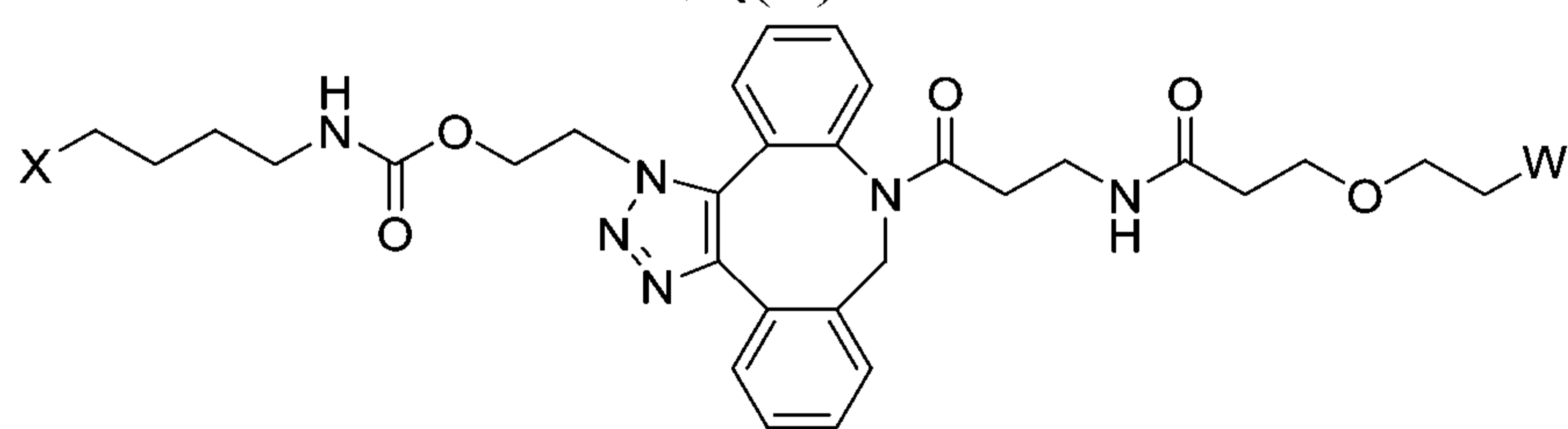
子量。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 50kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 60kDa 之平均分子量。

【0092】在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中式(I)結構在 IL-2 接合物之胺基酸序列中的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中式(I)結構的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。在文中所述的方法之某些具體實例中，在 IL-2 接合物中式(I)結構在 IL-2 接合物之胺基酸序列中的位置係選自 F41、E61 及 P64，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中式(I)結構的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。

【0093】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)一 IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：15-19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]具有式(II)或式(III)之結構，或式(II)和式(III)之混合物。



式(II)；

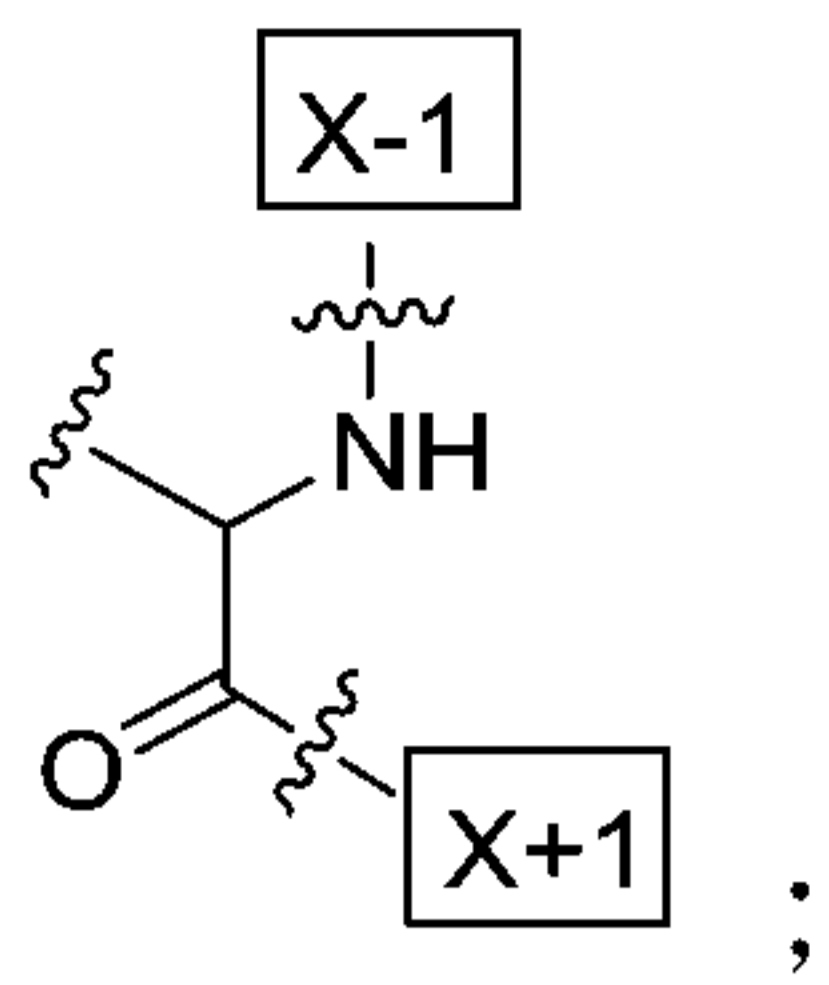


式(III)；

其中：

W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

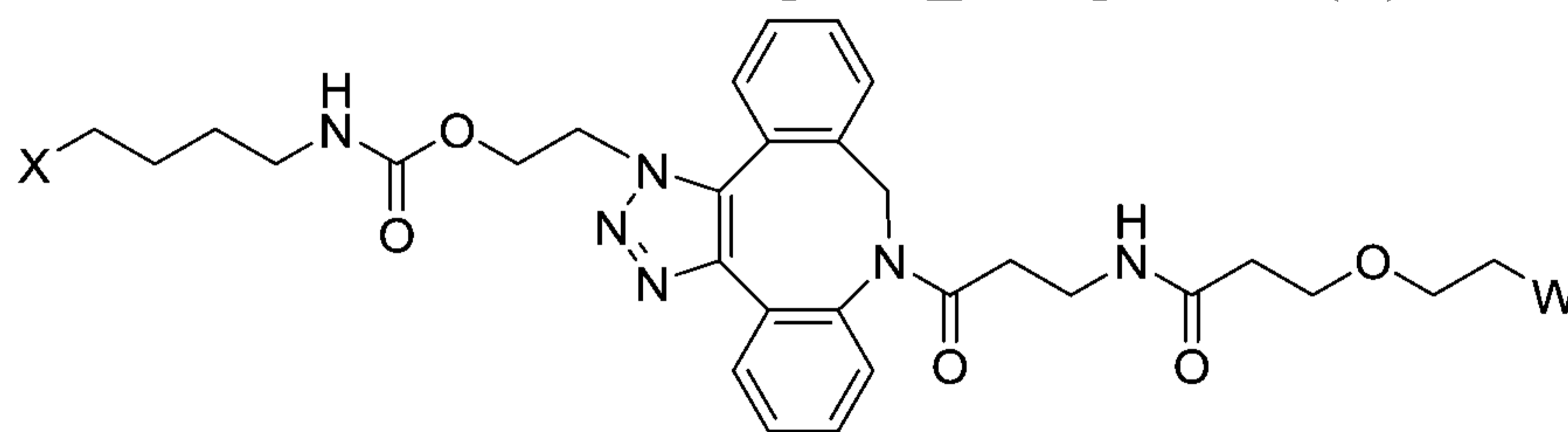
X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0094】 本處及全文，式(II)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文，式(III)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。

【0095】 在某些具體實例中，此[AzK\_PEG]為式(II)和式(III)之混合物。

【0096】 在某些具體實例中，此[AzK\_PEG]具有式(II)之結構：



式(II)。

【0097】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 及 30kDa。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0098】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：16 之胺基酸序列。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在

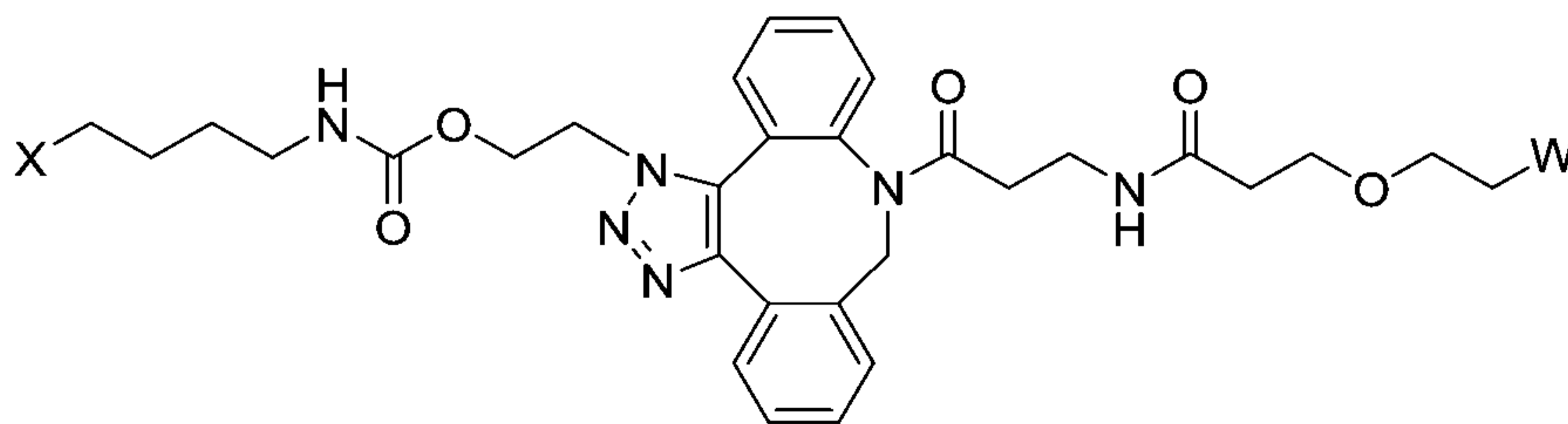
式(II)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0099】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：17 之胺基酸序列。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0100】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一 PEG 基團具有 30kDa 之平均分子量。

【0101】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：19 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(II)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0102】 在某些具體實例中，此[AzK\_PEG]具有式(III)之結構





式(III)。

【0103】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0104】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：16 之胺基酸序列。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0105】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：17 之胺基酸序列。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0106】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列。在某些具體實例中，W 在式(III)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子

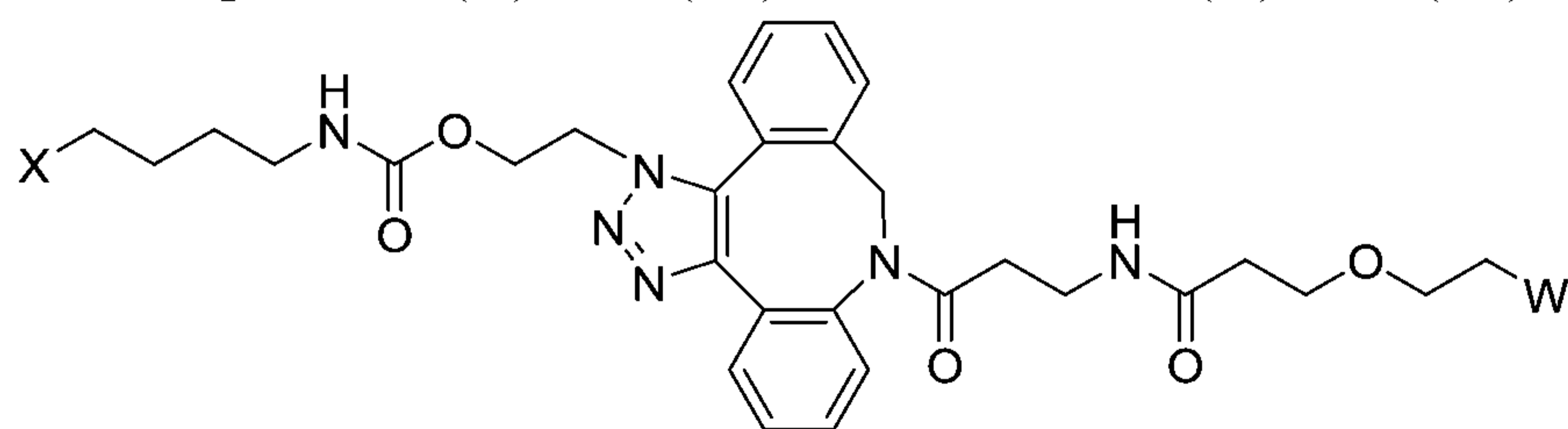
量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

**【0107】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：19 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(III)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

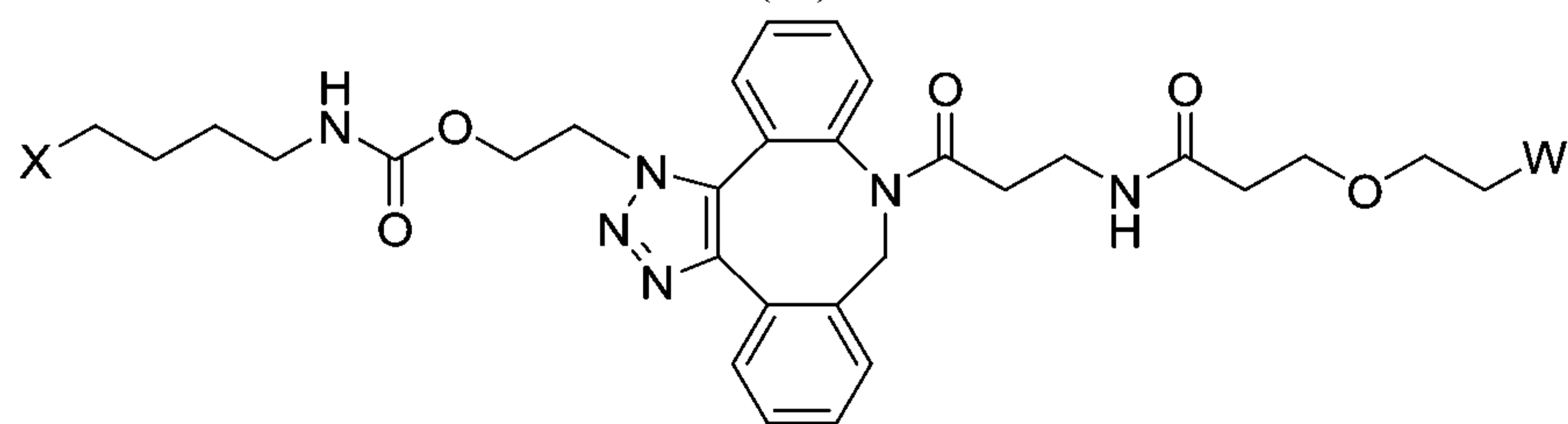
**【0108】** 在文中所揭示的方法之某些具體實例中，係使用一具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 [AzK\_PEG] 係含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有選自下列之平均分子量：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中 [AzK\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 5kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中 [AzK\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 10kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中 [AzK\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 15kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中 [AzK\_PEG] 含有一 PEG，而該 PEG 具有 20kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中 [AzK\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 25kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中 [AzK\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 30kDa 之平均分子量。在某些具體實例

中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 35kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 40kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 45kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 50kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 60kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：15、16、17、18 及 19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有選自下列平均分子量：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa 及其中 PEG 基團為一甲氧基 PEG 基團、直鏈甲氧基 PEG 基團或支鏈甲氧基 PEG 基團。

**【0109】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：20-24 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG5kD]具有式(II)或式(III)之結構，或式(II)和式(III)之混合物：



式(II)；

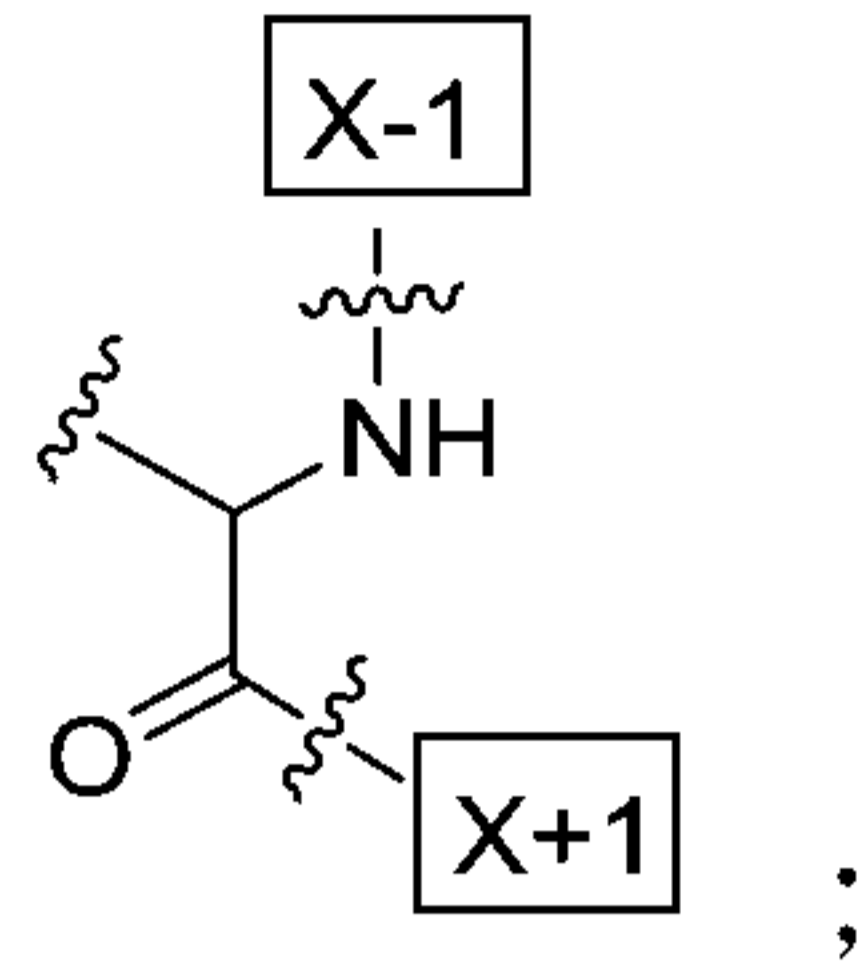


式(III)；

其中：

W 為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



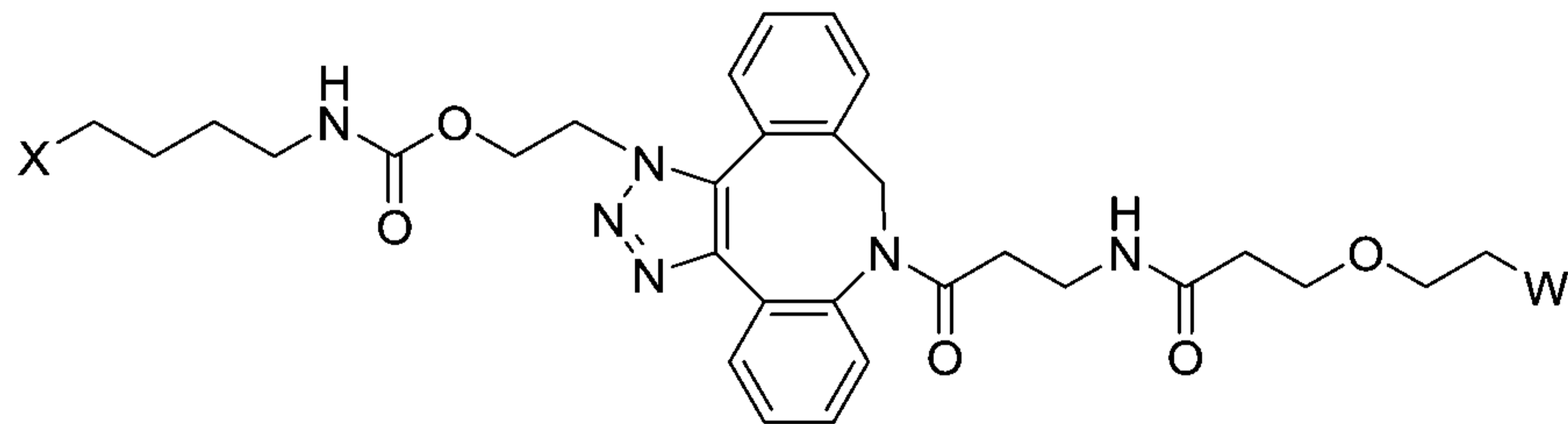
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0110】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 L-2 接合物具有 SEQ ID NO：21 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：24 之胺基酸序列。

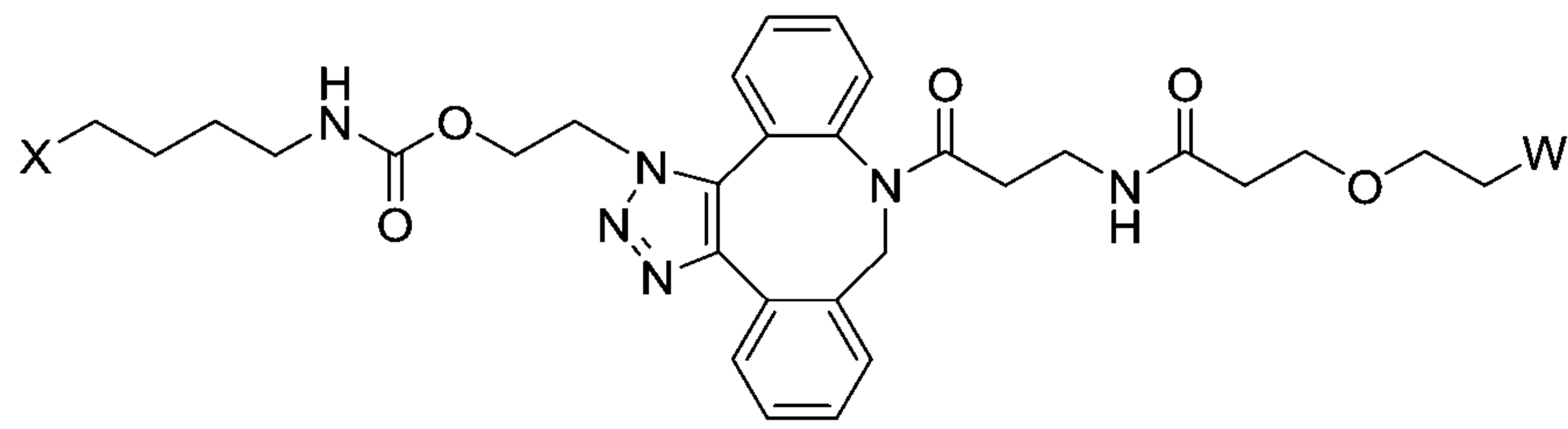
**【0111】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中此 [AzK\_PEG5kD] 具有式(II)之結構



式(II)。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：21 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：24 之胺基酸序列。

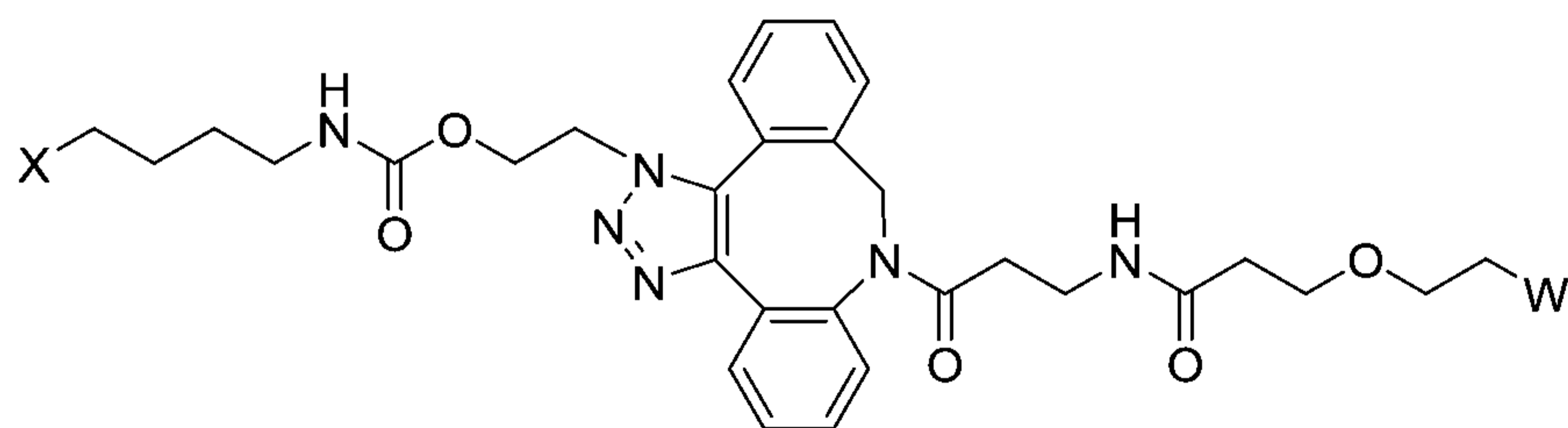
**【0112】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_PEG5kD] 具有式(III)之結構



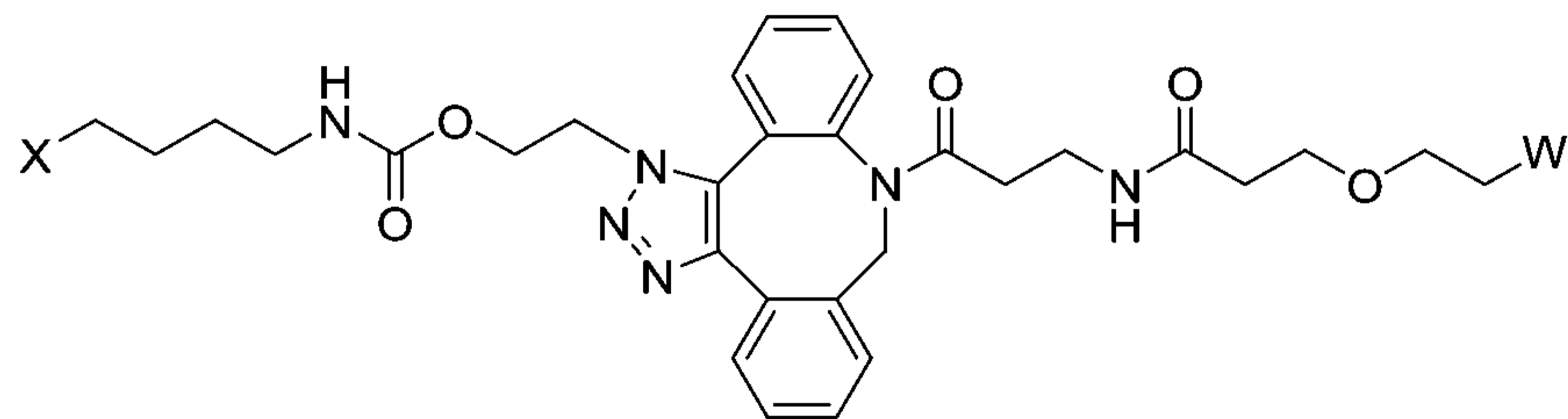
式(III)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：21 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：24 之胺基酸序列。

**【0113】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：25-29 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG30kD]具有式(II)或式(III)之結構，或為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

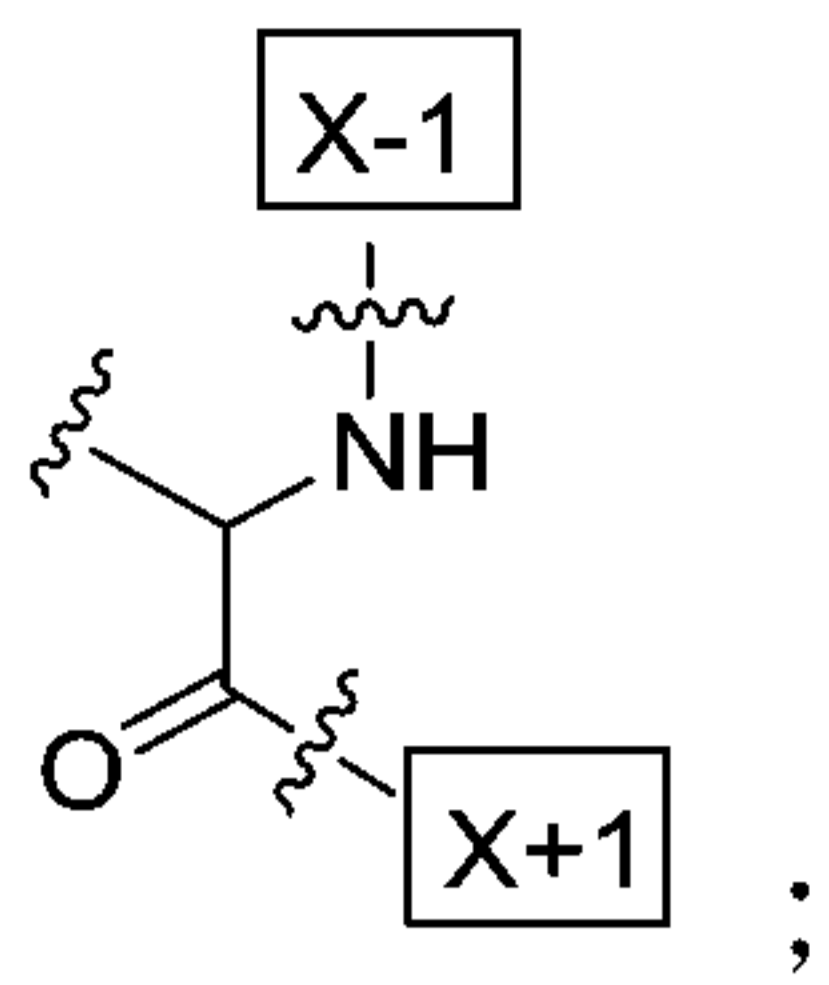


式(III)；

其中：

W 為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



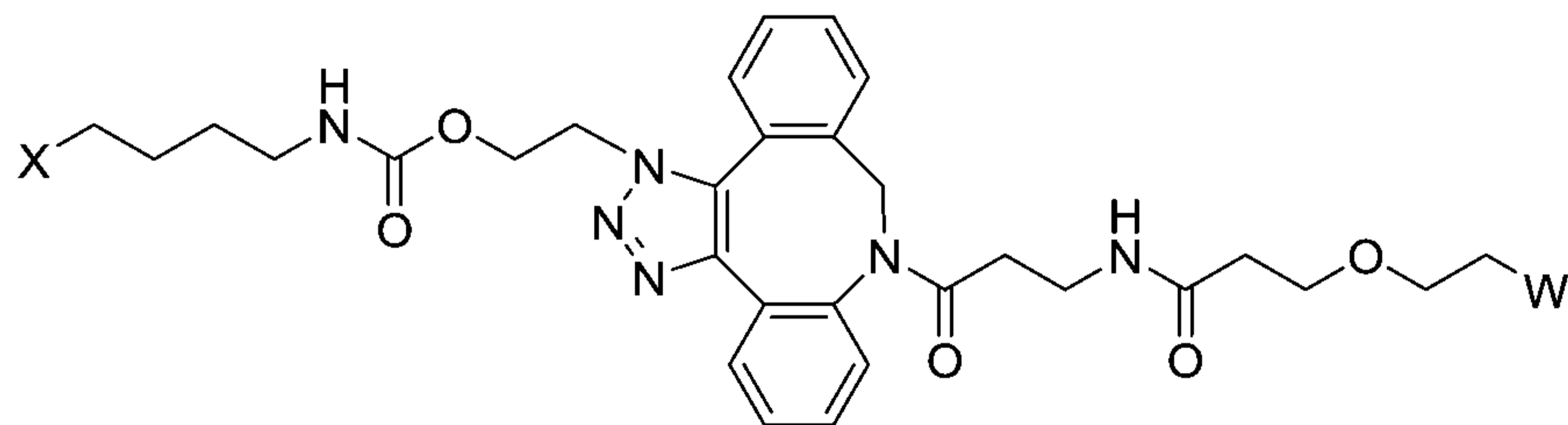
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0114】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列。

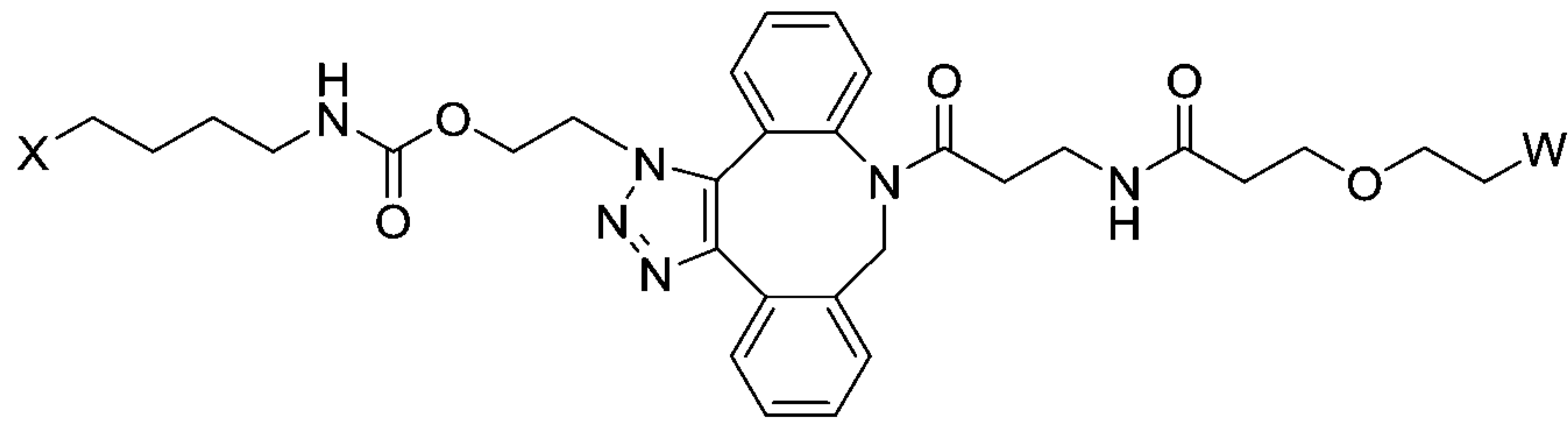
【0115】 在某些具體實例中，文中所揭示的方法係使用一 IL-2 接合物，其中該[AzK\_PEG30kD]具有式(II)之結構：



式(II)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列。

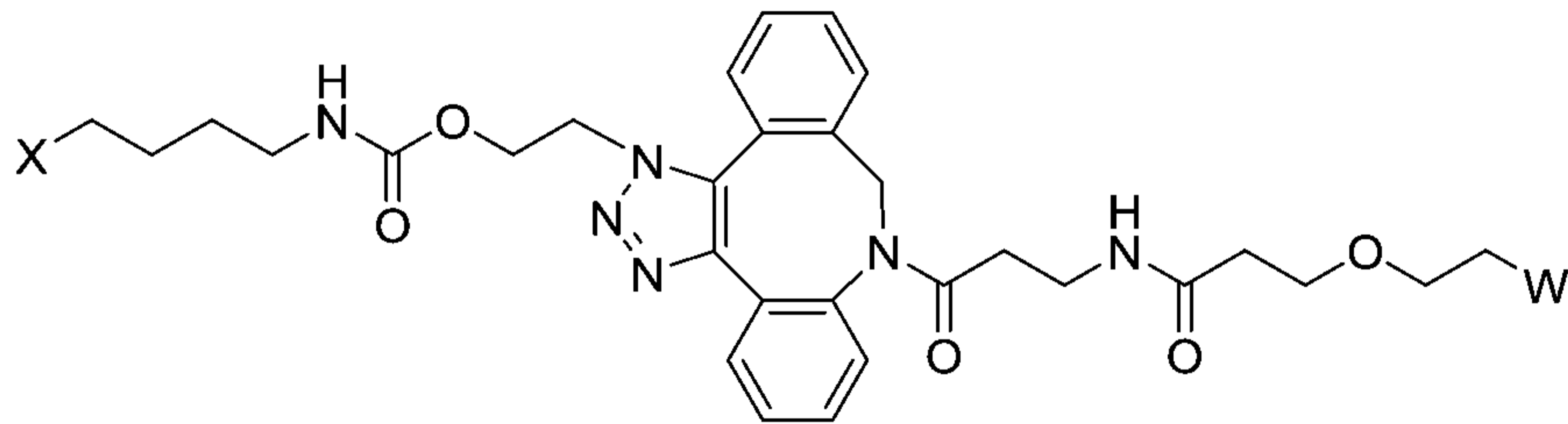
【0116】 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該[AzK\_PEG30kD]具有式(III)之結構



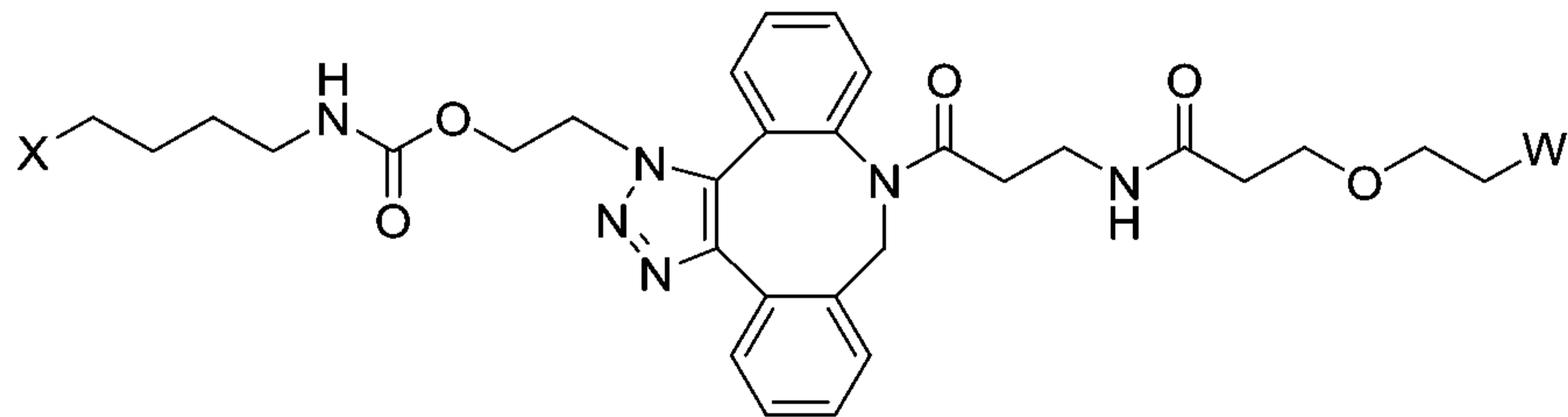
式(III)。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列。

**【0117】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：15-19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]為一式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

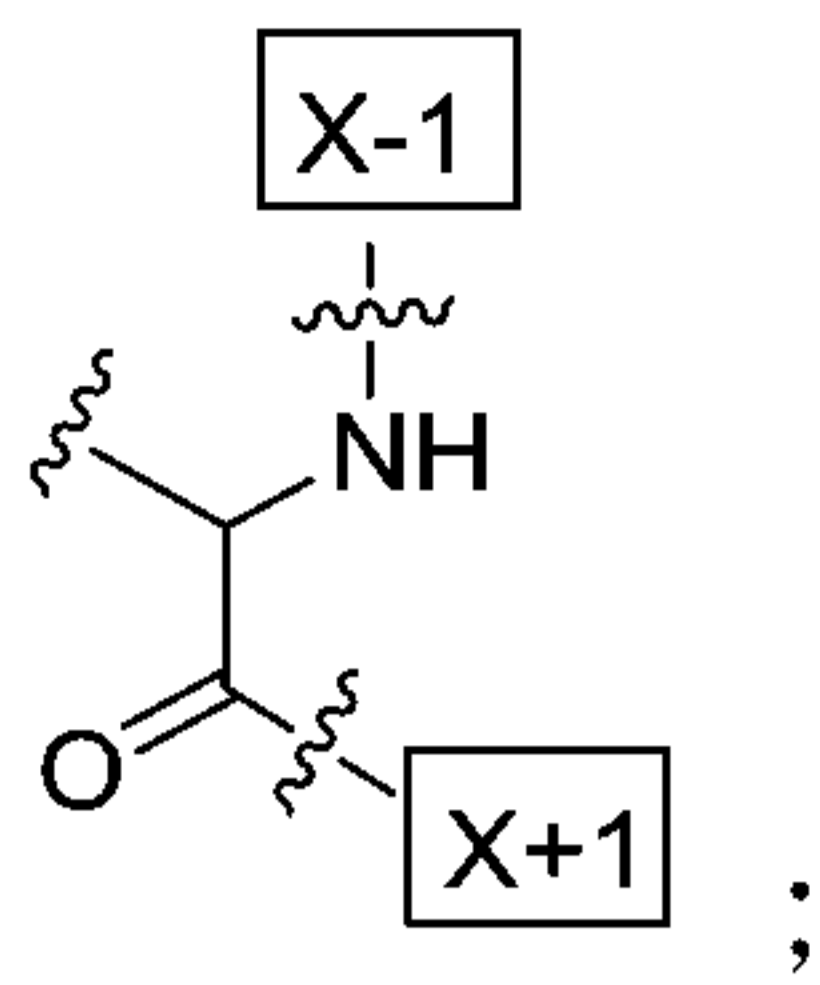


式(III)；

其中：

W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



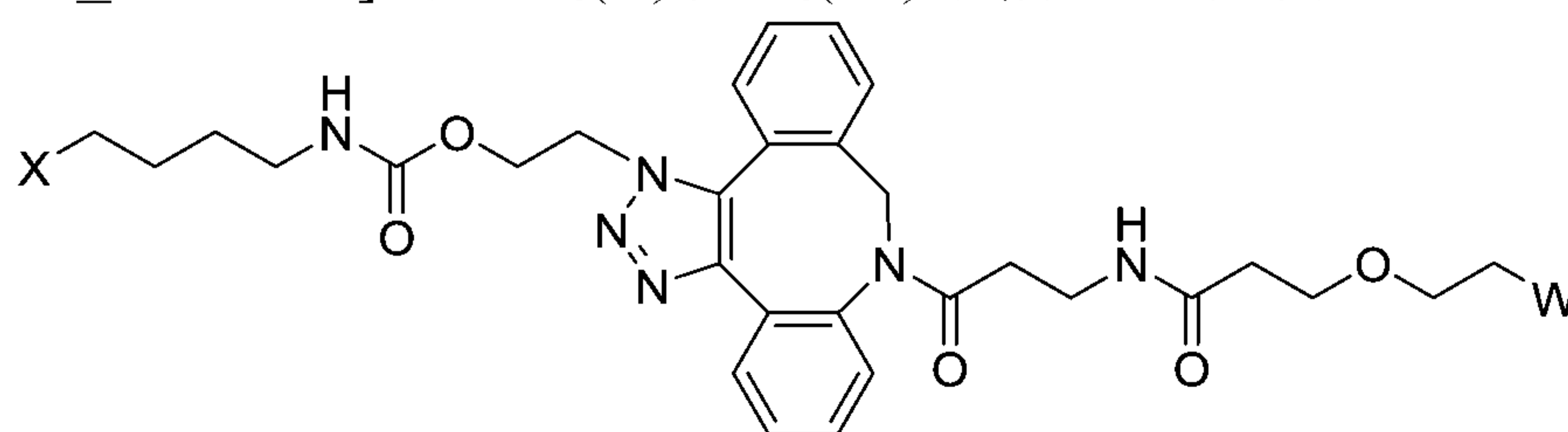
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

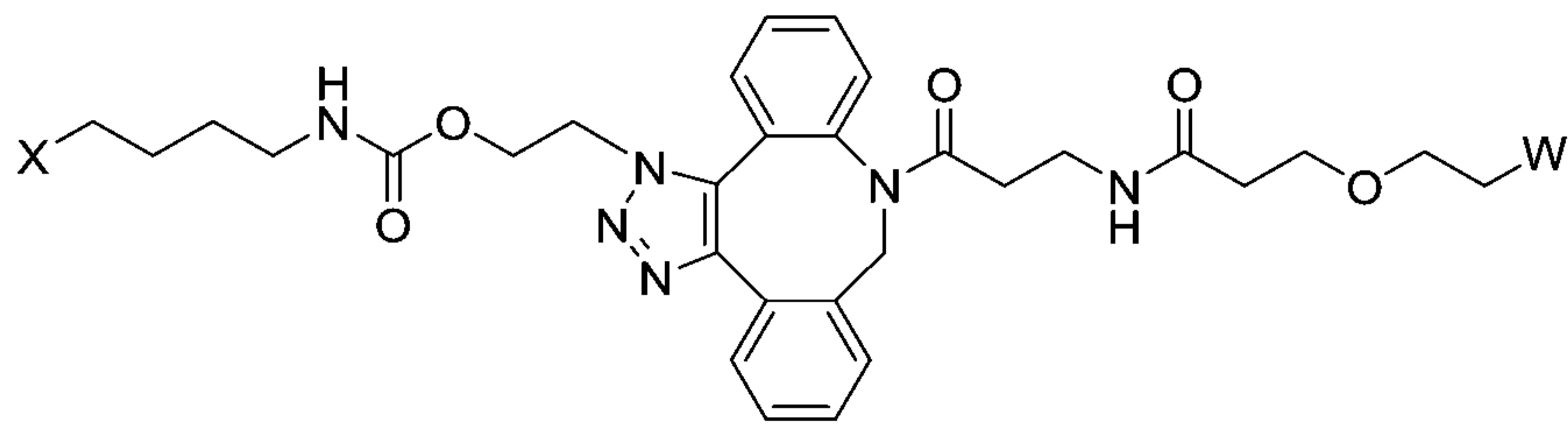
【0118】 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG]的總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG]的總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG]的總量，係低於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 為一直鏈或支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 為直鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 為支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 為甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈或支鏈。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該甲氧基 PEG 基團為支鏈。

【0119】 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)一 IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：20 至 24 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG5kD]為一式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；



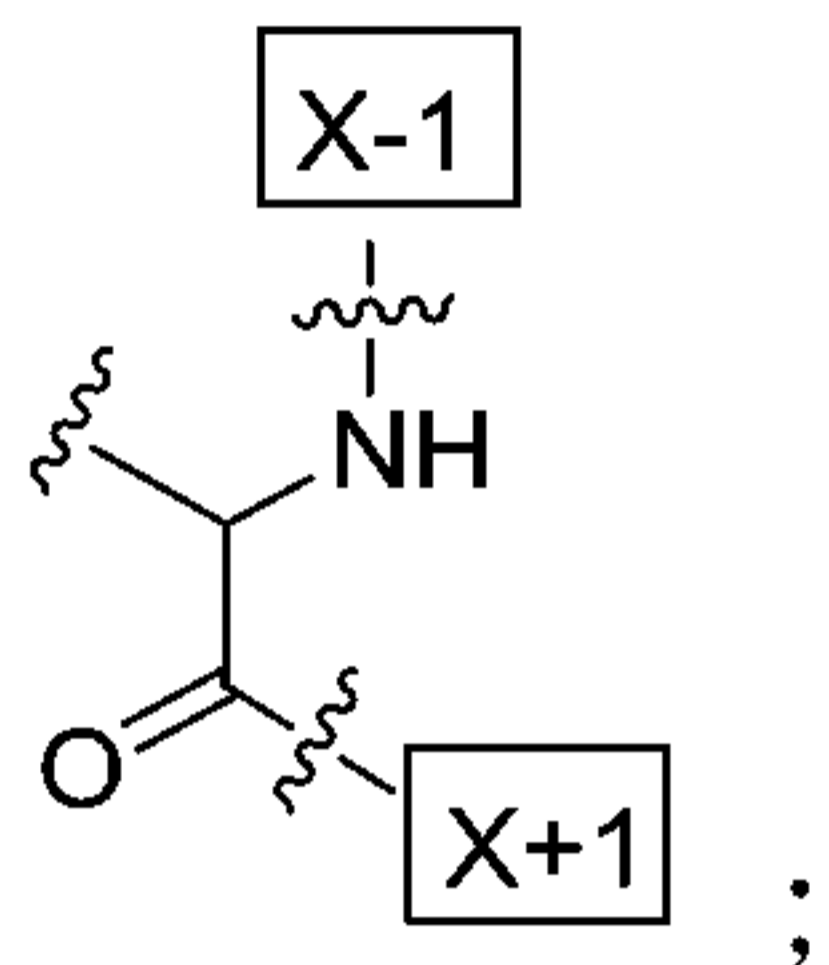


式(III)；

其中：

W 為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



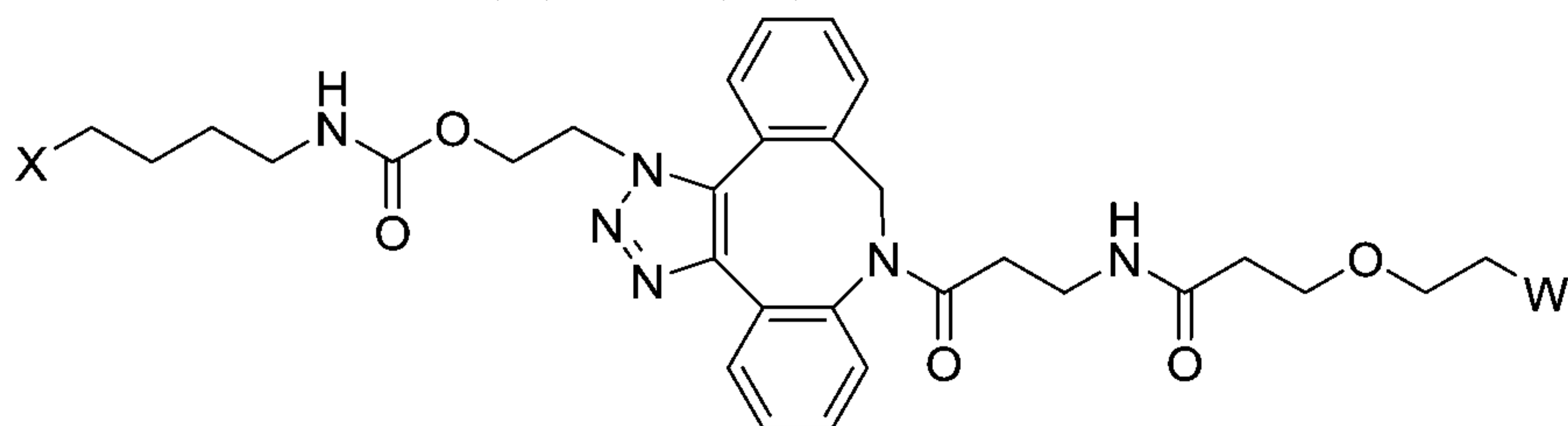
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

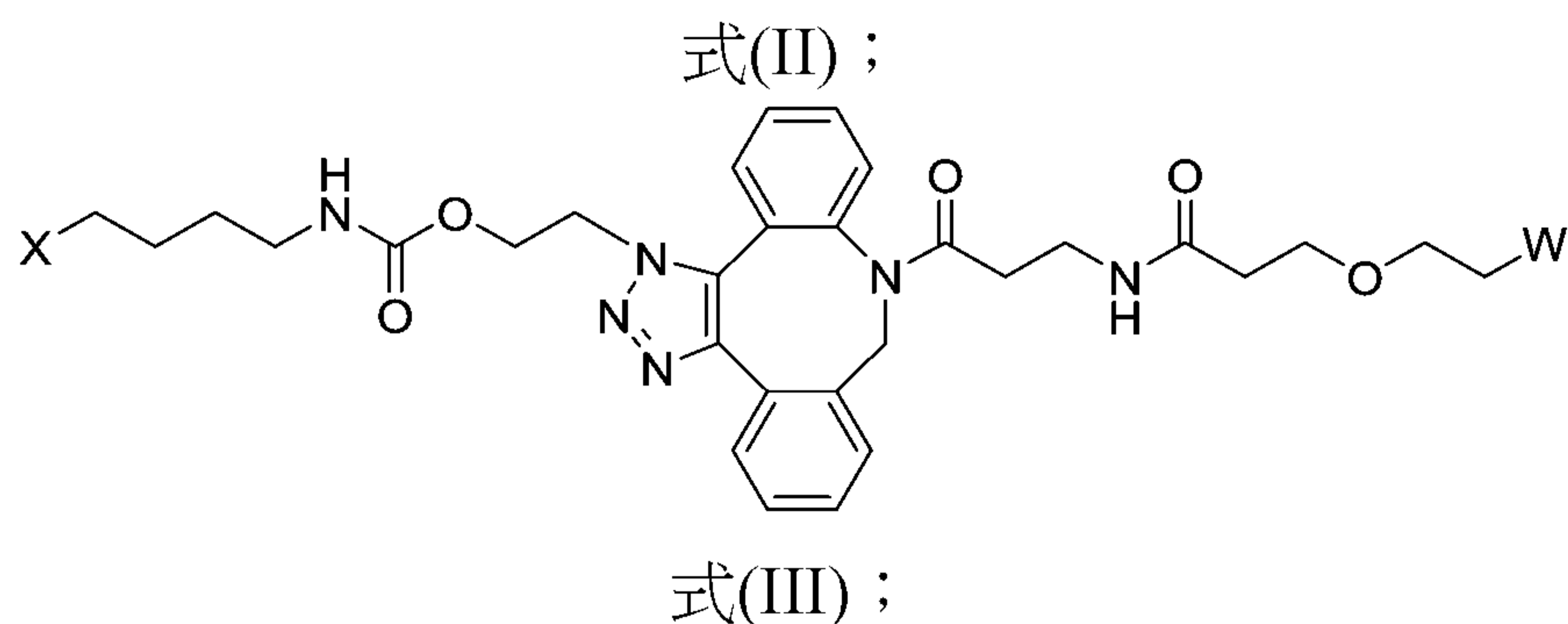
X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0120】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG5kD]的總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG5kD]的總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG5kD]的總量，係低於 1：1。

**【0121】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：25-29 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG30kD]為一式(II)和式(III)結構之混合物：

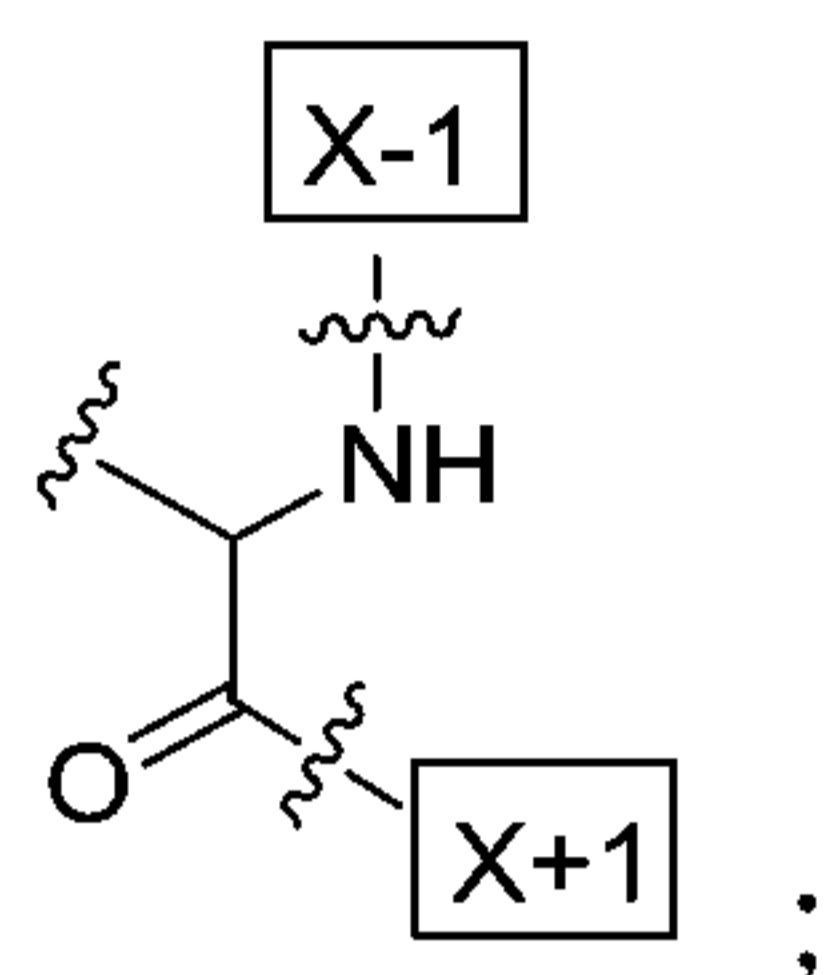




其中：

W 為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

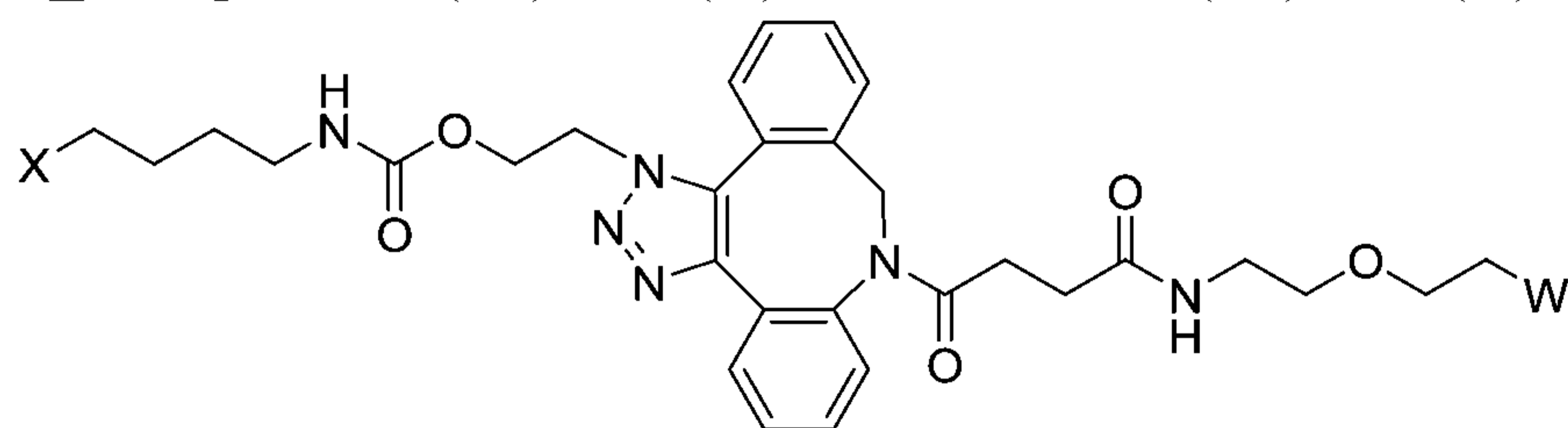
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0122】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG30kD]的總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG30kD]的總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括[AzK\_PEG30kD]的總量，係低於 1：1。

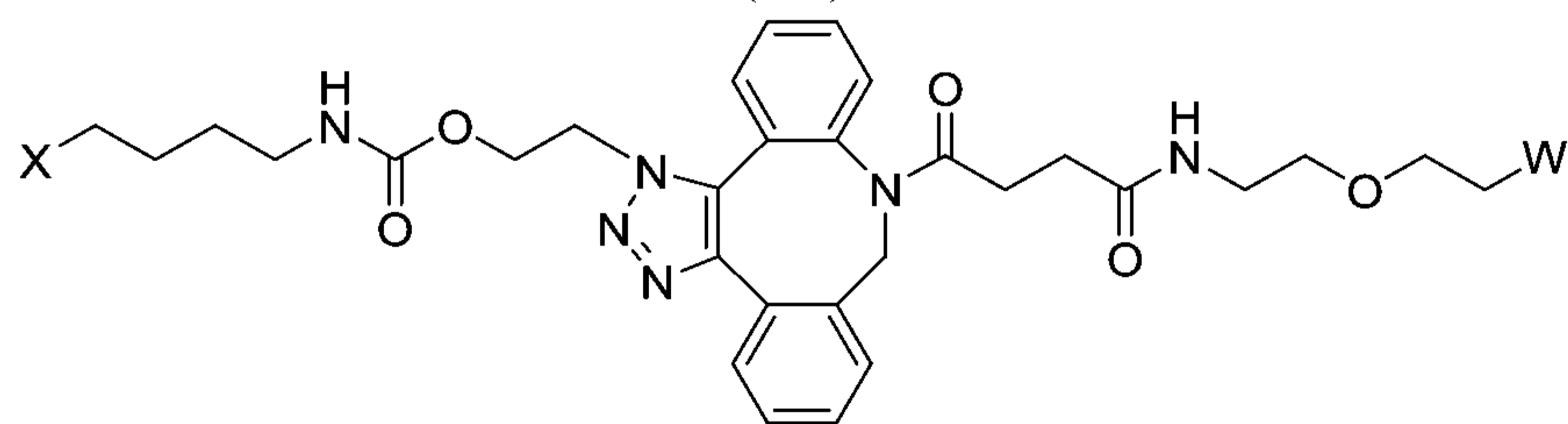
**【0123】** 在某些具體實例中，此方法係使用一文中所述的 IL-2 接合物，IL-2 接合物係包括式(II)之結構或式(III)，或式(II)和式(III)之混合物，其中 W 為一直鏈或支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)或式(III)之結構中為一直鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)或式(III)之結構中為一支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(II)或式(III)之結構中為一甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一

IL-2 接合物，其中 W 在式(II)或式(III)之結構中為一直鏈或支鏈的甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該甲氧基 PEG 基團在式(II)或式(III)之結構中為直鏈。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該甲氧基 PEG 基團在式(II)或式(III)之結構中為支鏈。

【0124】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：40-44 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG]具有式(IV)或式(V)之結構，或式(IV)和式(V)之混合物：



式(IV)；

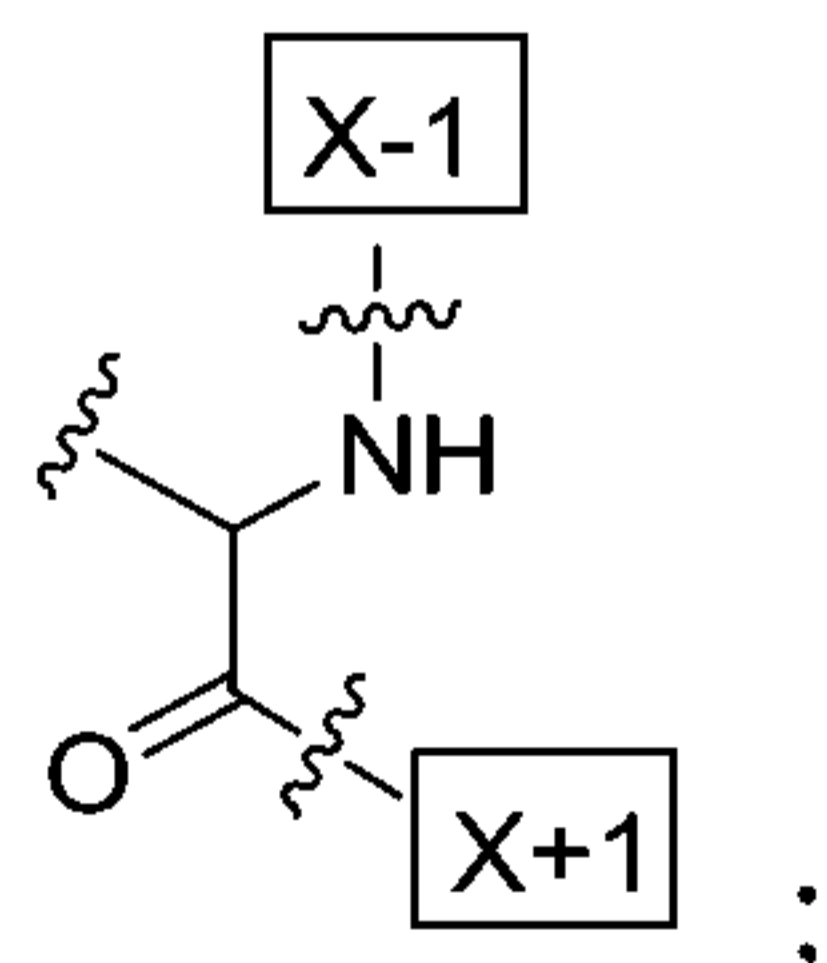


式(V)；

其中：

W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

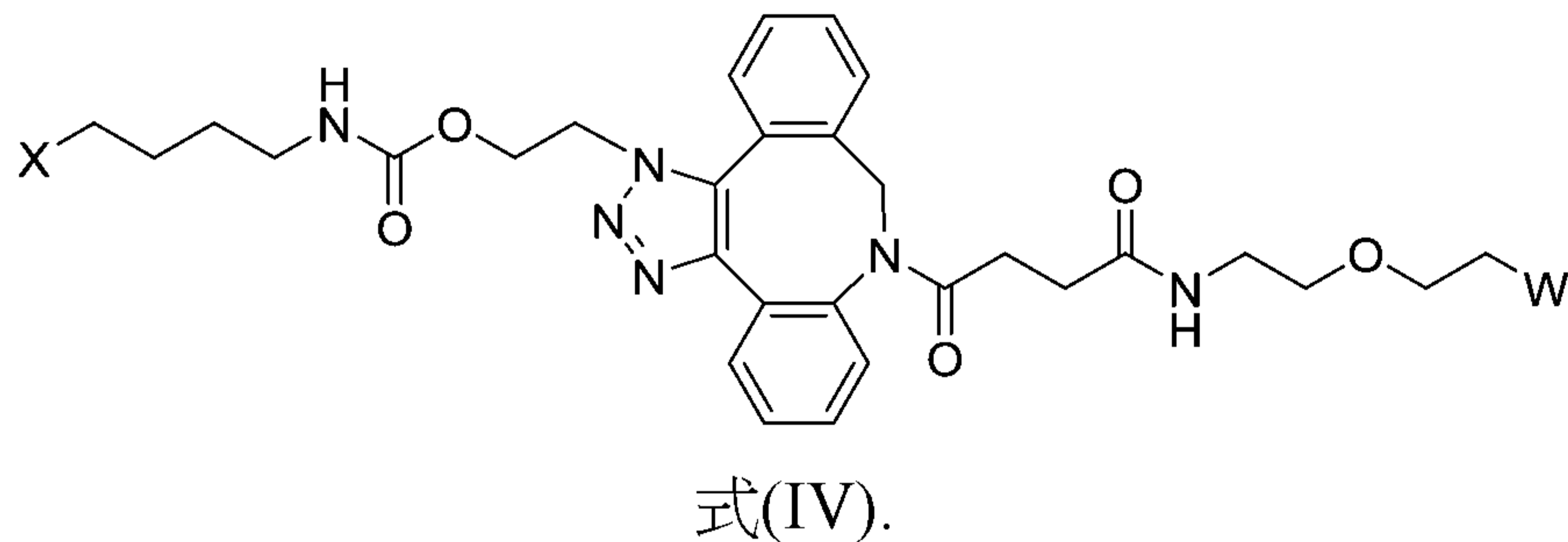
X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0125】本處及全文，式(IV)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文，式(V)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。

【0126】在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_L1\_PEG] 為一式(IV)和式(V)之混合物。

【0127】在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_L1\_PEG] 具有式(IV)之結構：



【0128】在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0129】在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：41 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方

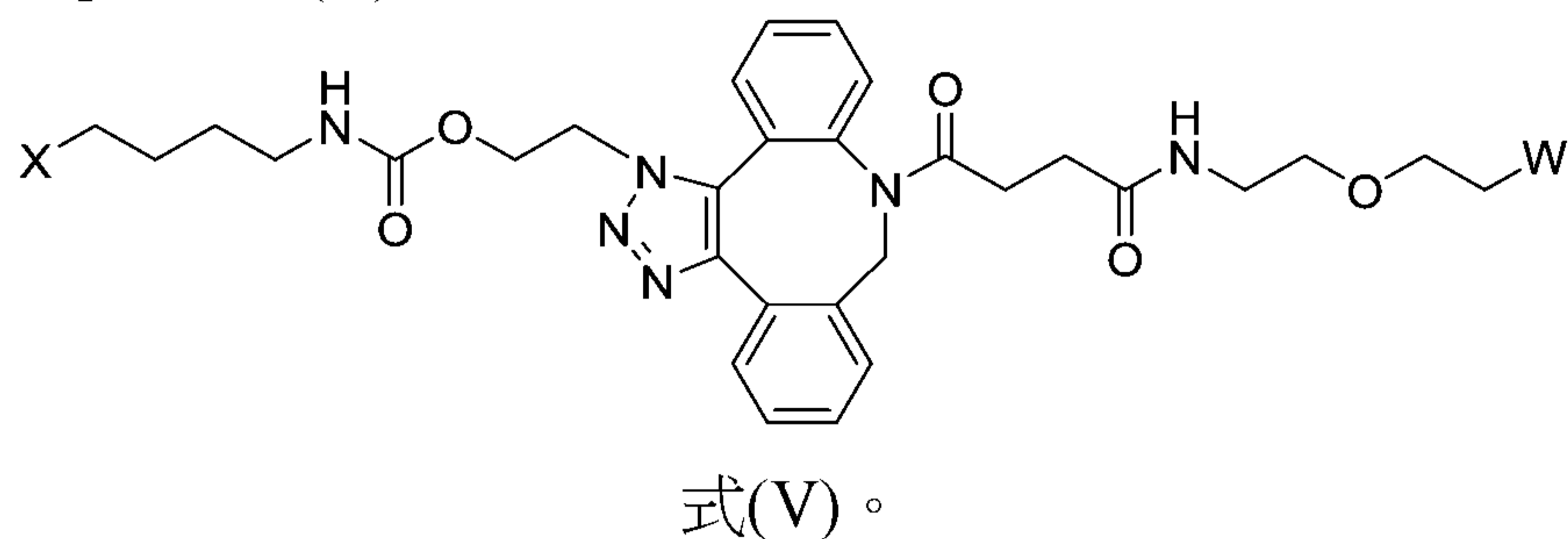
法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

**【0130】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：42 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

**【0131】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：43 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 及 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

**【0132】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：44 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0133】 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_L1\_PEG] 具有式(V)之結構



【0134】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0135】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

【0136】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，

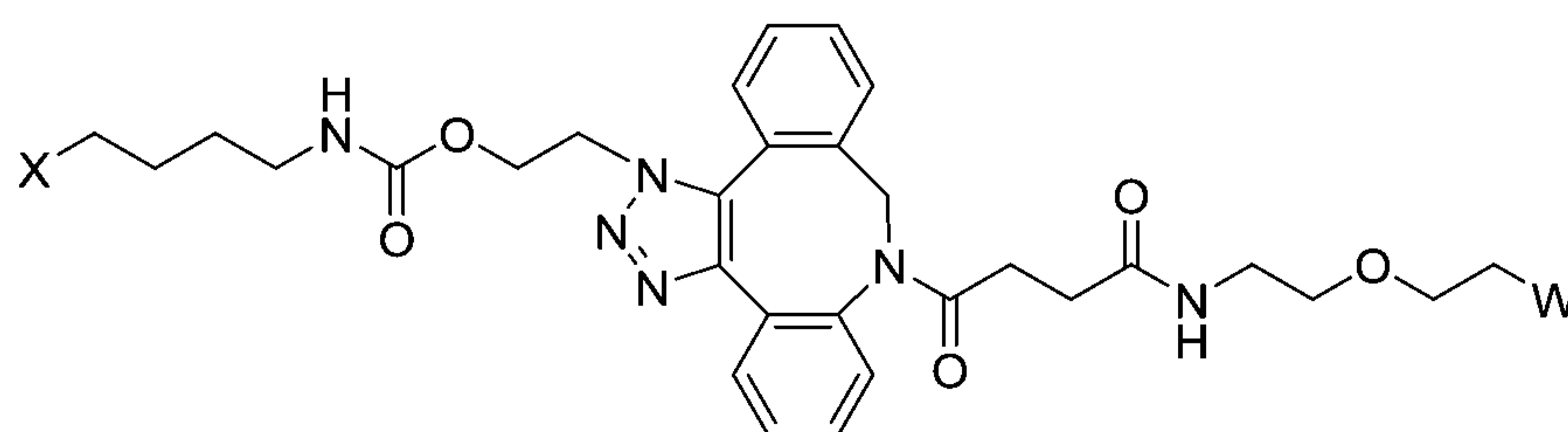
其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

**【0137】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：43 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有選自 5kDa 和 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(V)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

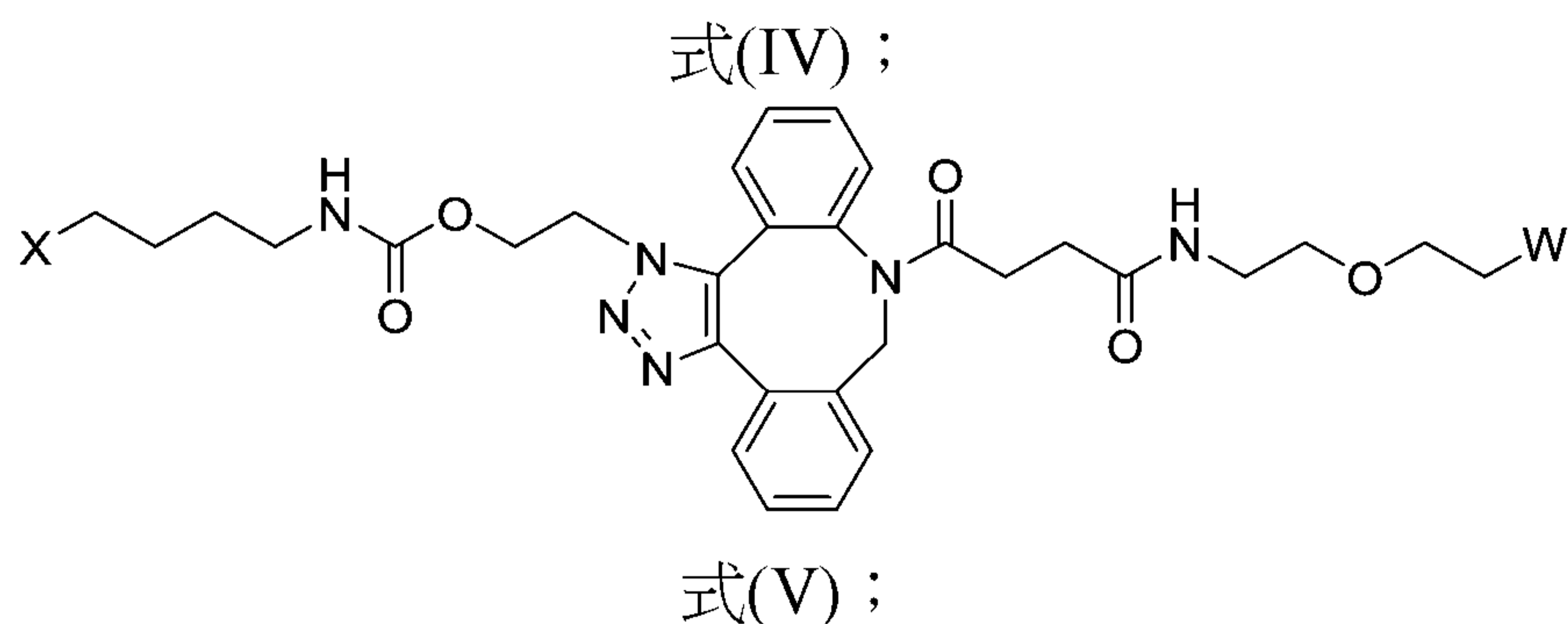
**【0138】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有選自下列之平均分子量：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 5kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG]係含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 10kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 15kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 20kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44，其中[AzK\_L1\_PEG]含有一 PEG 基團，而該 PEG

基團具有 25kDa 之平均分子量。在某些具之胺基酸序列體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 30kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 35kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 40kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 45kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 50kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有 60kDa 之平均分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有選自任一 SEQ ID NO：40、41、42、43 和 44 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG] 含有一 PEG 基團，而該 PEG 基團具有選自下列之平均分子量：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa 且其中 PEG 基團為一甲氧基 PEG 基團，直鏈甲氧基 PEG 基團，或支鏈甲氧基 PEG 基團。

【0139】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS: 45-49 之胺基酸序列，其中 [AzK\_L1\_PEG5kD] 具有式(IV)或式(V)之結構，或式(IV)和式(V)之混合物：



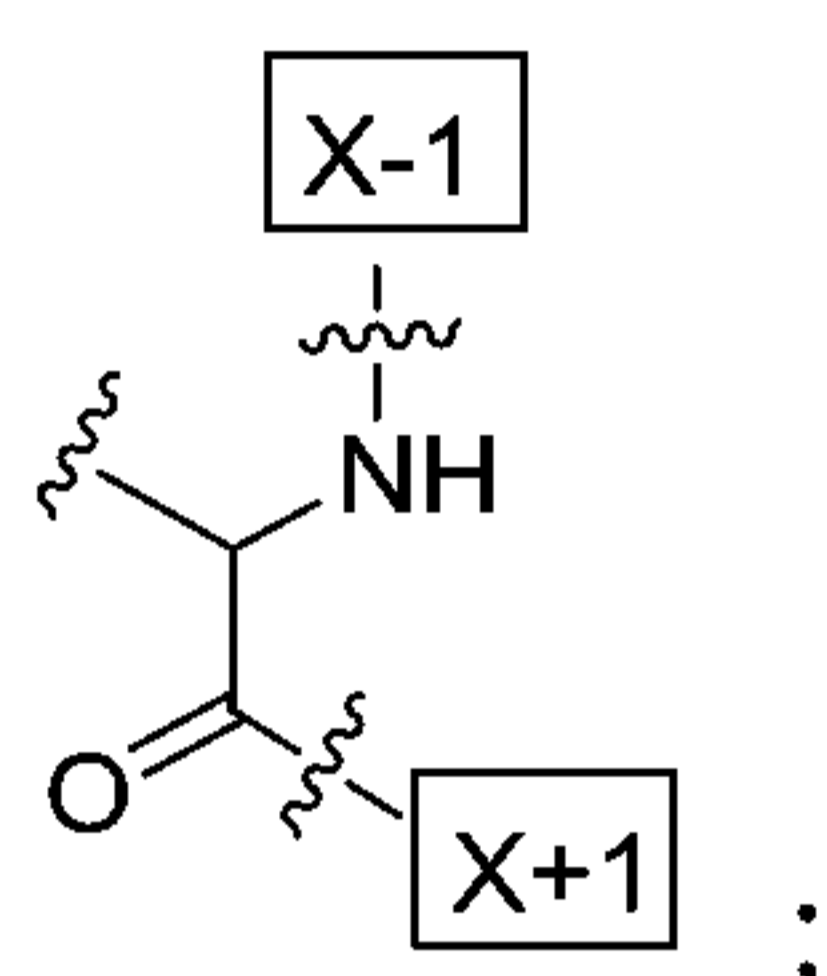




其中：

W 為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



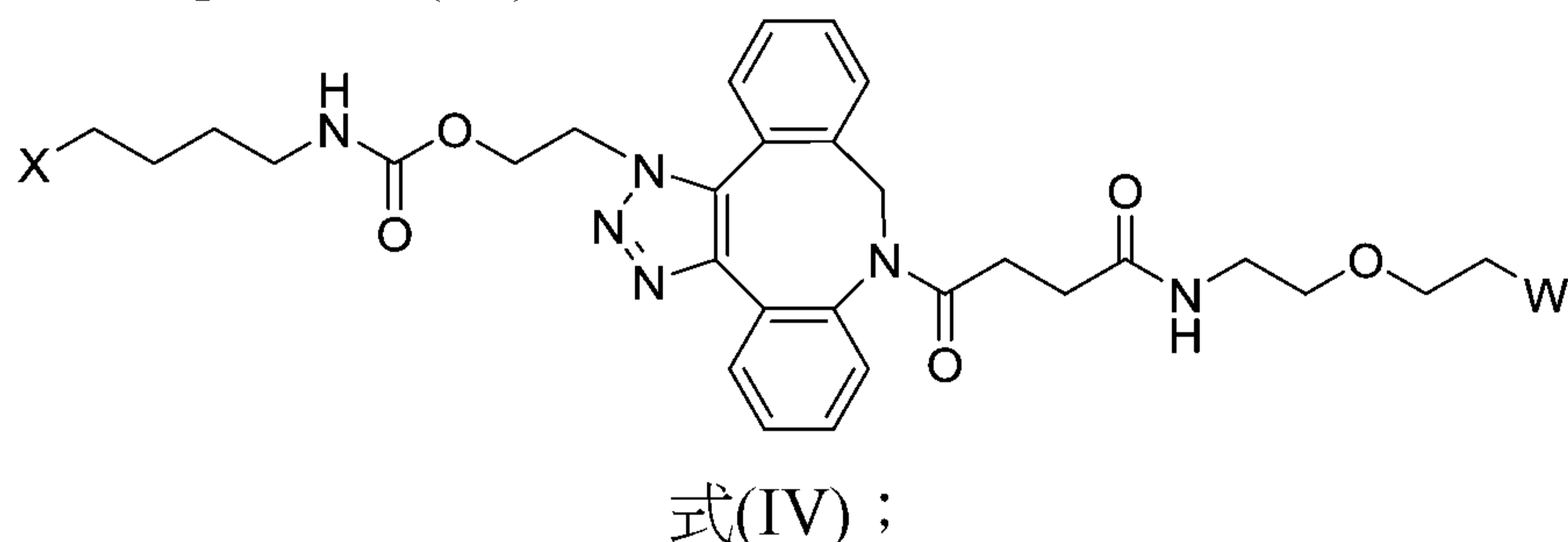
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0140】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：46 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：47 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：48 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：49 之胺基酸序列。

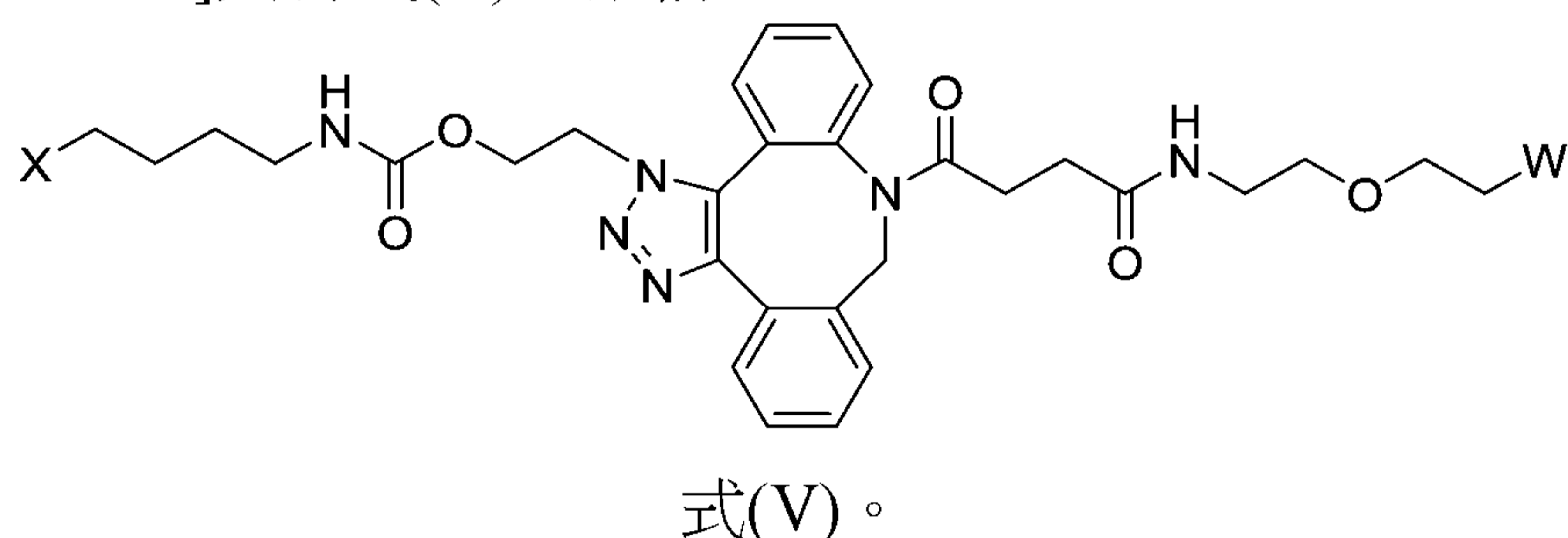
**【0141】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_L1\_PEG5kD] 具有式(IV)之結構



或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具

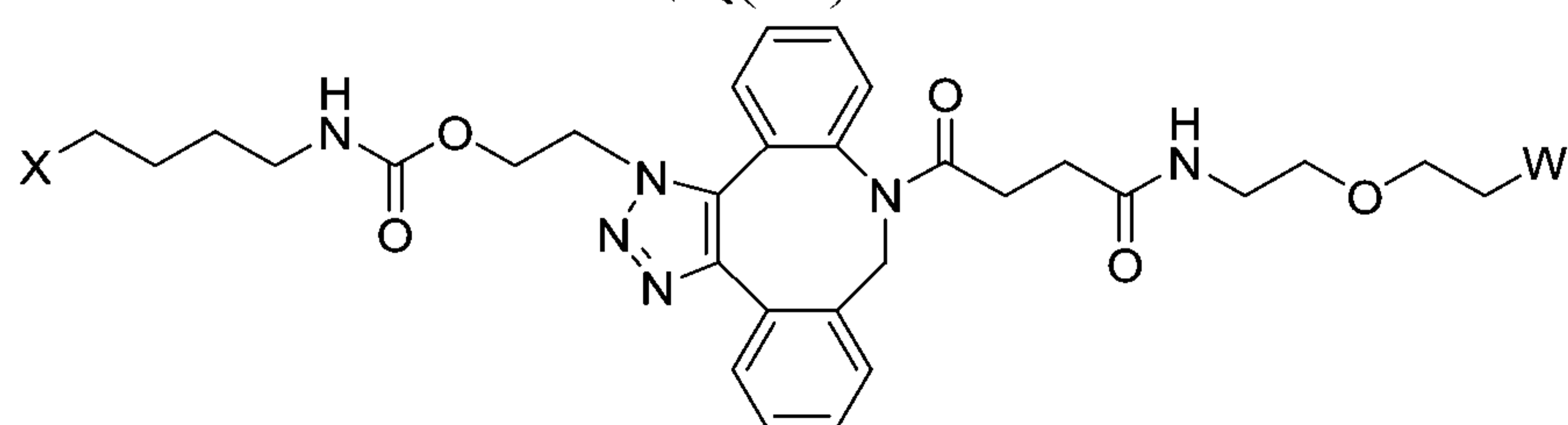
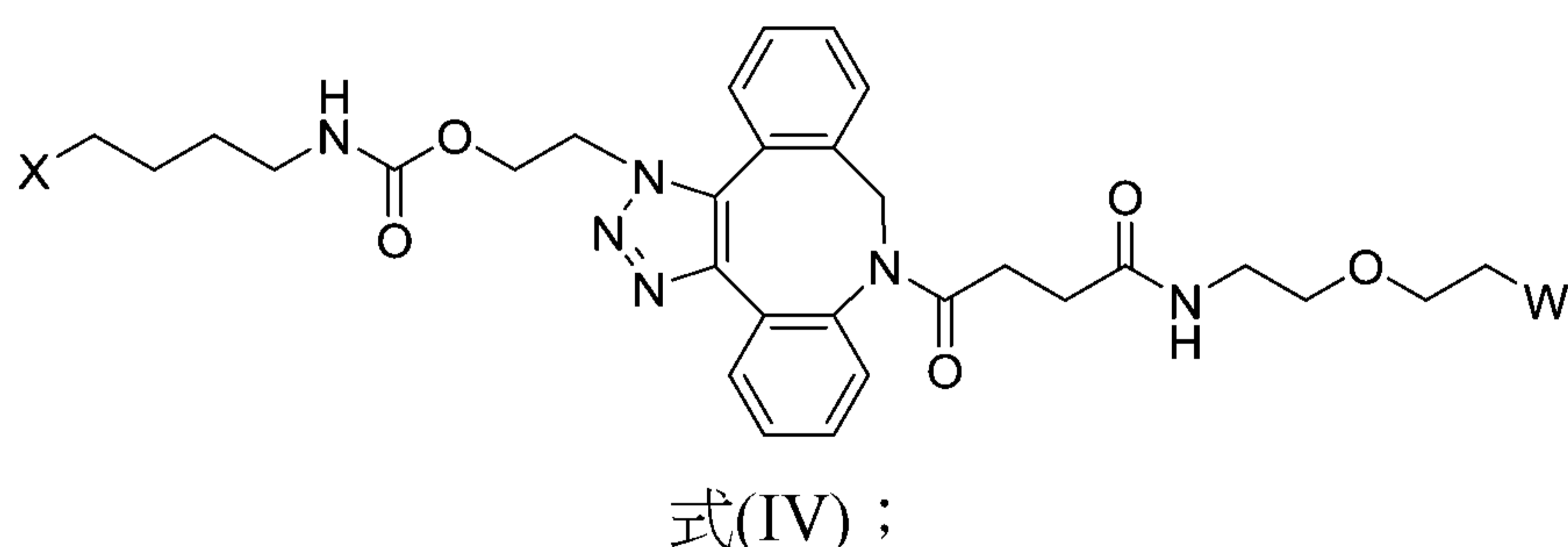
有 SEQ ID NO:46 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:47 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:48 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:49 之胺基酸序列。

【0142】 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_L1\_PEG5kD] 具有式(V)之結構



在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:45 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:46 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:47 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:48 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:49 之胺基酸序列。

【0143】 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS: 50-54 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG30kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或為式(IV)和式(V)結構之混合物：

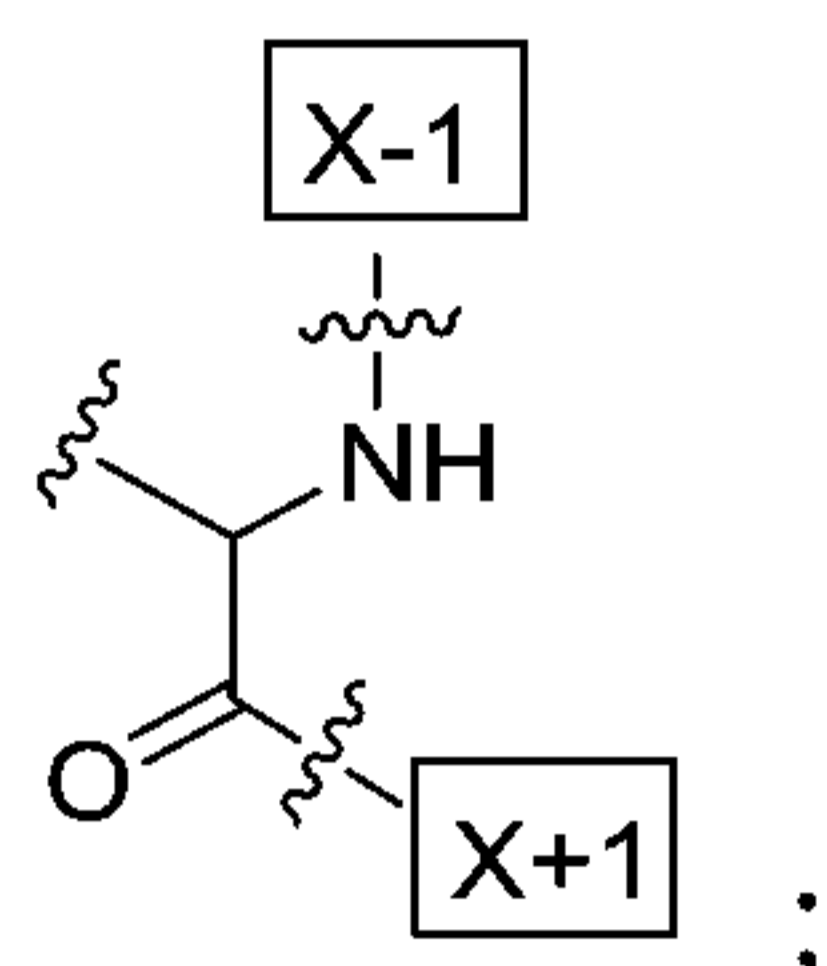


式(V)；

其中：

W 為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



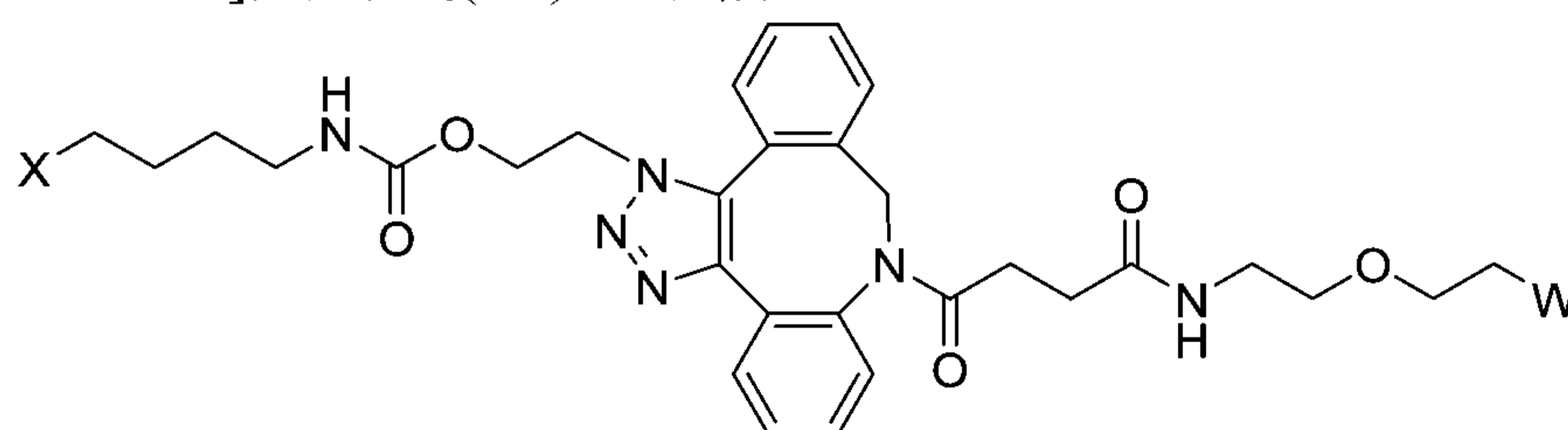
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0144】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列。

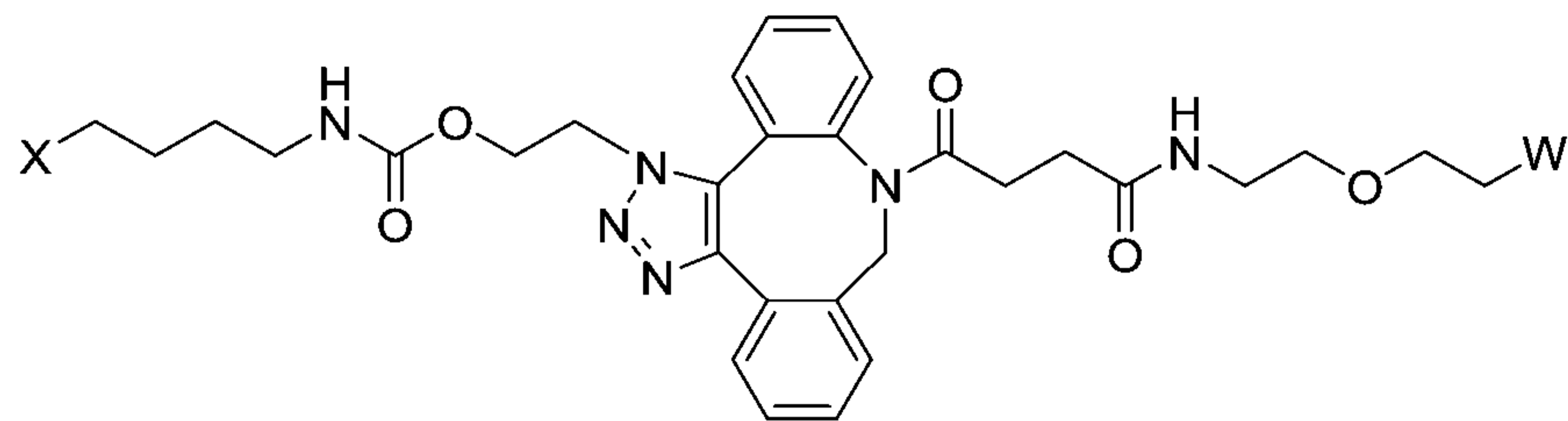
**【0145】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_L1\_PEG30kD] 具有式(IV)之結構：



式(IV)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列。

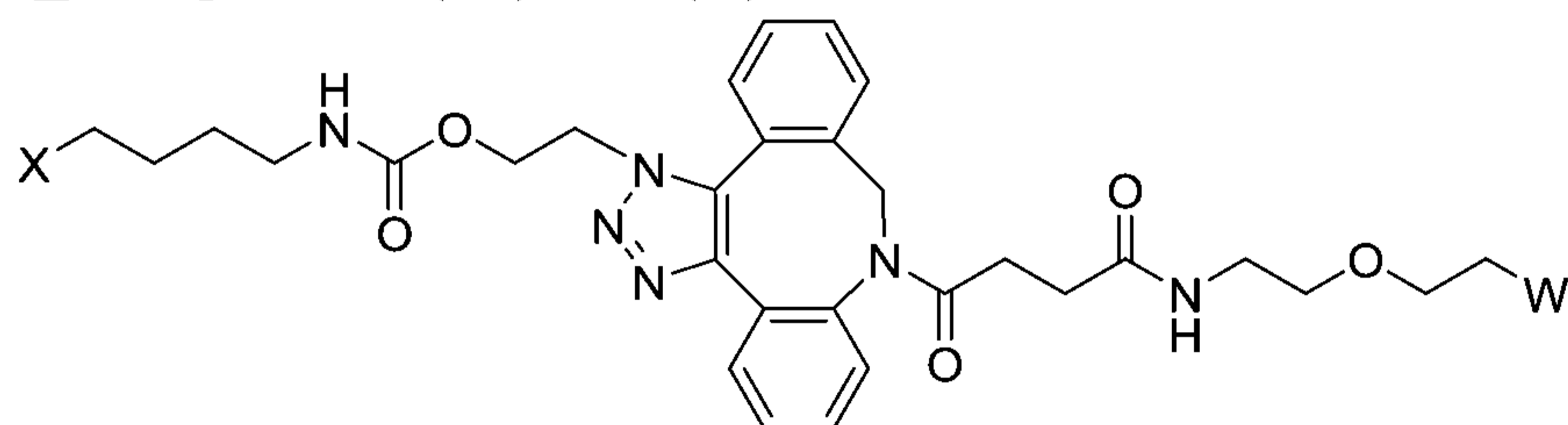
【0146】 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該 [AzK\_L1\_PEG30kD] 具有式(V)之結構



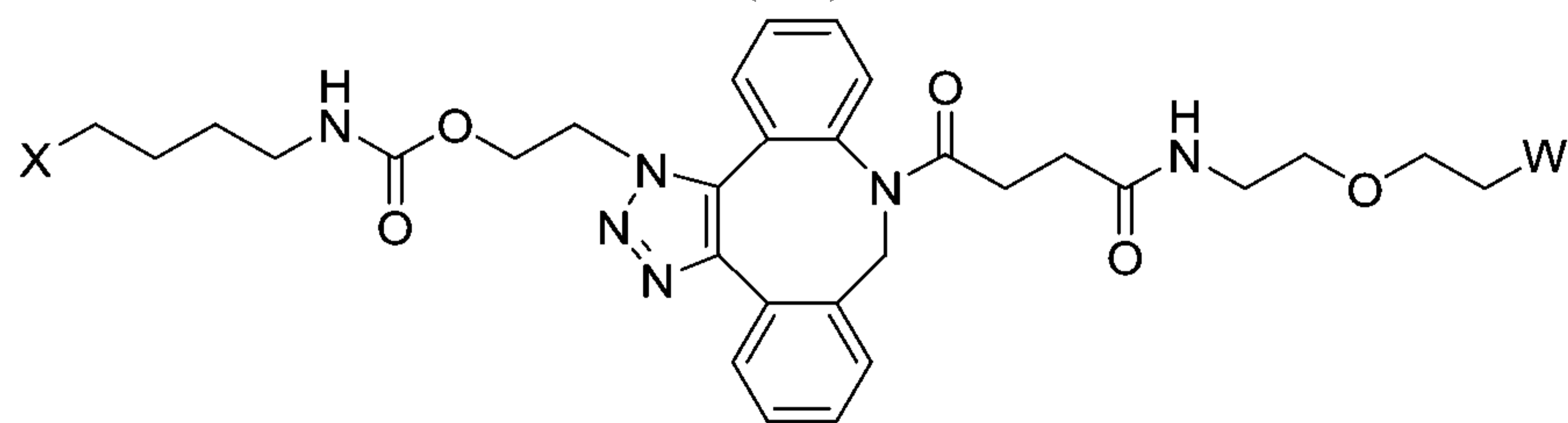
式(V)。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列。

【0147】 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)一 IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS:40-44 之胺基酸序列，其中[Azk\_L1\_PEG]為一式(IV)和式(V)結構之混合物：



式(IV)；

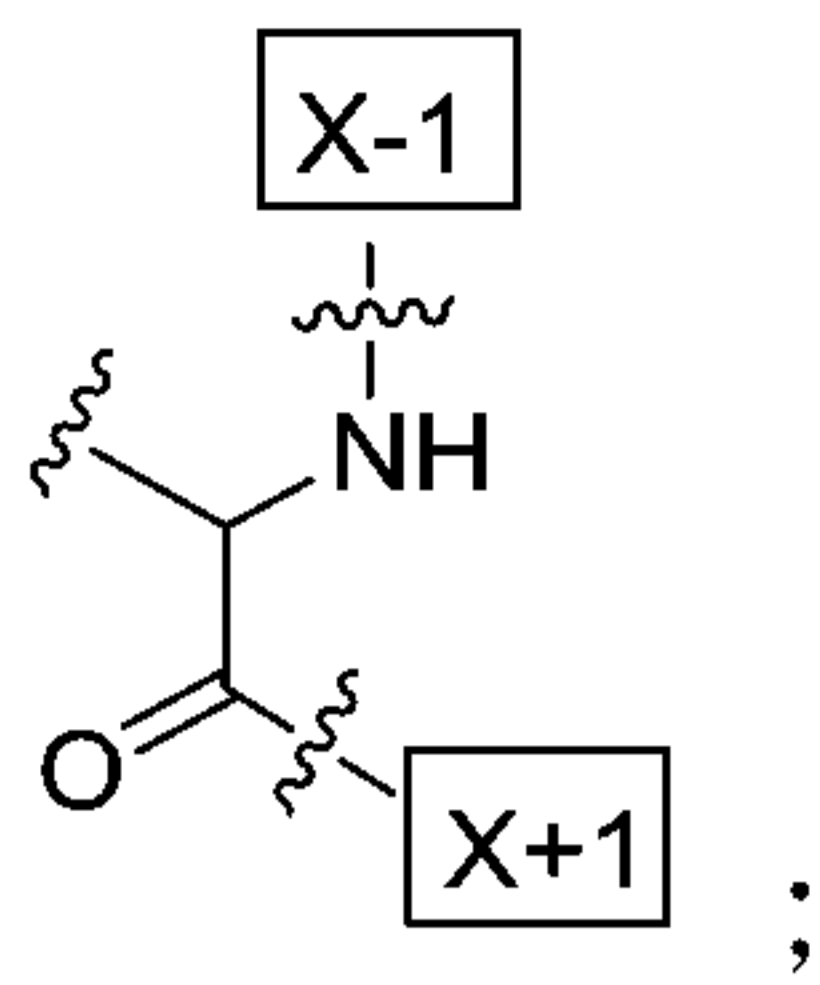


式(V)；

其中：

W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



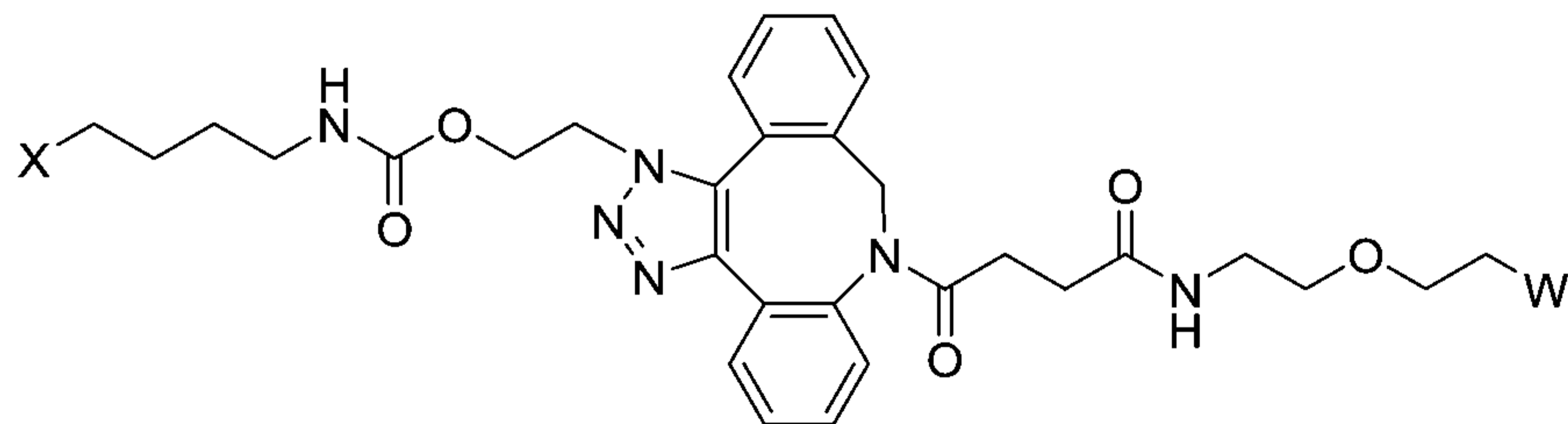
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

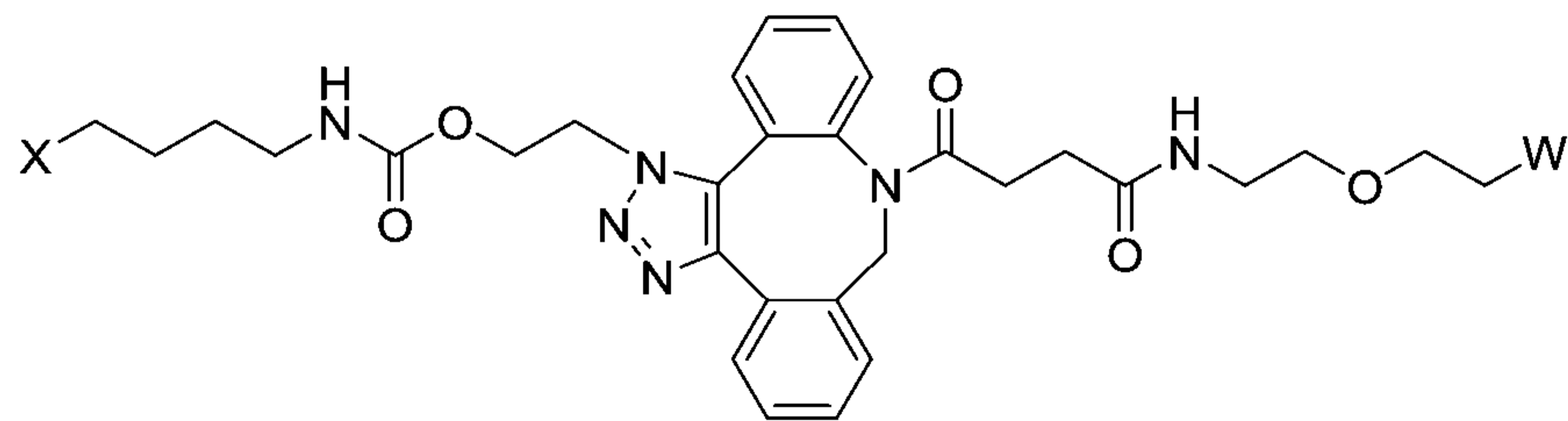
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0148】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG]的總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中，式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG]的總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中，式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG]的總量，係低於 1：1。

**【0149】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：45 至 49 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG5kD]為一式(IV)和式(V)結構之混合物：



式(IV)；

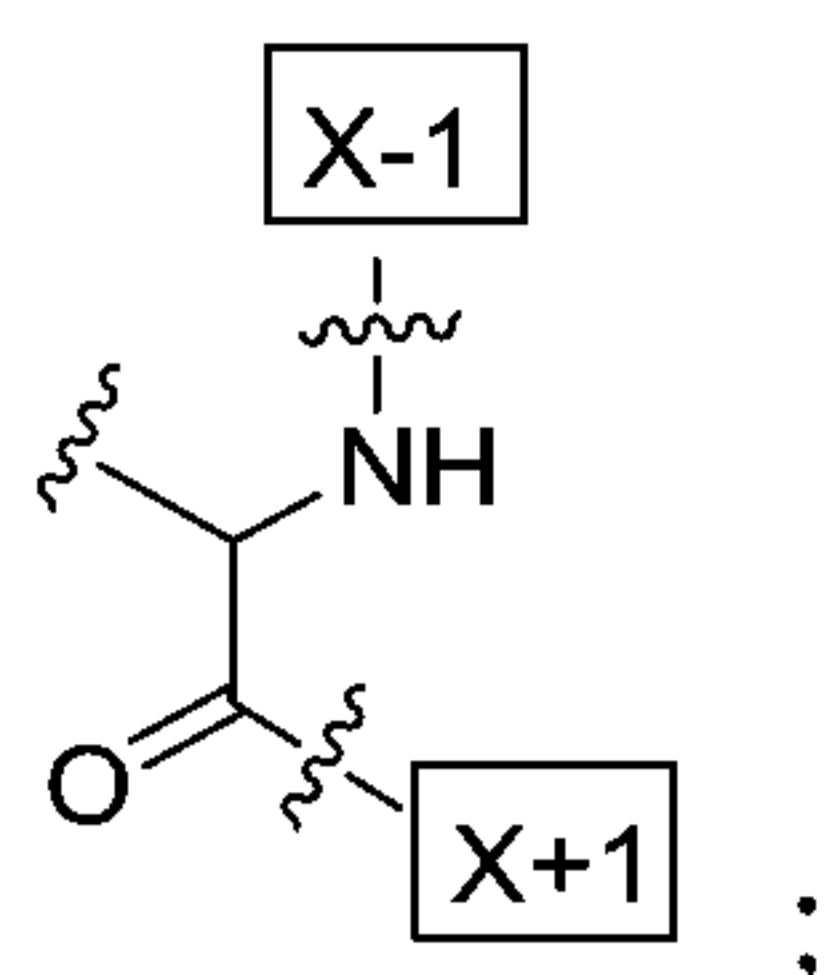


式(V)；

其中：

W 為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



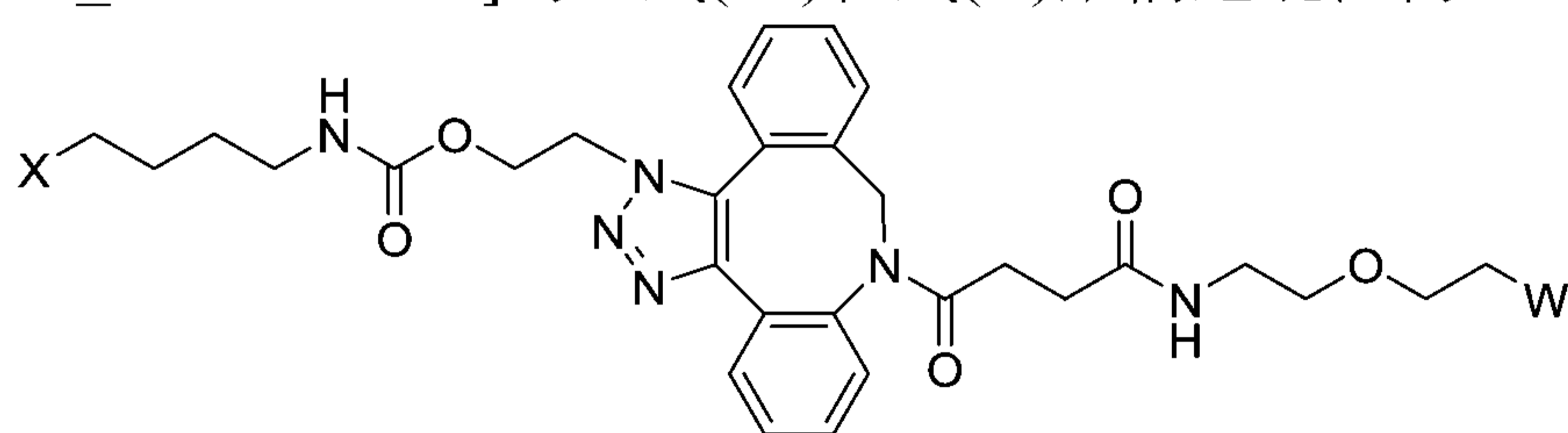
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

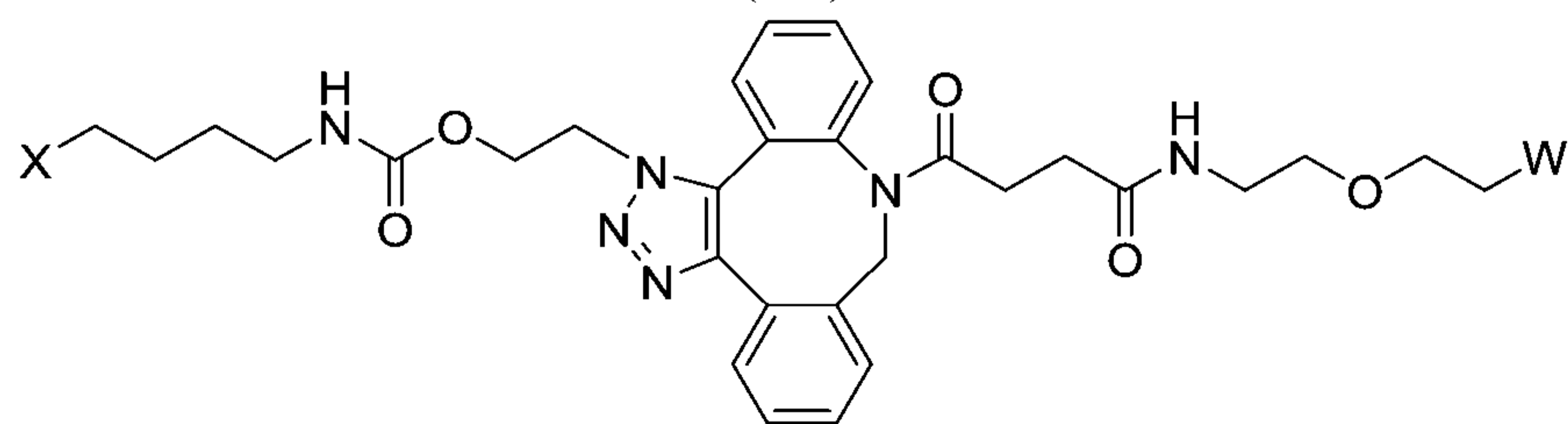
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0150】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG5kD]的總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG5kD]的總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG5kD]的總量，係低於 1：1。

**【0151】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)一 IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：50-54 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG30kD]為一式(IV)和式(V)結構之混合物：



式(IV)；

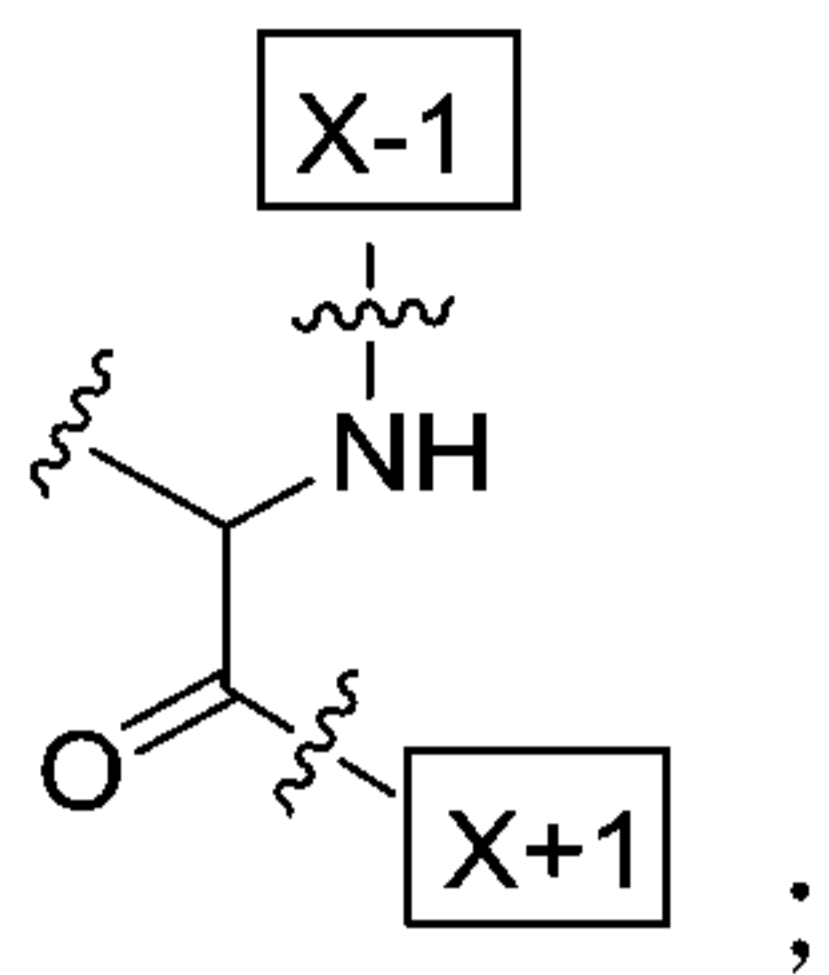


式(V)；

其中：

W 為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0152】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG30kD]的總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG30kD]的總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG30kD]的總量，係低於 1：1。

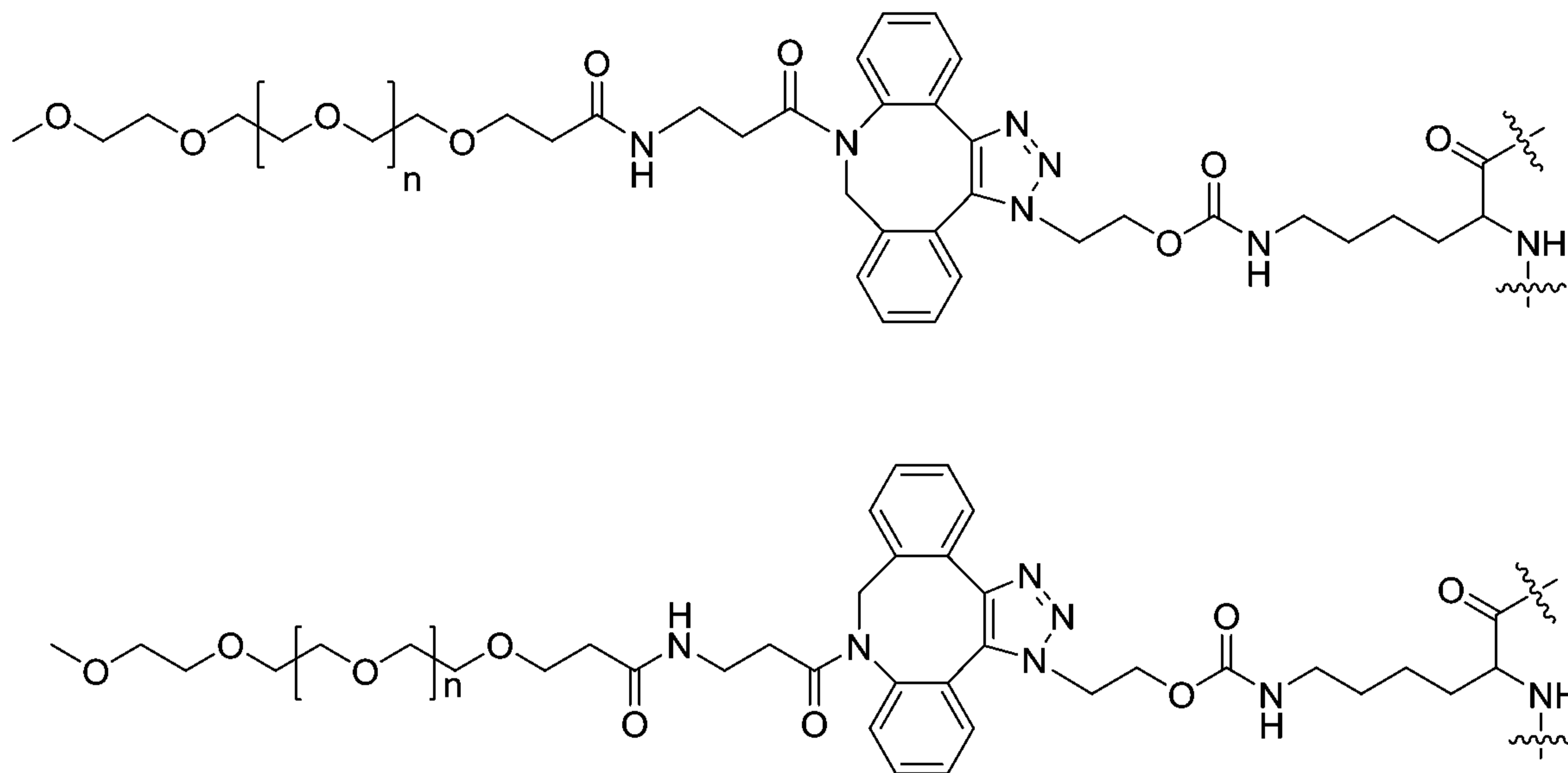
**【0153】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 5kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 10kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 15kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 20kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 25kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 30kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 35kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 40kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 45kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 50kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 55kDa 之平均分子量的 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為一具有 60kDa 之平均分子量的 PEG 基團。

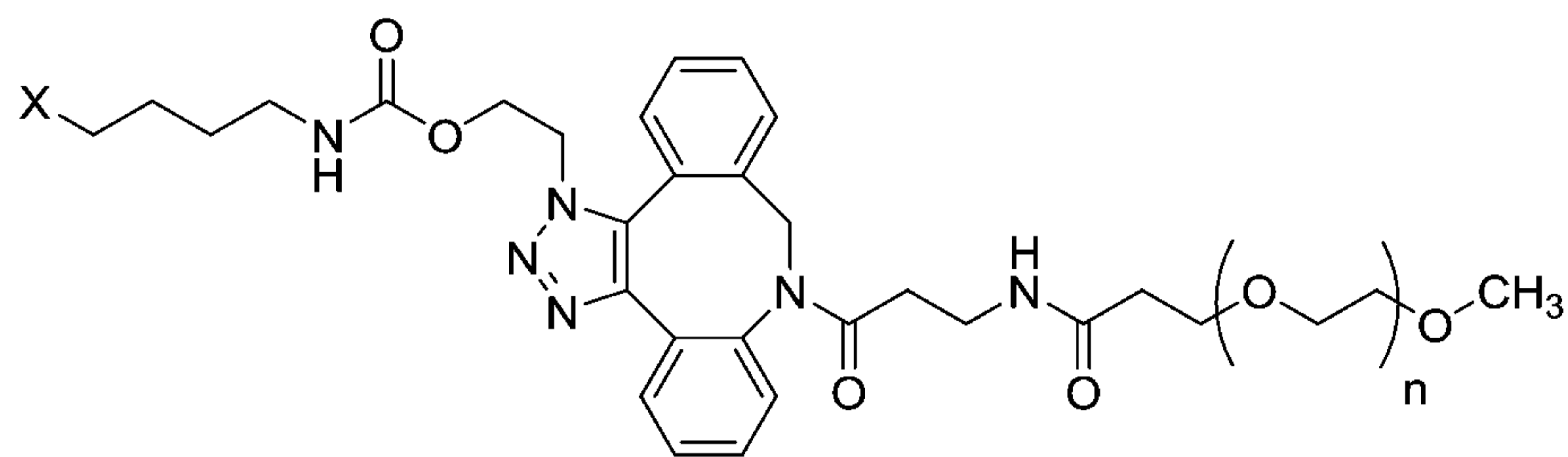
**【0154】** 在某些具體實例中，此方法係使用一文中所述的 IL-2 接合物，該 IL-2 結合物係包括式(IV)或式(V)之結構，或式(IV)和式(V)之混合物，其中 W 為一直鏈或支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為直鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 W 在式(IV)或式(V)之結構中為直鏈或支鏈的甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該甲氧基 PEG 基團在式(IV)或式(V)之結構中為直鏈。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中該甲氧基 PEG 基團在式(IV)或式(V)之結構中為支鏈。

**【0155】** 有關用於文中所述的方法中之 IL-2 接合物，甲氧基 PEG 基團之例示結構係如實例 2 流程 1 中 mPEG-DBCO 結構所示。甲氧基 PEG 基團之例示結構係如下列 mPEG-DBCO 結構中所示：

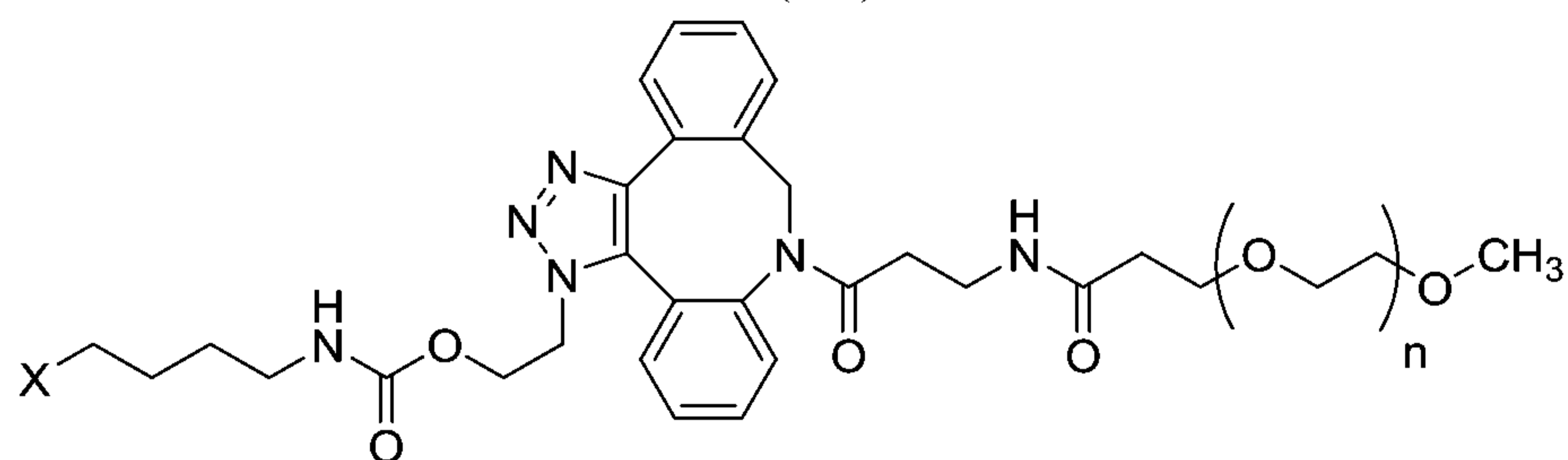




【0156】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一包括 SEQ ID NOS : 3 之胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換：



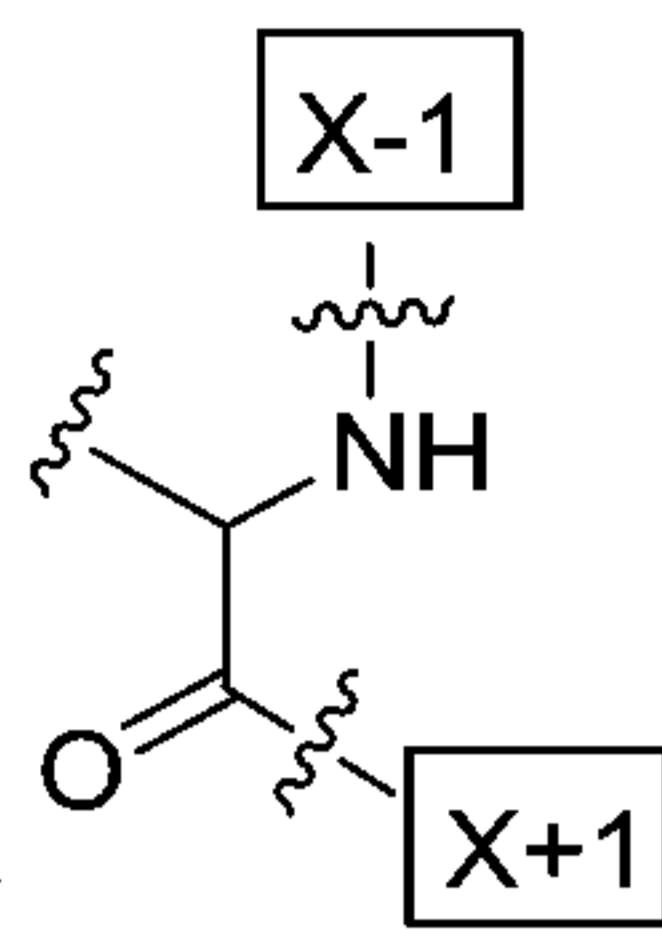
式(VI)



式(VII)

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及



X 具有 之結構，

X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指與後面胺基酸殘基連接的點。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0157】** 本處及全文，式(VI)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文，式(VII)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。

**【0158】** 在某些具體實例中，n 在式(VI)和式(VII)化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 to about 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。在某些具體實例中，n

在式(VI)和式(VII)化合物中為選自下列之整數：2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546。

**【0159】** 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物之胺基酸序列中式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 K34。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 F41。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 F43。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 K42。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 E61。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 P64。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 R37。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置

T40。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 E67。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 Y44。在某些具體實例中，t 在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 V68。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係在位置 L71。

**【0160】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(VI)結構之量與式(VII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(VI)結構之量與式(VII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(VI)結構之量與式(VII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1：1。

**【0161】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71 且其中 n 為從 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341

至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VI)和式(VII)化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 和 4546 之整數。

【0162】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VI)和式(VII)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 和 1249 之整數。

【0163】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VI)和式(VII)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 和 910 之整數。

【0164】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換，其中該 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E6 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，

此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 n 在式(VI)和式(VII)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

**【0165】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VI)和式(VII)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

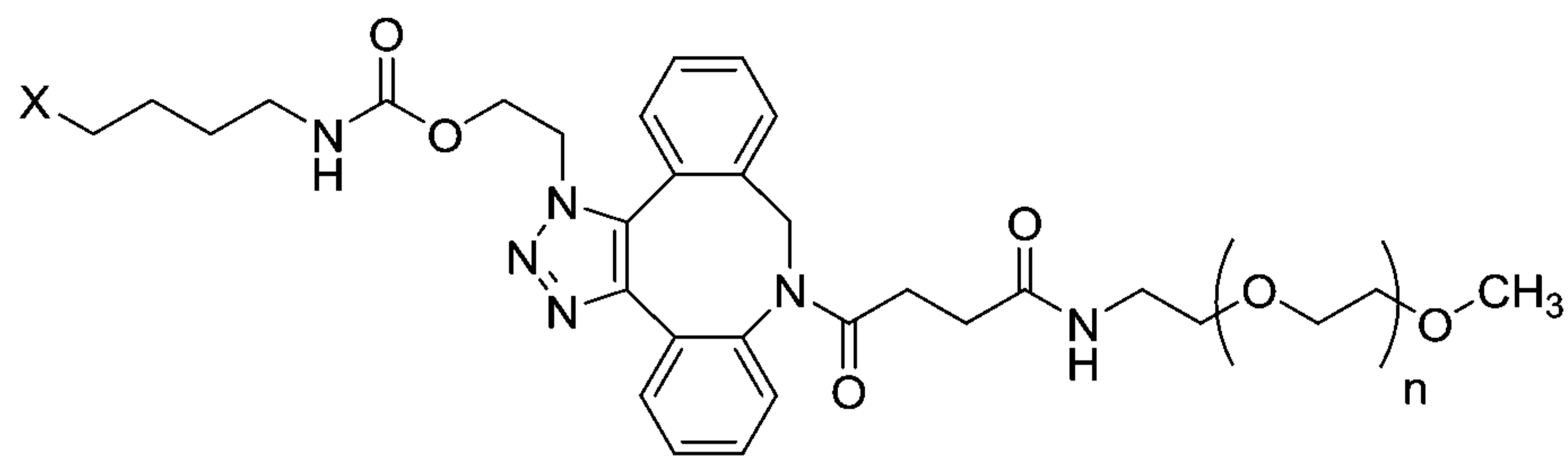
**【0166】** 在某些具體實例中，n 在式(VI)和式(VII)的結構中為一整數，使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓至約 200,000 道爾頓，或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓，或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓，或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約

10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓之範圍內。

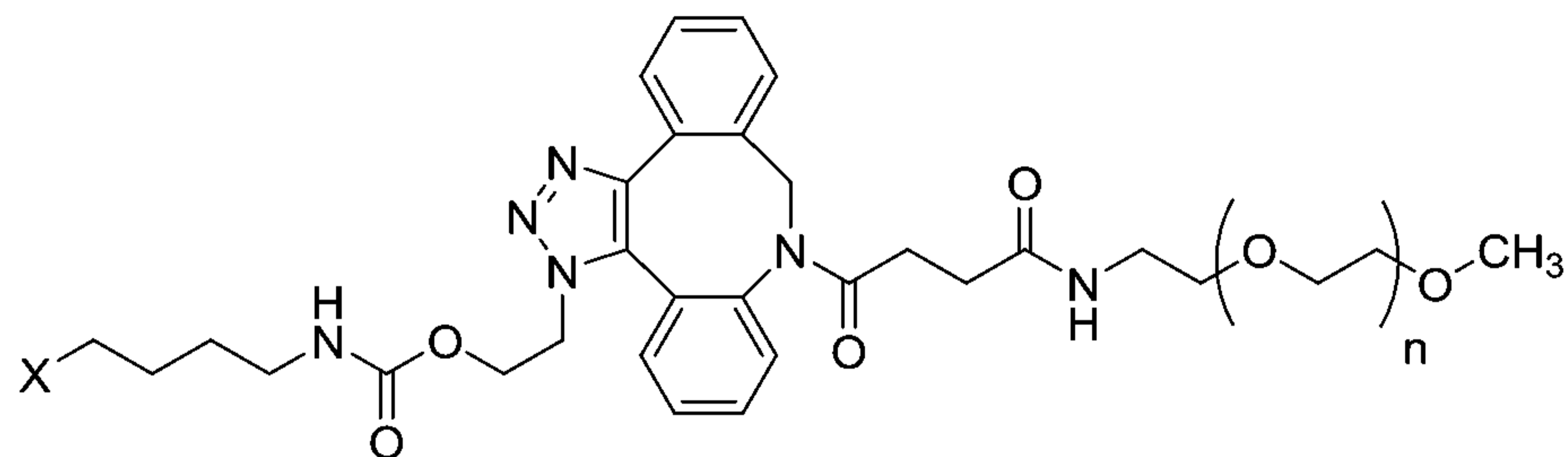
**【0167】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換，其中  $n$  為一整數，使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。

**【0168】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換，其中  $n$  為一整數，使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

**【0169】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一包括 SEQ ID NOS:3 之胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構，或式(VI)和式(VII)之混合物置換：



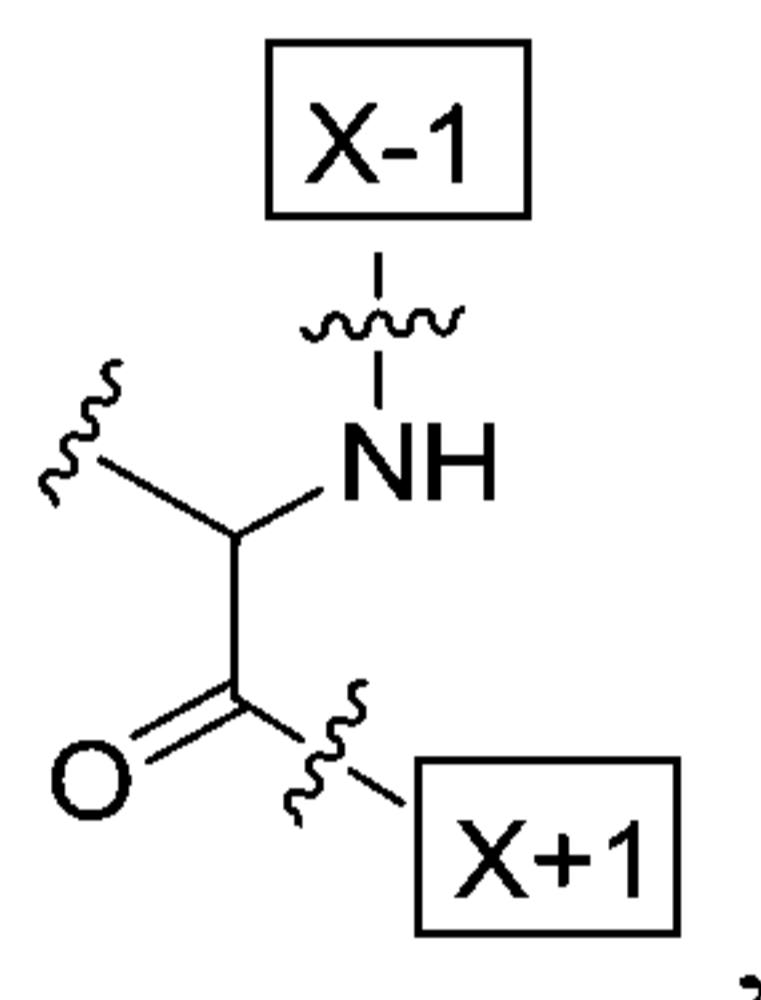
式(VIII)



式(IX)

其中：

$n$  為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及



$X$  具有下列結構：

$X-1$  係指連接前面胺基酸殘基的點；及

$X+1$  係指與後面胺基酸殘基連接的點。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0170】 本處及全文，式(VIII)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文，式(IX)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。

【0171】 在某些具體實例中， $n$  在式(VIII)和式(IX)化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至



約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 的範圍中。在某些具體實例中，n 在式(VIII)和式(IX)化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

**【0172】** 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 K34。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之

結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 F41。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 F43。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 K42。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 E61。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 P64。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 R37。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 T40。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 E67。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 Y44。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 V68。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物的位置係在位置 L71。

**【0173】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(VIII)結構之量與式(IX)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(VIII)結構之量與式(IX)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(VIII)結構之量與式(IX)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1：1。

**【0174】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3

中經置換的胺基酸殘基係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71 且其中 n 為從 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VIII)和式(IX)化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

**【0175】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VIII)和式(IX)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

【0176】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VIII)和式(IX)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0177】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VIII)和式(IX)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

【0178】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VIII)和式(IX)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

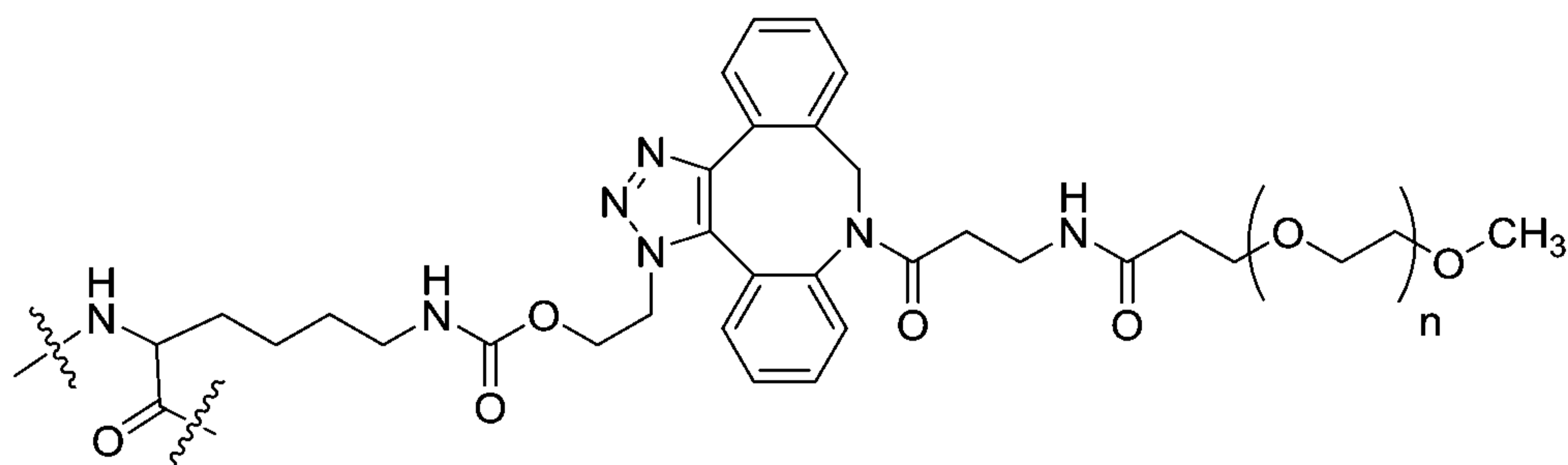
【0179】 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結

構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓至約 200,000 道爾頓，或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓，或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓，或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓的範圍內。

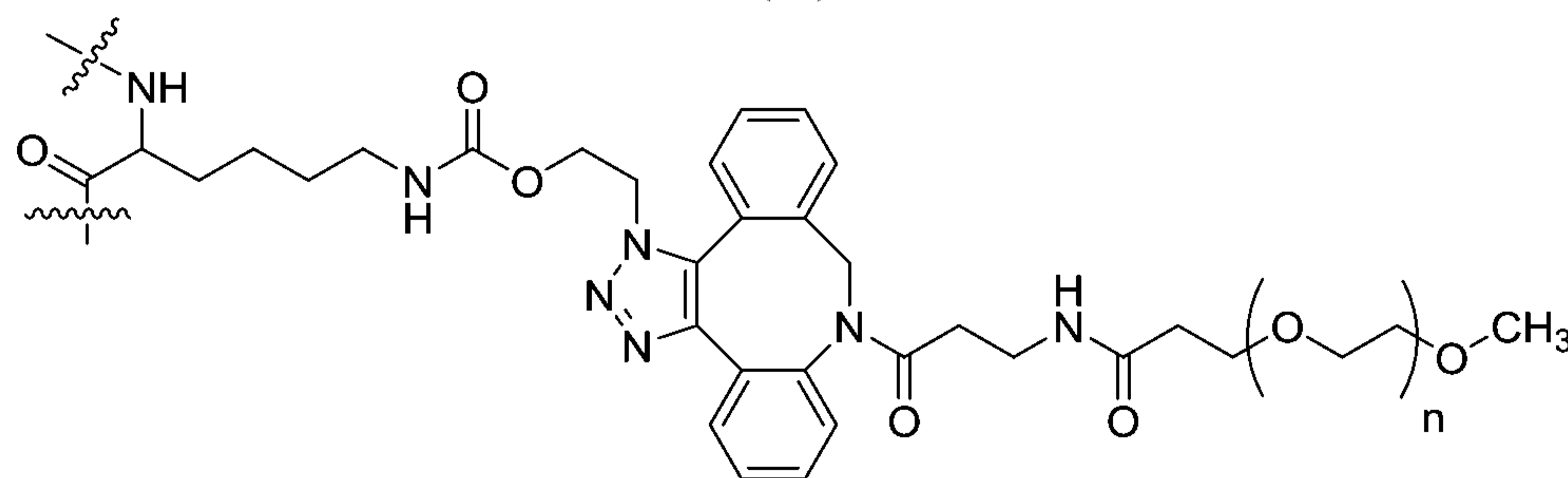
**【0180】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000

道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO: 3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

【0181】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換：



式(X)；



式(XI)；

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

波形線係指連接 SEQ ID NO: 3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【0182】 本處及全文，式(X)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文，式(XI)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0183】 在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為外消旋，為富含(R)，為富含(S)，為實質上(R)，為實質上(S)，為(R)或為(S)。在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為外消旋。在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為富含(R)。在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為富含(S)。在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為實質上(R)。在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為實質上(S)。在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為(R)。在某些具體實例中，式(X)和式(XI)內的對掌中心之立體化學為(S)。

【0184】 在某些具體實例中，n 在式(X)和式(XI)之化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約

796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。在某些具體實例中，n 在式(X)和式(XI)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

**【0185】** 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中式(X)、式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 K34。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 F41。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 F43。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 K42。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 t 在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 E61。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)



和式(XI)之混合物的位置係在位置 P64。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 R37。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 T40。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 E67。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 Y44。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 V68。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物的位置係在位置 L71。

**【0186】** 在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(X)結構之量與式(XI)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，為約 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(X)結構之量與式(XI)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1：1。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中式(X)結構之量與式(XI)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1：1。

**【0187】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71 且其中 n 為從 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225

至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之整數。在某些具體實例中，n 在式(VI)和式(VII)化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

【0188】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(X)和式(XI)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

【0189】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(X)和式(XI)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0190】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，此方法係使用一 IL-2 接合物，其中 n 在式(X)和式(XI)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

【0191】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(X)和式(XI)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

【0192】 在某些具體實例中，在式(X)和式(XI)之結構中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓至約 200,000 道爾頓，或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓，或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓，或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或

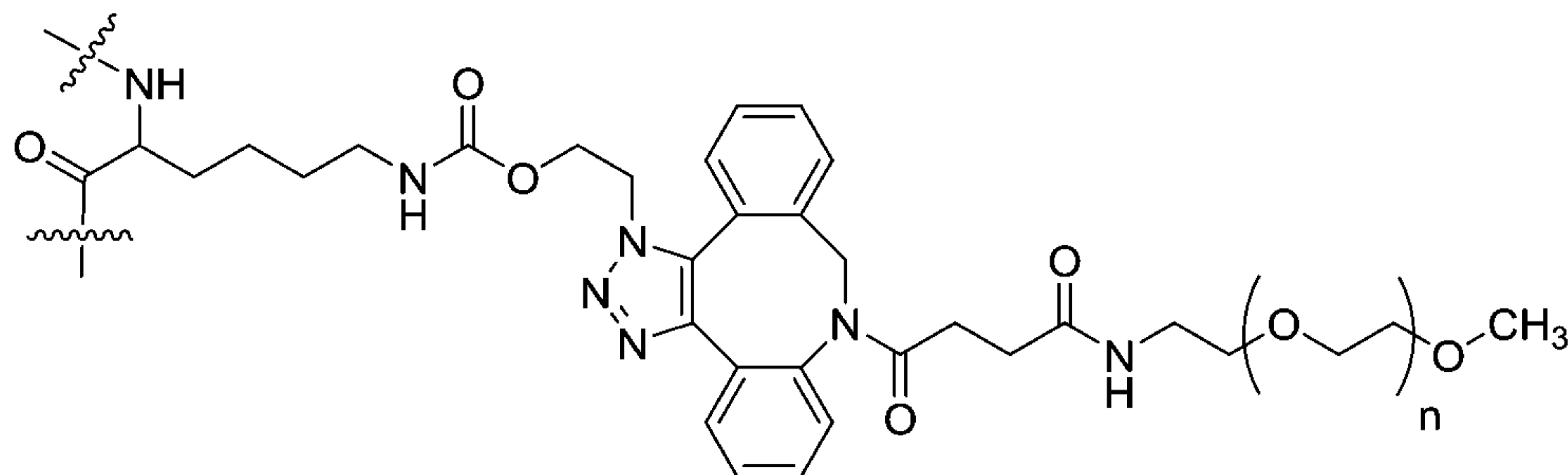
從約9,000道爾頓至約45,000道爾頓，或從約9,000道爾頓至約40,000道爾頓，或從約9,000道爾頓至約35,000道爾頓，或從約9,000道爾頓至約30,000道爾頓，或從約9,500道爾頓至約35,000道爾頓，或從約9,500道爾頓至約30,000道爾頓，或從約10,000道爾頓至約50,000道爾頓，或從約10,000道爾頓至約45,000道爾頓，或從約10,000道爾頓至約40,000道爾頓，或從約10,000道爾頓至約35,000道爾頓，或從約10,000道爾頓至約30,000道爾頓，或從約15,000道爾頓至約50,000道爾頓，或從約15,000道爾頓至約45,000道爾頓，或從約15,000道爾頓至約40,000道爾頓，或從約15,000道爾頓至約35,000道爾頓，或從約15,000道爾頓至約30,000道爾頓，或從約20,000道爾頓至約50,000道爾頓，或從約20,000道爾頓至約45,000道爾頓，或從約20,000道爾頓至約40,000道爾頓，或從約20,000道爾頓至約35,000道爾頓，或從約20,000道爾頓至約30,000道爾頓之範圍內。

**【0193】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。

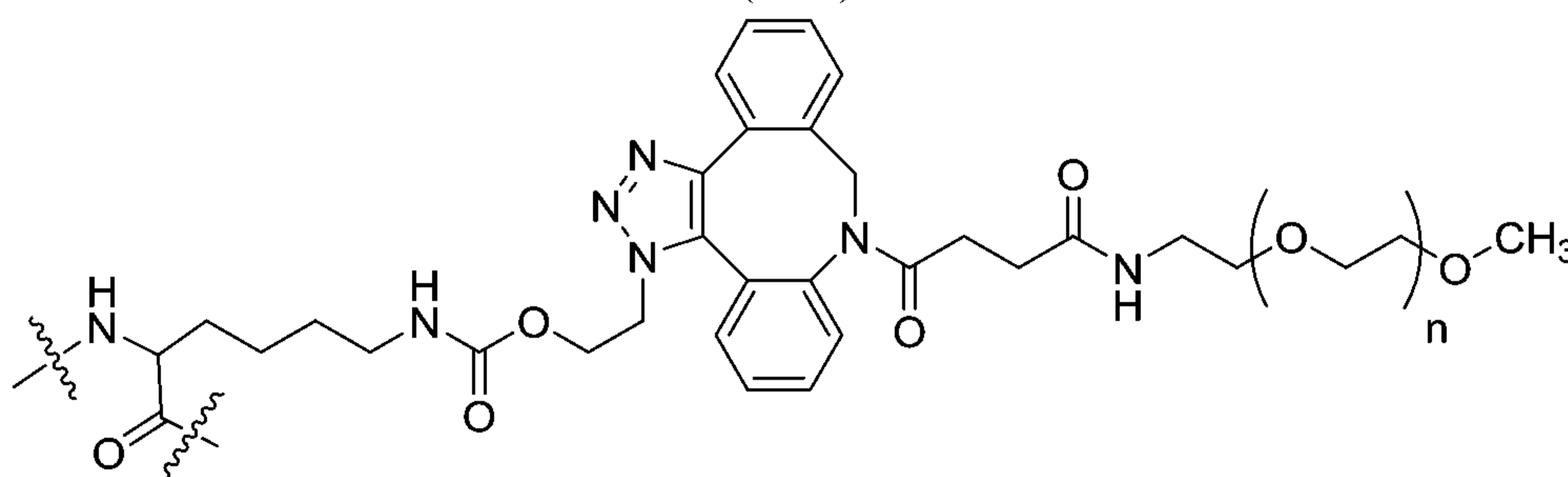
**【0194】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

**【0195】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另

外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換：



式(XII)；



式(XIII)；

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【0196】本處及全文，式(XII)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文，式(XIII)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0197】在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為外消旋，為富含(R)，為富含(S)，為實質上(R)，為實質上(S)，為(R)或為(S)。在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為外消旋。在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為富含(R)。在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為富含(S)。在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為實質上(R)。在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為實質上(S)。在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為實質上(S)。在某些

些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為(R)。在某些具體實例中，式(XII)和式(XIII)內的對掌中心之立體化學為(S)。

【0198】 在某些具體實例中，n 在式(XII)和式(XIII)之化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。在某些具體實例中，n 在式(XII)和(XIII)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

【0199】 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 K34。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 F41。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 F43。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 K42。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 E61。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 P64。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 R37。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 T40。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 E67。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 Y44。在某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 V68。在某些具

體實例中，在 SEQ ID NO:3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物的位置係在位置 L71。

**【0200】** 在某些具體實例中，式(XII)結構之量與式(XIII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，為約 1:1。在某些具體實例中，式(XII)結構之量與式(XIII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1:1。在某些具體實例中，式(XII)結構之量與式(XIII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1:1。

**【0201】** 在某些具體實例中，文中所述的為包括 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO:3 中經置換的胺基酸殘基係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71 且其中 n 為從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之整數。在某些具體實例中，n 在式(XII)和式(XIII)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、



2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

**【0202】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(XII)和式(XIII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

**【0203】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(XII)和式(XIII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

**【0204】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(XII)和式(XIII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

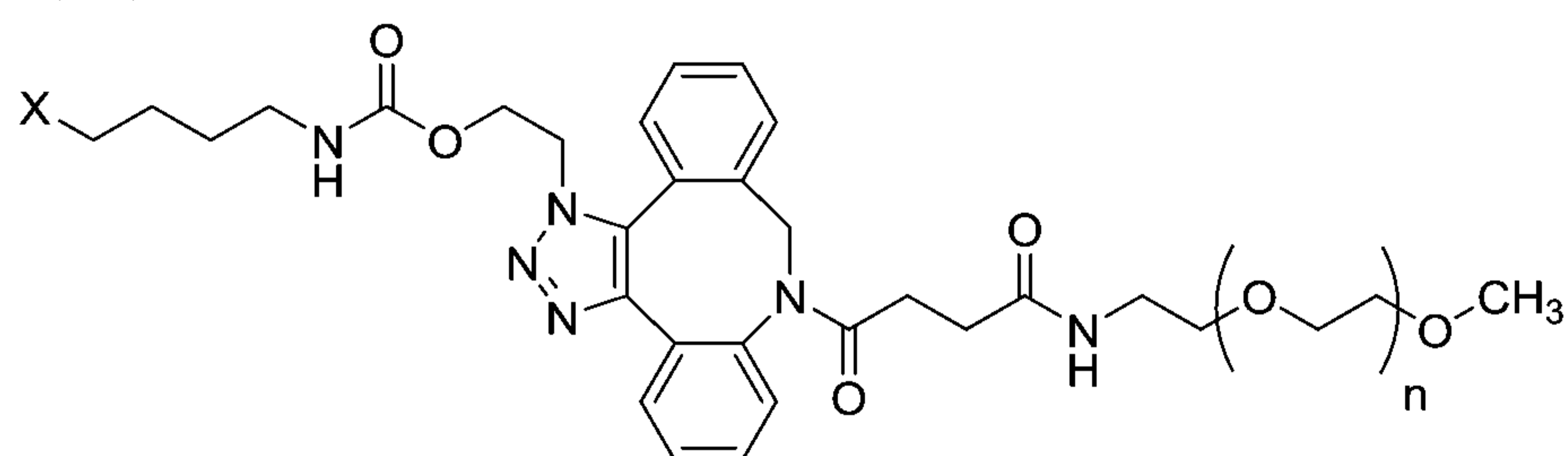
**【0205】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，

或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在某些具體實例中，n 在式(XII)和式(XIII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

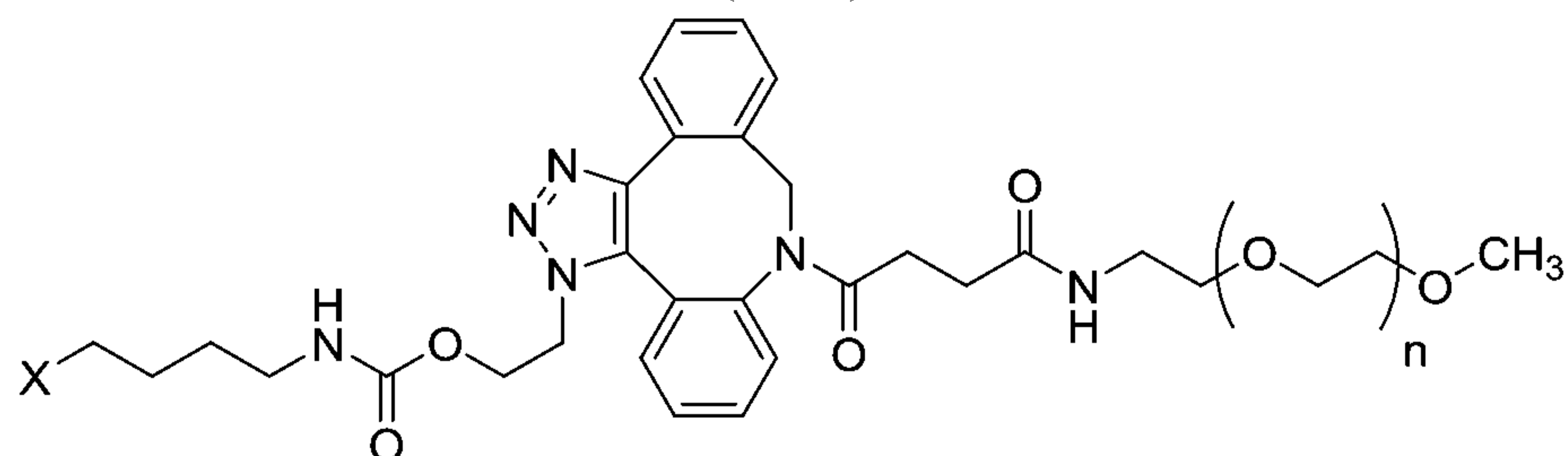
【0206】 在某些具體實例中，n 在式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物中為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓至約 200,000 道爾頓，或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓，或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓，或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓的範圍內。

【0207】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

【0208】 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個 PD-1 抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中在 IL-2 接合物中位於 E61 或 P64 的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換：



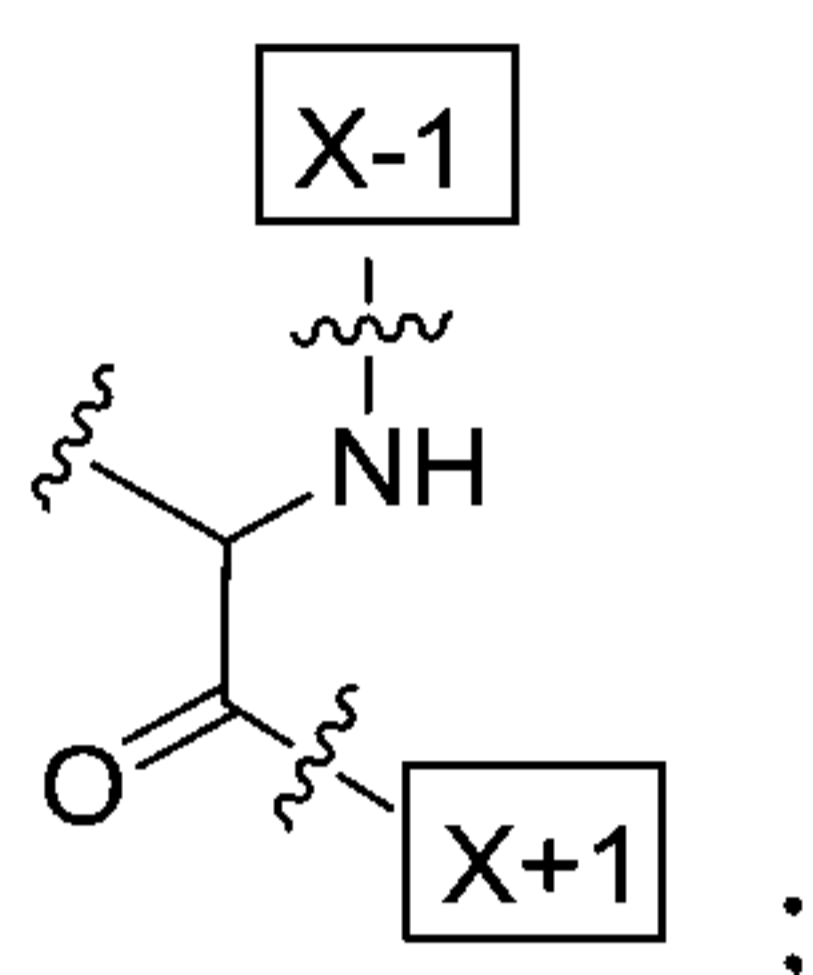
式(VIII)；



(IX)；

其中：

$n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 15,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓；  
及



X 具有下列結構：

X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點。

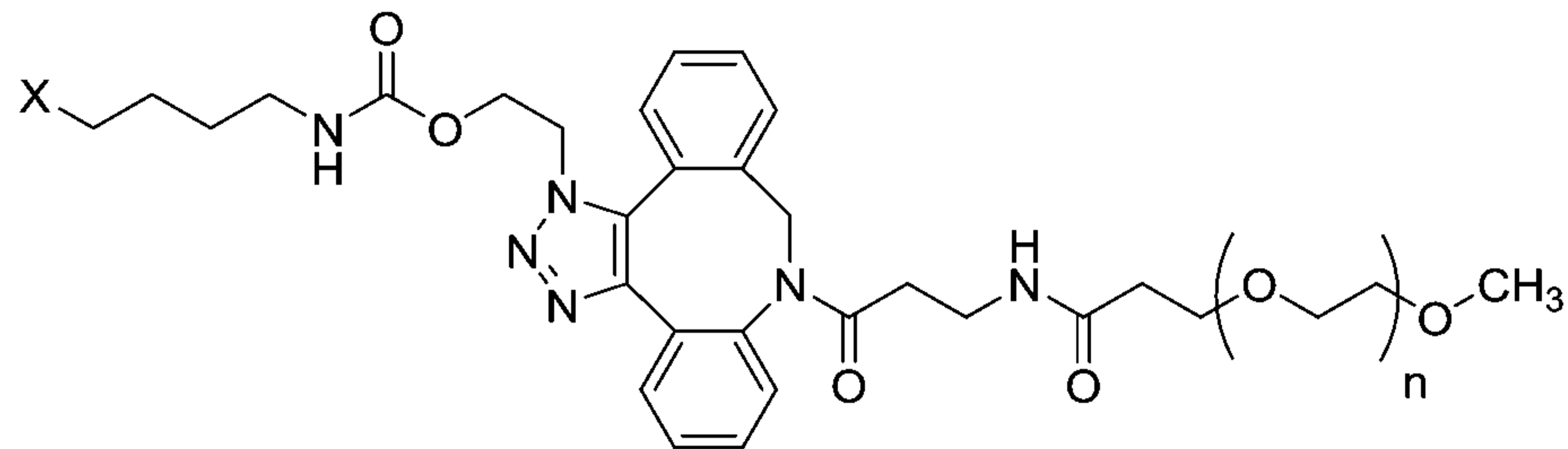
**【0209】** 在某些具體實例中，該 IL-2 接合物為醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0210】** 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物中位於 E61 的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換且其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。在某些具體實例中， $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30,000 道爾頓。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)或西普利單抗(cemiplimab)。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為西普利單抗。

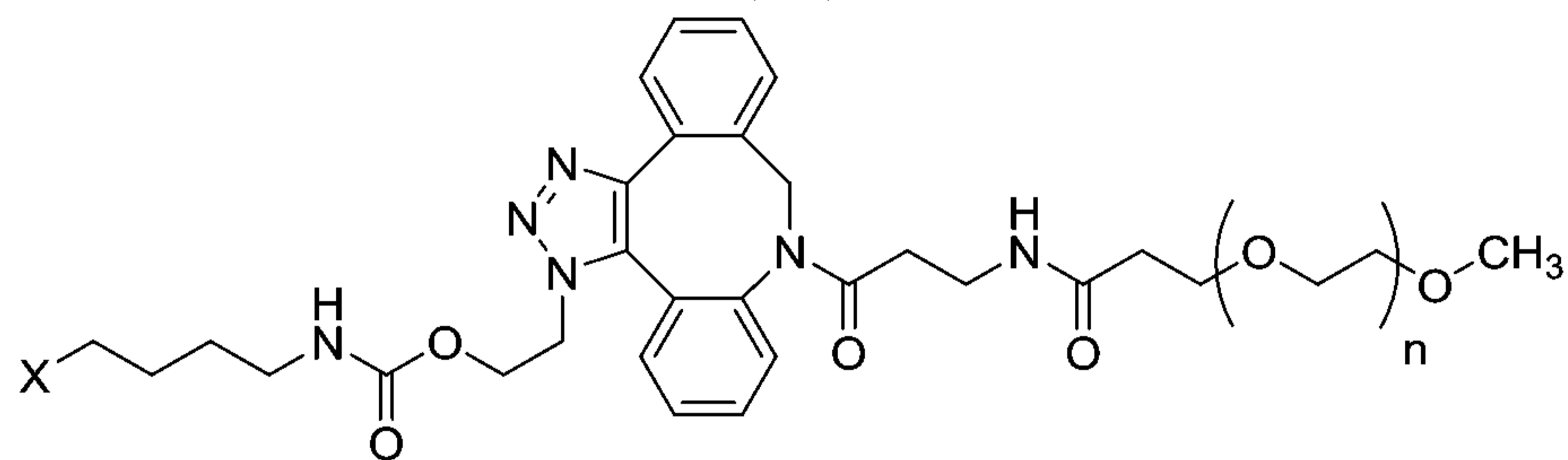
**【0211】** 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物中位於 P64 的胺基酸殘基係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換且其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。在某些具體實例中， $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30,000 道爾頓。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗、納武單抗或西普利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為西普利單抗。

**【0212】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個

PD-1 抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中在 IL-2 接合物中位於 E61 或 P64 的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物置換：



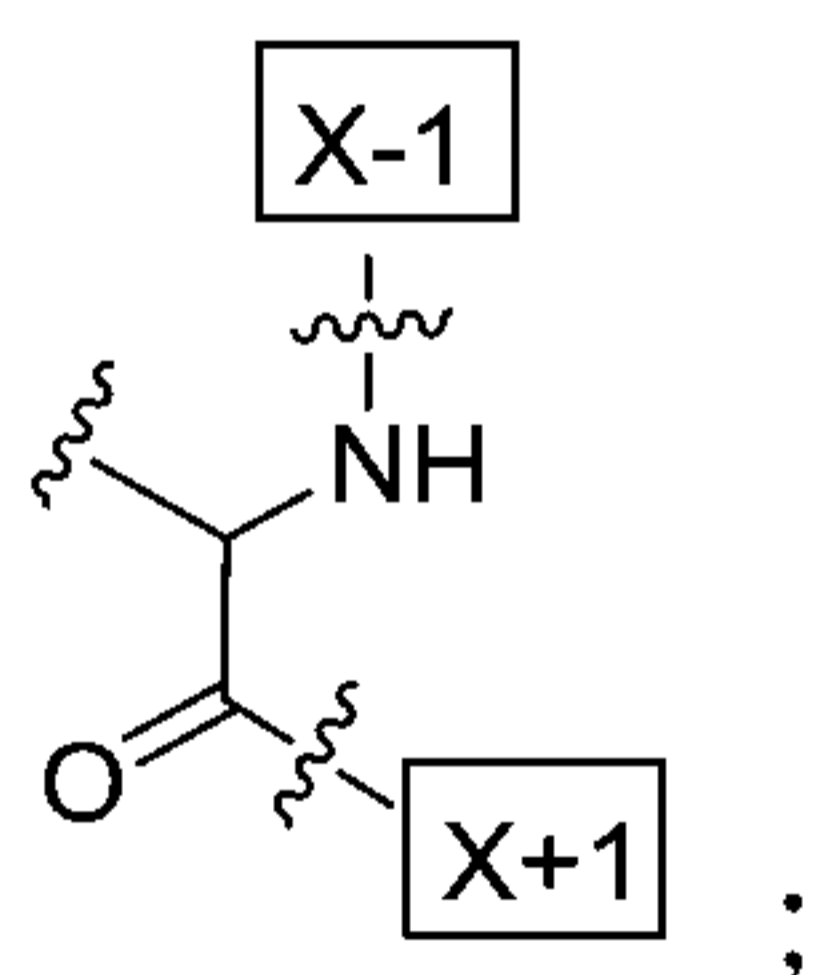
式(VI)；



(VII)；

其中：

n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 15,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓；  
及



X 具有下列結構：

X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點。

在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0213】** 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物中位於 E61 的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。在某些具體實例中，n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30,000 道爾頓。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗、納武單抗或西普利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。在某些具體實例

中，此一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為西普利單抗。

**【0214】** 在某些具體實例中，在 IL-2 接合物中位於 P64 的胺基酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。在某些具體實例中，n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30,000 道爾頓。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗、納武單抗或西普利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為西普利單抗。

**【0215】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一包括 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經與 PEG 基團共價鍵結的半胱胺酸置換。在某些具體實例中，PEG 基團具有選自下列之分子量：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 及 60kDa。在某些具體實例中，PEG 基團具有 5kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 10kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 15kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 20kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 25kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 30kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 35kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 40kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 45kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 50kDa 之分子量。在某些具體實例中，PEG 基團具有 60kDa 之分子量。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列且該 IL-2 接合物中至少一個經半胱胺酸置換的胺基酸殘基係選自 K34、T36、R37、T40、F41、K42、F43、Y44、E60、E61、E67、K63、P64、V68、L71 及 Y106。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列且該 IL-2 接合物中至少一個經半胱胺酸置換的胺基酸殘基係選自

K34、T40、F41、K42、Y44、E60、E61、E67、K63、P64、V68 及 L71。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列且該 IL-2 接合物中至少一個經半胱胺酸置換的胺基酸殘基係選自 K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72 及 Y107。

【0216】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一包括 SEQ ID NO:3 胺基酸序列的 L-2 接合物係，其中至少一個非-離胺酸殘基係經包括連接子和水溶性聚合物的離胺酸置換。在某些具體實例中，該水溶性聚合物為 PEG 基團。

【0217】在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括經由不可釋放性鍵聯共價鍵結的 PEG 基團。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括不可釋放、共價鍵結的 PEG 基團。

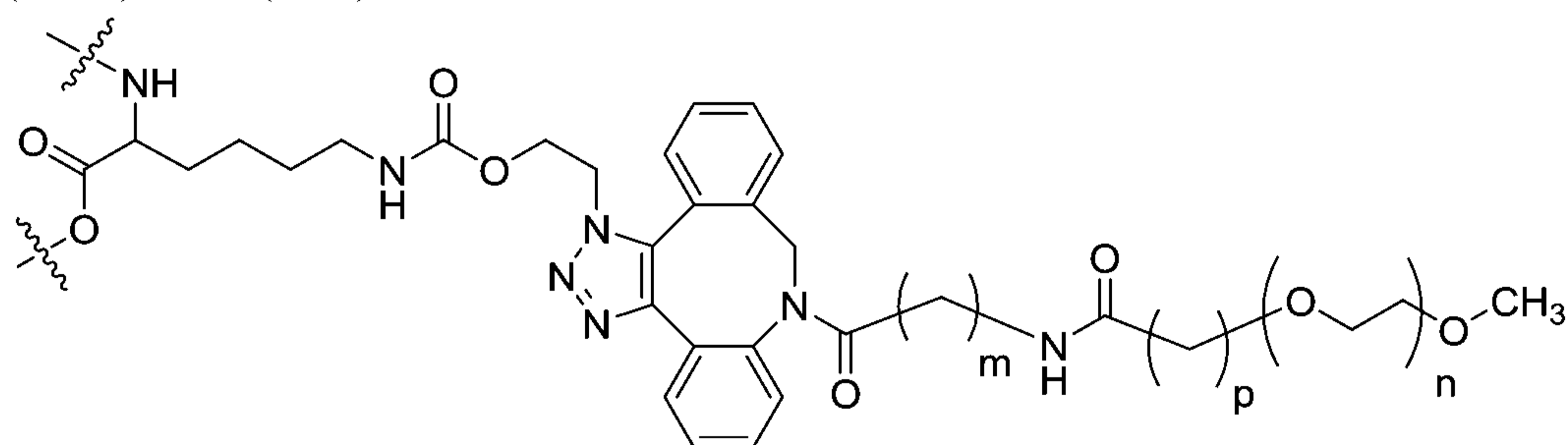
【0218】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:3，其中在 IL-2 接合物中非-離胺酸的胺基酸係經離胺酸殘基置換且其中該離胺酸殘基係包括一或多個水溶性聚合物及共價連接子。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 SEQ ID NO:3 的 K34-Y106 區。在某些具體實例中，此離胺酸殘基係位於 K34。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 F41。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 F43。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 K42。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 E61。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 P64。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 R37。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 T40。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 E67。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 Y44。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 V68。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 L71。

【0219】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO:3，其中在 IL-2 接合物中非-離胺酸的胺基酸係經離胺酸殘基置換且其中該離胺酸殘基係包括一或多個水

溶性聚合物及共價連接子。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 SEQ ID NO: 3 之 K34-Y106 區。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 K34。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 F41。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 F43。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 K42。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 E61。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 P64。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 R37。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 T40。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 E67。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 Y44。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 V68。在某些具體實例中，該離胺酸殘基係位於 L71。

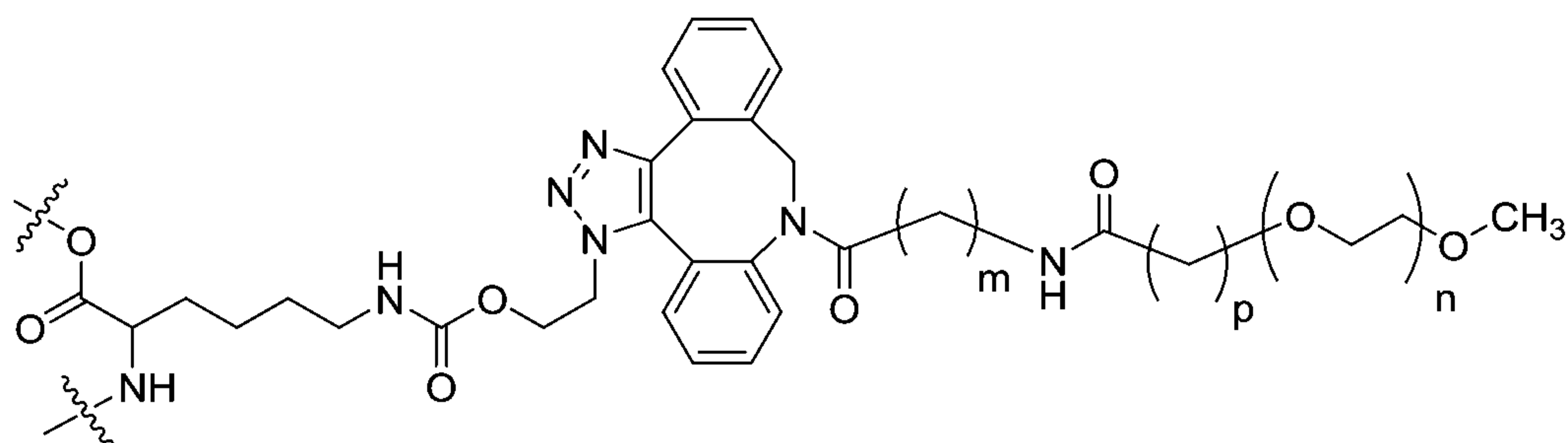
**【0220】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一介白素-2(IL-2)變體，其中在 IL-2 變體的胺基酸序列中非-離胺酸胺基酸係經胺基酸取代，而該胺基酸係包括:(a)離胺酸；(b)共價連接子；和(3)一或多個水溶性聚合物。在某些具體實例中，一或多個水溶性聚合物係包括 PEG 基團。

**【0221】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一包括 SEQ ID NO: 3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換：



式(XIV)；





式(XV)；

其中：

m 為從 0 至 20 之整數；

p 為從 0 至 20 之整數；

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【0222】本處及全文，式(XIV)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文，式(XV)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0223】在某些具體實例中，式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為外消旋，為富含(R)，為富含(S)，為實質上(R)，為實質上(S)，為(R)或為(S)。在某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為外消旋。在某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為富含(R)。在某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為富含(S)。在某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為實質上(R)。在某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為實質上(S)。在某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為(R)。在某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)內的對掌中心之立體化學為(S)。

【0224】在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為從 0 至 20，或從 1 至 18，或從 1 至 16，或從 1 至 14，或從 1 至 12，或從 1 至 10，或從 1 至 9，或從 1 至 8，或從 1 至 7，或從 1 至 6，或從 1 至 5，或從 1 至 4，或從 1 至 3，或從 1 至 2。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 1。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m

在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 2。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 3。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 4。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 5。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 6。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 7。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 8。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 9。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 10。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 11。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 12。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 13。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 14。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 15。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 16。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 17。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 18。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 19。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 20。

**【0225】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為從 1 至 20，或從 1 至 18，或從 1 至 16，或從 1 至 14，或從 1 至 12，或從 1 至 10，或從 1 至 9，或從 1 至 8，或從 1 至 7，或從 1 至 6，或從 1 至 5，或從 1 至 4，或從 1 至 3，或從 1 至 2。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 1。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 2。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中 p 為 3。在文中所述的 IL-2 接合物之某

些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 4。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 5。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 6。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 7。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 8。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 9。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 10。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 11。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 12。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 13。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 14。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 15。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 16。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 17。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 18。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 19。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，p 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為 20。

**【0226】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 n 在式(XIV)和式(XV)之化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，

或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。

【0227】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為從 1 至 6 之整數，p 為從 1 至 6 之整數，及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為從 2 至 6 之整數，p 為從 2 至 6 之整數，及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為從 2 至 4 之整數，p 為從 2 至 4 之整數，及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為 1，p 為 2 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為 2，p 為 2 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接

合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 3， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 4， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 5， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 6， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 7， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 8， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 9， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 10， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中， $m$  為 11， $p$  為 2 及  $n$  為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、

908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為 11，p 為 2 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為 2，p 為 2 及 n 為選自 680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。

**【0228】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 n 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 K34。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 F41。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的

位置係在位置 F43。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 K42。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 E61。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 P64。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 R37。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 T40。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 E67。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 Y44。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 V68。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XIV)、式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物的位置係在位置 L71。

**【0229】** 在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，式(XIV)結構之量與式(XV)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，為約 1：1。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，式(XIV)結構之量與式(XV)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1：1。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，式(XIV)結構之量與式(XV)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1：1。

**【0230】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另

外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71 且其中 n 為從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，n 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

**【0231】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基



係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，n 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

**【0232】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO:3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，n 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

**【0233】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為包括 SEQ ID NO:3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO:3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 及其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，n 在式(XIV)和式(XV)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

**【0234】** 文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式

(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，n 在式 (XIV)和式(XV)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

【0235】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓至約 200,000 道爾頓，或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓，或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓，或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，

或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓之範圍內。

【0236】文中所描述的為包括 SEQ ID NO:3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。

【0237】文中所描述的為包括 SEQ ID NO:3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，或約 50,000 道爾頓。

【0238】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)之結構或(XV)或(XIV)和(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO:3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64，m 為從 1 至 6 之整數，p 為從 1 至 6 之整數，及 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和(XV)之化合物中，m 為 2，p 為 2 及 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

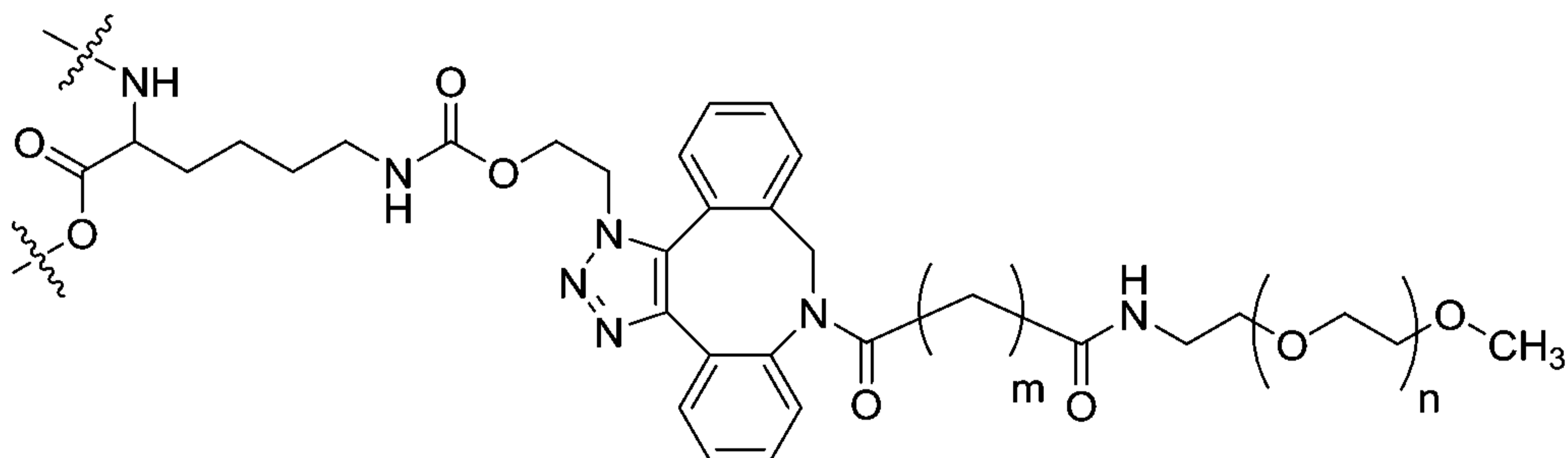
【0239】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO: 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 及其中 m 為從 1 至 6 之整數，p 為從 1 至 6 之整數及 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為 2，p 為 2 及 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0240】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO: 3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 m 為從 1 至 6 之整數，p 為從 1 至 6 之整數及 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為 2，p 為 2 及 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中，n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中，n 為從約 550 至約 800。在某些具體實例中，n 為約 681。

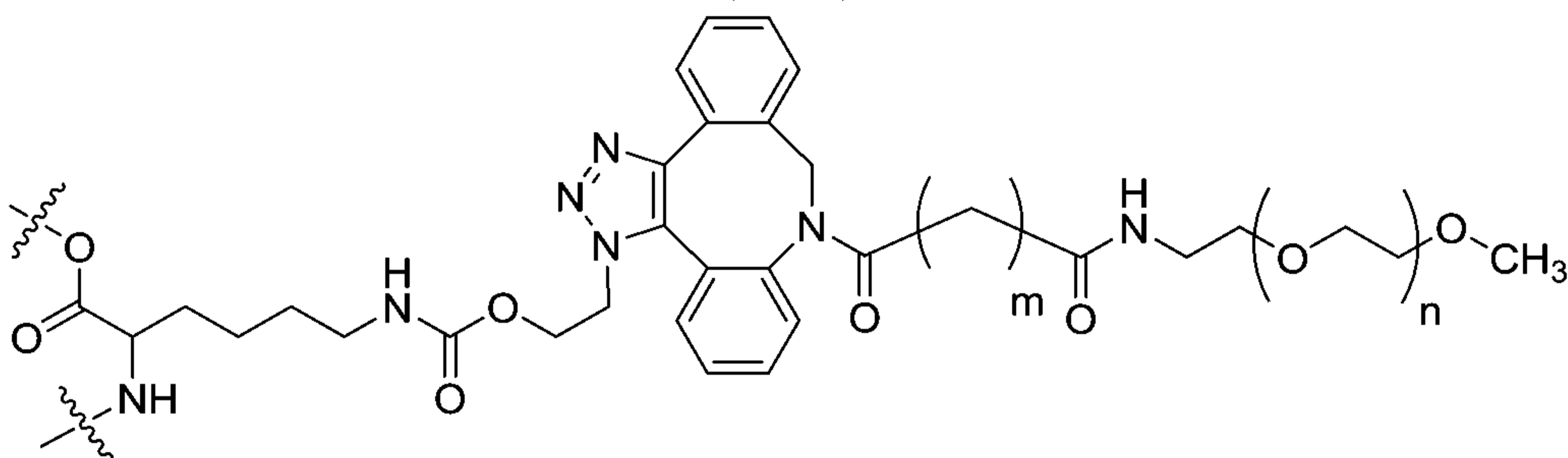
【0241】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XIV)或式(XV)之結構或式(XIV)和式(XV)之混合物置換，其中 SEQ ID NO: 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 m 為從 1 至 6 之整數，p 為從 1 至 6 之整數及 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XIV)和式(XV)之化合物中，m 為

2, p 為 2 及 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910。在某之整數些具體實例中, n 為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中, n 從約 550 至約 800。在某些具體實例中, n 為約 681。

【0242】文中所描述的為於一對象中治療癌症的方法, 該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物, 及(b)一或多種另外的藥劑, 其中該 IL-2 接合物包括 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列, 其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換:



式(XVI);



式(XVII);

其中:

m 為從 0 至 20 之整數;

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數; 及

波形線係指連接 SEQ ID NO:3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【0243】本處及全文, 式(XVI)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。本處及全文, 式(XVII)之結構係包含其醫藥上可接受鹽類、溶劑合物或水合物。在某些具體實例中, 此 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0244】 在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為外消旋，為富含(R)，為富含(S)，為實質上(R)，為實質上(S)，為(R)或為(S)。在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為外消旋。在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為富含(R)。在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為富含(S)。在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為實質上(R)。在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為實質上(S)。在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為(R)。在某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)內的對掌中心之立體化學為(S)。

【0245】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中在式(XVI)和式(XVII)之化合物中 m 為從 1 至 20，或從 1 至 18，或從 1 至 16，或從 1 至 14，或從 1 至 12，或從 1 至 10，或從 1 至 9，或從 1 至 8，或從 1 至 7，或從 1 至 6，或從 1 至 5，或從 1 至 4，或從 1 至 3，或從 1 至 2。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 1。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 2。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 3。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 4。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 5。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 6。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 7。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 8。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 9。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 10。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 11。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 12。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物

中為 13。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中  $m$  為 14。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $m$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 15。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $m$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 16。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $m$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 17。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $m$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 18。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $m$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 19。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $m$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為 20。

**【0246】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中  $n$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。

【0247】 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為從 1 至 6 之整數及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為從 2 至 6 之整數及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，m 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為從 2 至 4 之整數及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 1 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 2 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 3 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 4 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 5 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136 及 1137 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 6 及 n 為選自 113、114、227、228、



340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 7 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 8 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 9 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 10 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 11 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 12 及 n 為選自 113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中，m 為 2 及 n 為選自 680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136及1137之整數。

**【0248】** 在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中 n 在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、

1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中式(I)之結構的位置係參照 SEQ ID NO：3 中的位置。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 K34。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 F41。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 F43。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 K42。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 E61。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 P64。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 R37。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混

合物的位置係在位置 T40。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 E67。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 Y44。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 V68。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物的胺基酸序列中，式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物的位置係在位置 L71。

【0249】在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，式(XVI)結構之量與式(XVII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，為約 1：1。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，式(XVI)結構之量與式(XVII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1：1。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，式(XVI)結構之量與式(XVII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1：1。

【0250】在某些具體實例中，此方法係使用一包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列的 IL-2 接合物，其中該至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換，其係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 和 L71 且其中 n 為從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約

341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $n$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

**【0251】** 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且其中  $n$  為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $n$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

**【0252】** 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中  $n$  為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $n$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

**【0253】** 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基為 E61 且其中  $n$  為從約

450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $n$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中， $n$  為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中， $n$  為從約 550 至約 800。在某些具體實例中， $n$  為約 681。

**【0254】** 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基為 P64 且其中  $n$  為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中， $n$  在式(XVI)和式(XVII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中， $n$  為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中， $n$  為從約 550 至約 800。在某些具體實例中， $n$  為約 681。

**【0255】** 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換，其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓至約 200,000 道爾頓，或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓，或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓，或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓

頓，或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓之範圍內。

【0256】文中所描述的為包括 SEQ ID NO:3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。文中所描述的為包括 SEQ ID NO:3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

【0257】在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO:3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64，m 為從 1 至 6 之整數及 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物

之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中， $m$  為 2 及  $n$  為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

【0258】 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中  $m$  為從 1 至 6 之整數及  $n$  為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中， $m$  為 2 及  $n$  為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0259】 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基為 E61 且其中  $m$  為從 1 至 6 之整數及  $n$  為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中， $m$  為 2 及  $n$  為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中， $n$  為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中， $n$  為從約 550 至約 800。在某些具體實例中， $n$  為約 681。

【0260】 在某些具體實例中文中所描述的為包括 SEQ ID NO：3 胺基酸序列之 IL-2 接合物，其中該 IL-2 接合物中至少一個經式(XVI)或式(XVII)之結構或式(XVI)和式(XVII)之混合物置換的胺基酸殘基為 P64 且其中  $m$  為從 1 至 6 之整數及  $n$  為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。在文中所述的 IL-2 接合物之某些具體實例中，在式(XVI)和式(XVII)之化合物中， $m$  為 2 及  $n$  為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。在某些具體實例中， $n$  為從約 500 至約 1000。在某些具體實例中， $n$  為從約 550 至約 800。在某些具體實例中， $n$  為約 681。

【0261】 在某些具體實例中，文中所描述的為在一有此需要的對象中治療增生性疾病或症狀之方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之(a)表 1 中所述的細胞激素接合物(例如，IL-2 接合物)及(b)一或多種另外的藥劑。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NOs. : 1-98。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NOs. : 1-84。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NOs. : 15-29。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NOs. : 40-54。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NOs. : 55-69。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NOs. : 70-84。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NOs. : 85-98。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 1。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 2。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 3。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 4。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 5。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 6。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 7。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 8。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 9。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 10。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 11。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 12。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 13。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 14。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 15。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 16。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 17。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 18。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 19。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 20。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 21。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 22。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 23。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 24。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 25。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 26。在某些具體



實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：27。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：28。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：24。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：25。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：26。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：27。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：28。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：29。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：30。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：31。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：32。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：33。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：34。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：35。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：36。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：37。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：38。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：39。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：40。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：41。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：42。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：43。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：44。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：45。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：46。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：47。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：48。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：49。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：50。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：51。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：52。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：53。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：54。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：55。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：56。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：57。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：58。在某些具體實例中，此 IL-2

接合物係包括 SEQ ID NO : 59。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 60。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 61。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 62。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 63。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 64。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 65。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 66。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 67。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 68。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 69。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 70。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 71。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 72。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 73。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 74。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 75。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 76。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 77。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 78。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 79。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 80。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 81。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 82。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 83。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 84。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 85。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 86。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 87。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 88。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 89。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 90。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 91。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 92。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 93。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 94。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 95。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ

ID NO : 96。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 97。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 98。

**【0262】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(I)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(II)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(III)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(IV)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(V)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(VI)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(VII)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(VIII)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(IX)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(X)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XI)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XII)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XIII)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XIV)。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XV)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XVI)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XV)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XVI)之結構。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係包括式(XVII)之結構。

**【0263】** 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS : 86、88、90、92、94、96 及 98 之胺基酸序列。在任何這些具體實例中，式(I)之結構或其任何變體，例如式(II)-式(XVII)或其任何變體，係併入包括非天然胺基酸的位置。

**【0264】** 在某些具體實例中，文中所述的為在一胺基酸位置經修飾的 IL-2 接合物。在某些情況下，此修飾係修飾為天然胺基酸。在某些情況下，此修飾係修飾為非天然胺基酸。在某些情況下，文中所述的為包括至少一個非天然胺基酸之經分離和修飾的 IL-2 多肽。在某些情況下，此 IL-2 多肽係包括與任一 SEQ ID NOS : 3 至 84 約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列相同性。在某些情況下，此 IL-2 多肽係包括與任一 SEQ ID NOS : 3 至 84 約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列相同性。

【0265】在某些情況下，此 IL-2 接合物進一步係包括另外的突變。在某些情況下，此另外的突變係位在選自 K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72 及 Y107 的胺基酸位置。在此等情況下，此胺基酸係與另外的接合基團接合，用以增加血清半衰期、穩定性或其組合。另一種選擇，此胺基酸係在與另外的接合基團結合之前先突變為天然的胺基酸，例如離胺酸、半胱胺酸、組胺酸、精胺酸、天門冬胺酸、麩胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或酪胺酸；或突變為非天然胺基酸。

【0266】在某些情況下，此 PEG 基團不限於特定的結構。在某些情況下，此 PEG 為直鏈(例如，封端(end-capped)，例如，烷氧基 PEG 或雙功能性 PEG)，支鏈或多臂(例如，叉型 PEG 或連接一多醇核心的 PEG)，樹突(或星狀)結構，各自有或無一或多個可降解鍵聯。再者，水溶性聚合物的內部結構可以任何數目的不同重複模式來組建並可由下列組成之群中選出：均聚物、交替共聚物、無規共聚物、嵌段共聚物、交替三聚物、無規三聚物和嵌段三聚物。

【0267】PEG 典型地將包括許多(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)單體[或(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)單體，依照 PEG 的定義而定]。如文中所用，重複單元的數目係以「(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>」之下標的「n」來定義。因此，(n)的值典型地係落在一或多個下列範圍內：從 2 至約 3400，從約 100 至約 2300，從約 100 至約 2270，從約 136 至約 2050，從約 225 至約 1930，從約 450 至約 1930，從約 1200 至約 1930，從約 568 至約 2727，從約 660 至約 2730，從約 795 至約 2730，從約 795 至約 2730，從約 909 至約 2730 及從約 1,200 至約 1,900。就任何特定的聚合物，其中分子量為已知的，其可能藉由將聚合物的總平均分子量除以重複單體的分子量來測定重複單元的數目(亦即「n」)。

【0268】在某些情況下，此 PEG 為一封端聚合物，亦即，具有至少一個端點係封蓋上一相當惰性的基團，例如低碳 C<sub>1-6</sub> 烷氧基基團或羥基基團。當此聚合物為 PEG 時，例如可使用甲氧基-PEG(通常稱為 mPEG)，其為一直鏈形式的 PEG，其中聚合物的一端為甲氧基(—OCH<sub>3</sub>)基團，而另一端為羥基或其他可視需要經化學修飾的功能性基團。

【0269】在某些具體實例中，包括文中所述的 IL-2 接合物之 PEG 基團為直鏈或支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為直鏈 PEG 基團。在

某些具體實例中，PEG 基團為支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為直鏈或支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為一具有從約 100 道爾頓至約 150,000 道爾頓之平均分子量的直鏈或支鏈 PEG 基團。例示的範圍包括，例如在大於 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓範圍內，在從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓之範圍內，在從約 10,000 道爾頓至約 85,000 道爾頓之範圍內，在大於 10,000 道爾頓至約 85,000 道爾頓之範圍內，在從約 20,000 道爾頓至約 85,000 道爾頓之範圍內，在從約 53,000 道爾頓至約 85,000 道爾頓之範圍內，在從約 25,000 道爾頓至約 120,000 道爾頓之範圍內，在從約 29,000 道爾頓至約 120,000 道爾頓之範圍內，在從約 35,000 道爾頓至約 120,000 道爾頓及在從約 40,000 道爾頓至約 120,000 道爾頓之範圍內的平均分子量。例示的 PEG 基團之平均分子量包括約 100 道爾頓，約 200 道爾頓，約 300 道爾頓，約 400 道爾頓，約 500 道爾頓，約 600 道爾頓，約 700 道爾頓，約 750 道爾頓，約 800 道爾頓，約 900 道爾頓，約 1,000 道爾頓，約 1,500 道爾頓，約 2,000 道爾頓，約 2,200 道爾頓，約 2,500 道爾頓，約 3,000 道爾頓，約 4,000 道爾頓，約 4,400 道爾頓，約 4,500 道爾頓，約 5,000 道爾頓，約 5,500 道爾頓，約 6,000 道爾頓，約 7,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 8,000 道爾頓，約 9,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 11,000 道爾頓，約 12,000 道爾頓，約 13,000 道爾頓，約 14,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 22,500 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 55,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 65,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 75,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 95,000 道爾頓及約 100,000 道爾頓。在某些具體實例中，PEG 基團為一具有如上所揭示之平均分子量的直鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為一具有如上所揭示之平均分子量的支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，包括文中所述的 IL-2 接合物之 PEG 基團為一具有定義分子量  $\pm 10\%$  或  $15\%$  或  $20\%$  或  $25\%$  之直鏈或支鏈 PEG 基團。例如，包括在本揭示文

之範圍內的為包括一具有  $30,000 \text{ Da} \pm 3000 \text{ Da}$  或  $30,000 \text{ Da} \pm 4,500 \text{ Da}$  或  $30,000 \text{ Da} \pm 6,000 \text{ Da}$  分子量之 PEG 基團的 IL-2 接合物。

**【0270】** 在某些具體實例中，包括文中所述的 IL-2 接合物之 PEG 基團為具有從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈或支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有下列平均分子量之直鏈或支鏈 PEG 基團：約 5,000 道爾頓，約 5,500 道爾頓，約 6,000 道爾頓，約 7,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 8,000 道爾頓，約 9,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 11,000 道爾頓，約 12,000 道爾頓，約 13,000 道爾頓，約 14,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 22,500 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 55,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 65,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 75,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 95,000 道爾頓及約 100,000 道爾頓。在某些具體實例中，PEG 基團為一具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，或約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈或支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，或約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈或支鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的支鏈 PEG 基團。

**【0271】** 在某些具體實例中，包括文中所述的 IL-2 接合物之 PEG 基團為具有從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有下列平均分子量之直鏈甲氧基 PEG 基團：約 5,000 道爾頓，約 5,500 道爾頓，約 6,000 道爾頓，約 7,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 8,000 道爾頓，約 9,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 11,000 道爾頓，約 12,000 道爾頓，約 13,000 道爾頓，約 14,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 22,500 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000

道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 55,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 65,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 75,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 95,000 道爾頓及約 100,000 道爾頓。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，或約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 10,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 20,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 30,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 50,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 60,000 道爾頓之平均分子量的直鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，包括文中所述的 IL-2 接合物之 PEG 基團為一具有定義分子量 $\pm 10\%$ 或 $15\%$ 或 $20\%$ 或 $25\%$ 之直鏈甲氧基 PEG 基團。例如，包括在本揭示文之範圍內的為包括具有 $30,000 \text{ Da} \pm 3000 \text{ Da}$ 或 $30,000 \text{ Da} \pm 4,500 \text{ Da}$ 或 $30,000 \text{ Da} \pm 6,000 \text{ Da}$  分子量之直鏈甲氧基 PEG 基團的 IL-2 接合物。

**【0272】** 在某些具體實例中，包括文中所述的 IL-2 接合物之 PEG 基團為具有從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有下列平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團：約 5,000 道爾頓，約 5,500 道爾頓，約 6,000 道爾頓，約 7,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 8,000 道爾頓，約 9,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 11,000 道爾頓，約 12,000 道爾頓，約 13,000 道爾頓，約 14,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 22,500 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000

道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 55,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 65,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 75,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 95,000 道爾頓及約 100,000 道爾頓。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓或約 60,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 5,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 10,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 20,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 30,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 50,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，PEG 基團為具有約 60,000 道爾頓之平均分子量的支鏈甲氧基 PEG 基團。在某些具體實例中，包括文中所述的 IL-2 接合物之 PEG 基團為具有定義分子量 $\pm 10\%$ 或  $15\%$ 或  $20\%$ 或  $25\%$ 的支鏈甲氧基 PEG 基團。例如，包括在本揭示文之範圍內的為包括具有  $30,000 \text{ Da} \pm 3,000 \text{ Da}$  或  $30,000 \text{ Da} \pm 4,500 \text{ Da}$  或  $30,000 \text{ Da} \pm 6,000 \text{ Da}$  分子量之支鏈甲氧基 PEG 基團的 IL-2 接合物。

**【0273】** 在某些具體實例中，例示的 PEG 基團包括，但不限於來自 Quanta Biodesign, Ltd 之直鏈或支鏈的離散 PEG(dPEG)；來自 Nektar Therapeutics 之直鏈、支鏈或叉型 PEG；及來自 JenKem Technology 之 Y-型 PEG 衍生物。

### 接合化學

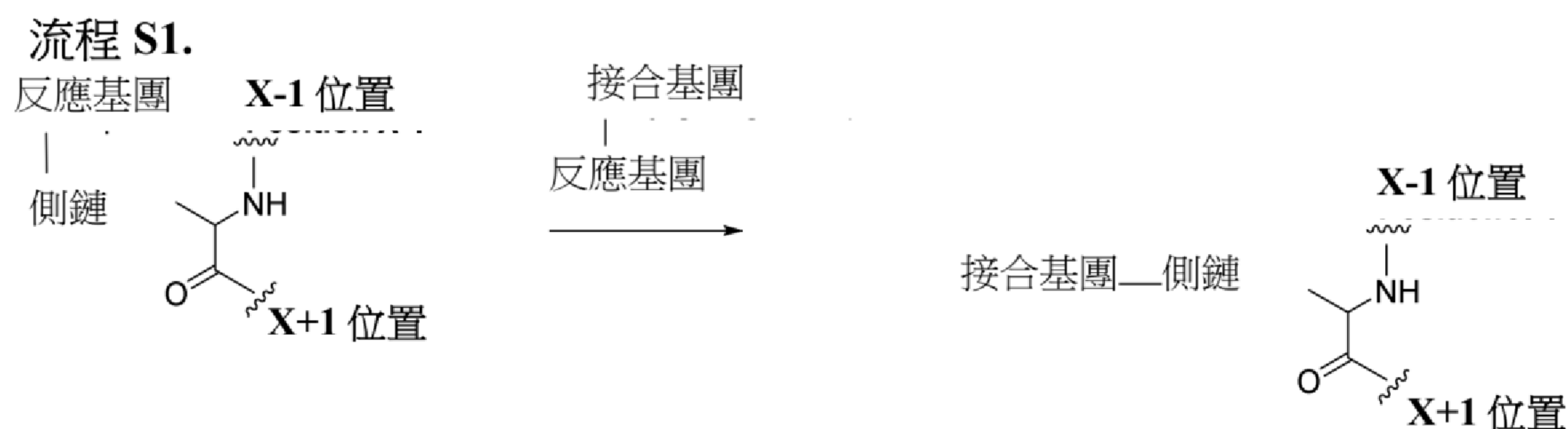


## 接合化學

【0274】 使用各種接合反應來接合併入文中所述之細胞激素多肽中的連接子、接合基團及非天然胺基酸。此等接合反應通常與水性條件為相容的，例如「生物正交」反應。在某些具體實例中，接合反應係由化學試劑，例如催化劑、光或在連接子中發現的反應性化學基團、接合物基團或非天然胺基酸所媒介。在某些具體實例中，接合反應係由酵素所媒介。在某些具體實例中，文中所用的接合反應係描述於 Gong, Y., Pan, L. *Tett. Lett.* 2015, 56, 2123 中。在某些具體實例中，文中所用的接合反應係描述於 Chen, X.; Wu, Y-W. *Org. Biomol. Chem.* 2016, 14, 5417 中。各個這些參考文獻之揭示文係以引用的方式併入本文中。

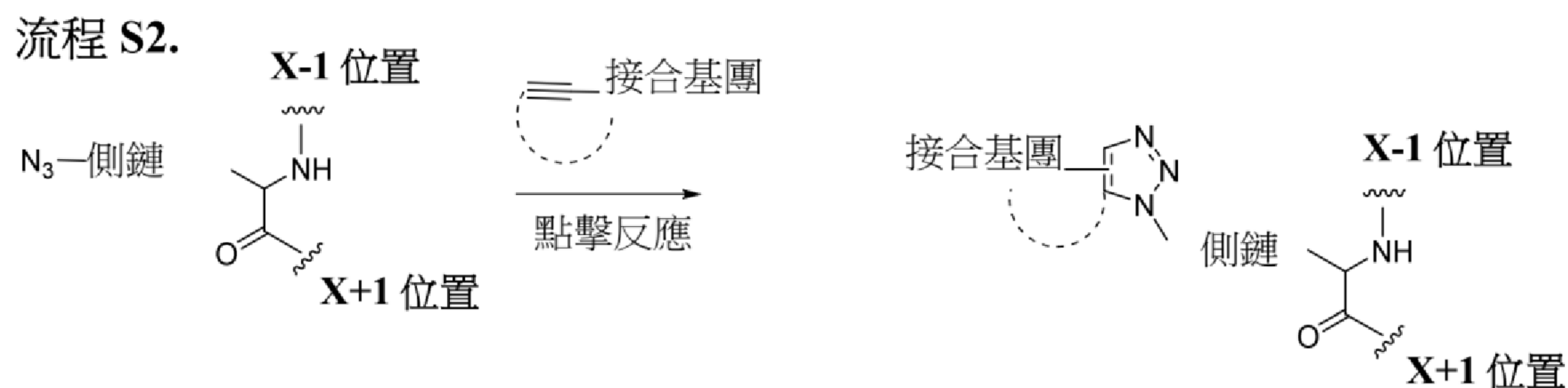
【0275】 在文中所述的某些具體實例中，文中所述的接合反應係包括 1,3-偶極環加成反應。在某些具體實例中，此 1,3-偶極環加成反應係包括疊氮化物和磷之反應(「點擊」反應)。在某些具體實例中，此接合反應係由銅所催化。在某些具體實例中，文中所述的接合反應產生包括一經由三唑連接的連接子或接合基團之細胞激素多肽。在某些具體實例中，文中所述的接合反應係包括疊氮化物與應變力烯烴(**strained olefin**)之反應。在某些具體實例中，文中所述的接合反應係包括疊氮化物與應變力炔(**strained alkyne**)之反應。在某些具體實例中，文中所述的接合反應係包括疊氮化物與環炔，例如 DBCO 之反應。

【0276】 在某些文中所述的具體實例中，文中所述的接合反應係包括流程 S1 中所概述的反應，其中 X 為在包括一非天然胺基酸之 IL-2 接合物中的位置，例如在任一 SEQ ID NOS: 5、6、7、8、9、30、31、32、33 及 34 中的位置。

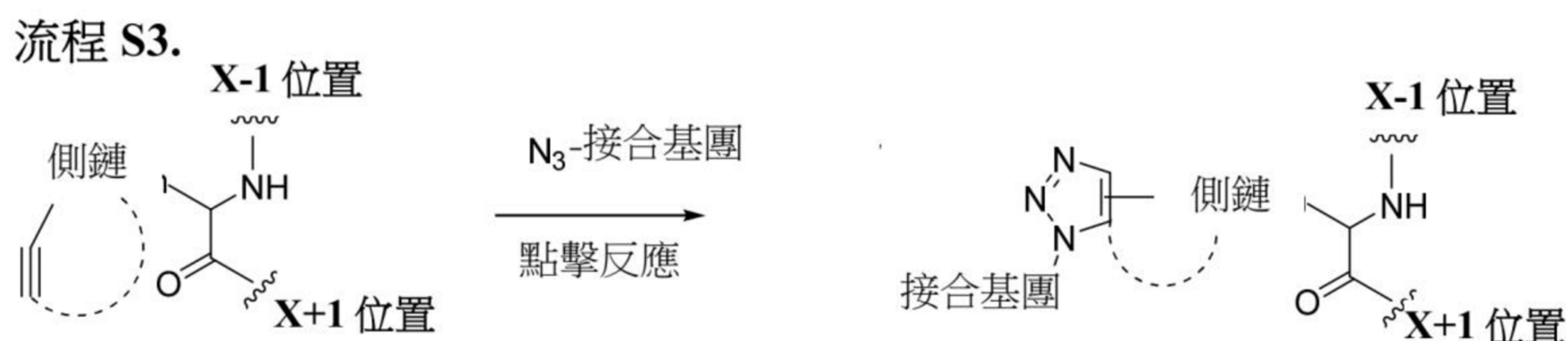


【0277】 在某些具體實例中，此接合基團係包括水溶性聚合物。在某些具體實例中，反應性基團係包括炔或疊氮化物。

【0278】 在某些文中所述的具體實例中，文中所述的接合反應係包括流程 S2 中所概述的反應，其中 X 為在包括一非天然胺基酸之 IL-2 接合物中的位置，例如在任一 SEQ ID NOS：5、6、7、8、9、30、31、32、33 及 34 中的位置。

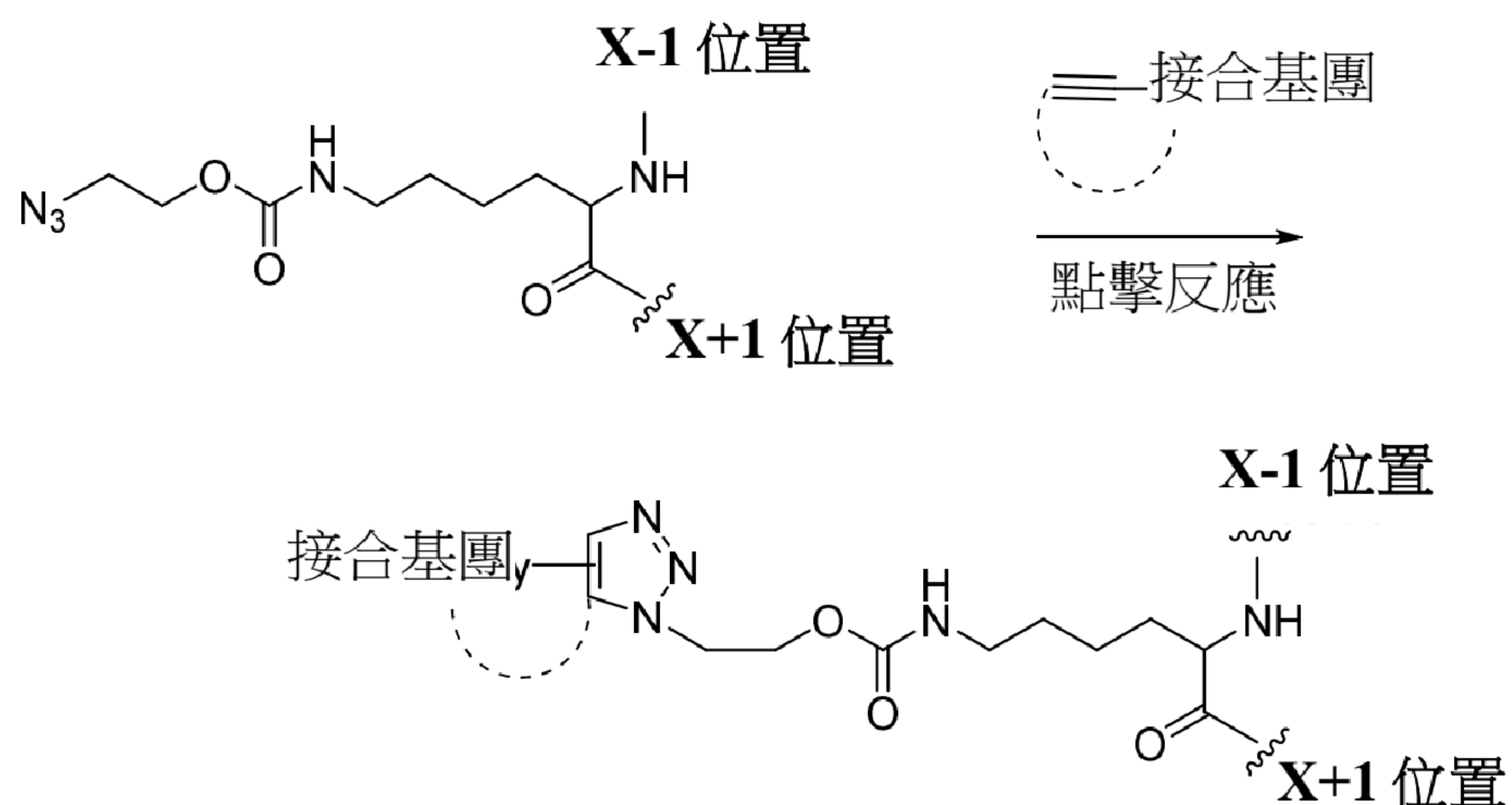


【0279】 在某些文中所述的具體實例中，文中所述的接合反應係包括流程 S3 中所概述的反應，其中 X 為在包括一非天然胺基酸之 IL-2 接合物中的位置，例如在任一 SEQ ID NOS：5、6、7、8、9、30、31、32、33 及 34 中的位置。



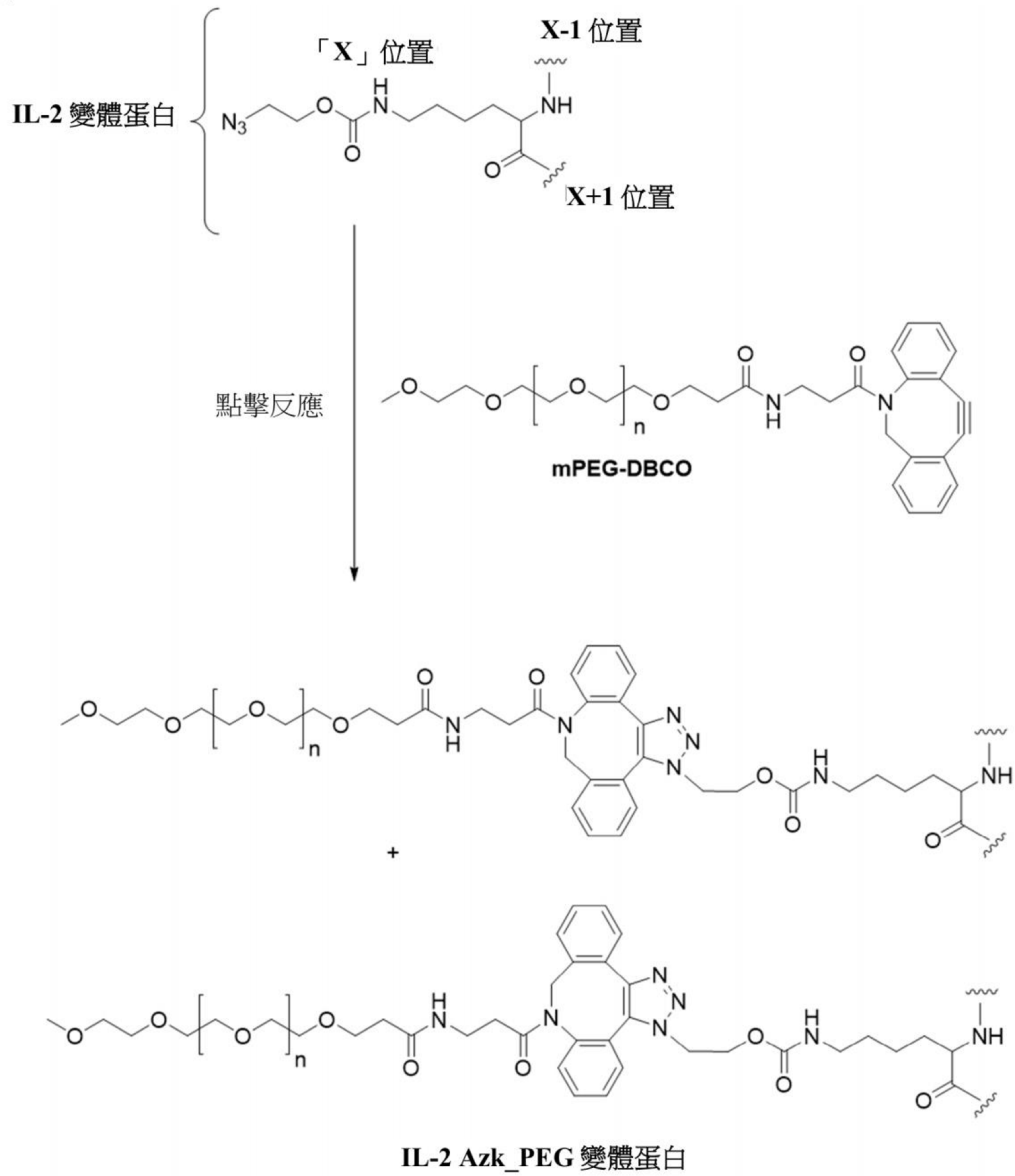
【0280】 在某些文中所述的具體實例中，文中所述的接合反應係包括流程 S4 中所概述的反應，其中 X 為在包括一非天然胺基酸之 IL-2 接合物中的位置，例如任一 SEQ ID NOS：5、6、7、8、9、30、31、32、33 及 34 中的位置。

流程 S4.

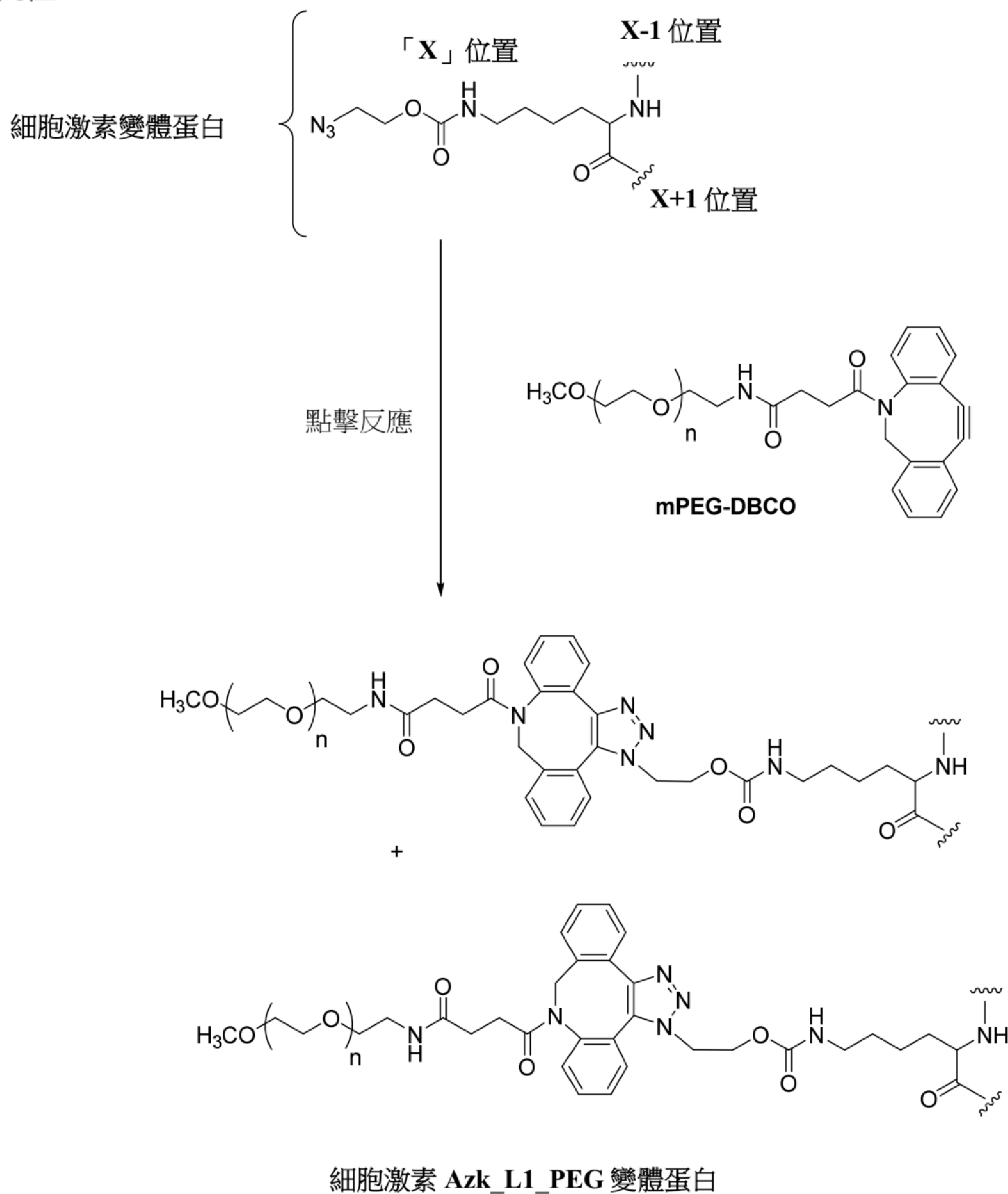


【0281】 在某些文中所述的具體實例中，文中所述的接合反應係包括疊氮化物基團間的環加成反應，例如包含在含有一衍生自 *N*6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-*L*-離胺酸(AzK)及應變力環炔，例如衍生自 DBCO 之胺基酸殘基的蛋白，該 DBCO 為一包括二苯并環辛炔基團之化學基團。包括 DBCO 基團的 PEG 基團可從市面上購得或可藉由本項技術中一般技術者已知的方法來製備。一例示的反應係如流程 S5 和 S6 中所示。

## 流程 S5.



## 流程 S6.



【0282】接合反應例如文中所述的點擊反應可產生一位置異構物或位置異構物之混合物。在某些情形下，位置異構物的比率為約 1：1。在某些情形下，位置異構物的比率為約 2：1。在某些情形下，位置異構物的比率為約 1.5：1。在某些情形下，位置異構物的比率為約 1.2：1。在某些情形下，位置異構物的比率係大於 1：1。

## 細胞激素多肽製造

【0283】在某些情況下，含有天然胺基酸突變或非天然胺基酸突變之文中所述的 IL-2 接合物，係由重組產生或化學合成。在某些情況下，文中所述

的 IL-2 接合物係由重組產生，例如藉由宿主細胞系統或以無細胞系統產生。在任何文中所述的具體實例或變化中，此胺基酸可為 L-胺基酸或 D-胺基酸。在某些具體實例中，此胺基酸為 L-胺基酸。在其他具體實例中，此胺基酸為 D-胺基酸。

【0284】 在某些情況下，IL-2 接合物係經由宿主細胞系統重組所產生。在某些情況下，此宿主細胞為一真核細胞(例如，哺乳動物細胞、昆蟲細胞、酵母菌細胞或植物細胞)或原核細胞(例如，革蘭氏陽性菌或革蘭氏陰性菌)。在某些情況下，真核宿主細胞為一哺乳動物細胞。在某些情況下，哺乳動物宿主細胞為一穩定的細胞株或已將一感興趣基因物質併入其自我基因體中且在許多世代的細胞分裂後具有表現此基因物質產物之能力的細胞株。在其他的情況下，哺乳動物宿主細胞為一基因轉殖細胞株或未將一感興趣基因物質併入其自我基因體中且在許多世代的細胞分裂後不具有表現此基因物質產物之能力的細胞株。

【0285】 例示的哺乳動物宿主細胞係包括 293T 細胞株、293A 細胞株、293FT 細胞株、293F 細胞、293 H 細胞、A549 細胞、MDCK 細胞、CHO DG44 細胞、CHO-S 細胞、CHO-K1 細胞、Expi293F™細胞、Flp-In™ T-REx™ 293 細胞株、Flp-In™-293 細胞株、Flp-In™-3T3 細胞株、Flp-In™-BHK 細胞株、Flp-In™-CHO 細胞株、Flp-In™-CV-1 細胞株、Flp-In™-Jurkat 細胞株、FreeStyle™ 293-F 細胞、FreeStyle™ CHO-S 細胞、GripTite™ 293 MSR 細胞株、GS-CHO 細胞株、HepaRG™細胞、T-REx™ Jurkat 細胞株、Per.C6 細胞、T-REx™-293 細胞株、T-REx™-CHO 細胞株和 T-REx™-HeLa 細胞株。

【0286】 在某些具體實例中，真核宿主細胞為一昆蟲宿主細胞。例示的昆蟲宿主細胞包括果蠅(*Drosophila*)S2 細胞、Sf9 細胞、Sf21 細胞、High Five™ 細胞及 expresSF+®細胞。

【0287】 在某些具體實例中，真核宿主細胞為一酵母菌宿主細胞。例示的酵母菌宿主細胞包括畢赤酵母(*Pichia pastoris*)(*K. phaffii*)酵母菌菌株，例如 GS115、KM71H、SMD1168、SMD1168H 及 X-33 及釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)酵母菌菌株，例如 INVSc1。

【0288】在某些具體實例中，真核宿主細胞為一植物宿主細胞。在某些情況下，此植物細胞係包括來自藻類的細胞。例示的植物細胞株包括來自萊茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)137c，或延長型聚球藻(*Synechococcus elongates*)PPC 7942 之細胞株。

【0289】在某些具體實例中，宿主細胞為一原核宿主細胞。例示的原核宿主細胞包括 BL21、Mach1™、DH10B™、TOP10、DH5α、DH10Bac™、OmniMax™、MegaX™、DH12S™、INV110、TOP10F'、INVαF、TOP10/P3、ccdB Survival、PIR1、PIR2、Stbl2™、Stbl3™或 Stbl4™。

【0290】在某些情況下，用於製造文中所述的 IL-2 多肽之適合的多核酸分子或載體包括任何衍生自真核或原核細胞來源的適合載體。例示的多核酸分子或載體包括來自細菌(例如，大腸桿菌(*E. coli*))、昆蟲、酵母菌(例如，畢斥酵母)、藻類或哺乳動物來源之載體。細菌載體包括，例如，舉例而言 pACYC177、pASK75、pBAD 載體系列、pBADM 載體系列、pET 載體系列、pETM 載體系列、pGEX 載體系列、pHAT、pHAT2、pMal-c2、pMal-p2、pQE 載體系列、pRSET A、pRSET B、pRSET C、pTrcHis2 系列、pZA31-Luc、pZE21-MCS-1、pFLAG ATS、pFLAG CTS、pFLAG MAC、pFLAG Shift-12c、pTAC-MAT-1、pFLAG CTC 或 pTAC-MAT-2。

【0291】昆蟲載體包括，例如 pFastBac1、pFastBac DUAL、pFastBac ET、pFastBac HTa、pFastBac HTb、pFastBac HTc、pFastBac M30a、pFastBac M30b、pFastBac M30c、pVL1392、pVL1393、pVL1393 M10、pVL1393 M11、pVL1393 M12、FLAG 載體，例如 pPolh-FLAG1 或 pPolh-MAT 2，或 MAT 載體，例如 pPolh-MAT1 或 pPolh-MAT2。

【0292】酵母菌載體包括，例如 Gateway® pDEST™ 14 載體、Gateway® pDEST™ 15 載體、Gateway® pDEST™ 17 載體、Gateway® pDEST™ 24 載體、Gateway® pYES-DEST52 載體、pBAD-DEST49 Gateway® 目的載體、pAO815 畢斥酵母載體、pFLD1 畢斥酵母載體、pGAPZA、B、& C 畢斥酵母載體、pPIC3.5K 畢斥酵母載體、pPIC6 A、B、& C 畢斥酵母載體、pPIC9K 畢斥酵母載體、pTEF1/Zeo、pYES2 酵母菌載體、pYES2/CT 酵母菌載體、pYES2/NT A、B、& C 酵母菌載體或 pYES3/CT 酵母菌載體。

【0293】藻類載體包括，例如 pChlamy-4 載體或 MCS 載體。

【0294】哺乳動物載體包括，例如暫時性表現載體或穩定表現載體。例示的哺乳動物暫時性表現載體包括 p3xFLAG-CMV 8、pFLAG-Myc-CMV 19、pFLAG-Myc-CMV 23、pFLAG-CMV 2、pFLAG-CMV 6a,b,c、pFLAG-CMV 5.1、pFLAG-CMV 5a,b,c、p3xFLAG-CMV 7.1、pFLAG-CMV 20、p3xFLAG-Myc-CMV 24、pCMV-FLAG-MAT1、pCMV-FLAG-MAT2、pBICEP-CMV 3 或 pBICEP-CMV 4。例示的哺乳動物穩定表現載體包括 pFLAG-CMV 3、p3xFLAG-CMV 9、p3xFLAG-CMV 13、pFLAG-Myc-CMV 21、p3xFLAG-Myc-CMV 25、pFLAG-CMV 4、p3xFLAG-CMV 10、p3xFLAG-CMV 14、pFLAG-Myc-CMV 22、p3xFLAG-Myc-CMV 26、pBICEP-CMV 1 或 pBICEP-CMV 2。

【0295】在某些情況下，係使用無細胞系統來製造文中所述的細胞激素(例如，IL-2)多肽。在某些情況下，無細胞系統係包括來自一細胞的細胞質及/或核組份之混合物且適合用於活體外核酸合成。在某些情況下，無細胞系統係利用原核細胞組份。在其他的情況下，無細胞系統係利用真核細胞組份。核酸合成係以，例如果蠅細胞、非洲爪蟾卵(Xenopus egg)、古菌(Archaea)或 HeLa 細胞為基礎的無細胞系統所獲得。例示的無細胞系統包括大腸桿菌 S30 萃取系統、大腸桿菌 T7 S30 系統或 PURExpress®、XpressCF 及 XpressCF+。

【0296】無細胞轉譯系統多樣地係包括例如質體、mRNA、DNA、tRNAs、合成酶、釋放因子、核糖體、伴護蛋白(chaperone proteins)、轉譯啟動和延長因子、天然及/或非天然胺基酸之組份，及/或其他用於蛋白表現的組份。此等組份視需要係經修飾，用以提升產率，增加合成率，增加蛋白產物保真度，或併入非天然胺基酸。在某些具體實例中，文中所述的細胞激素係使用 US 8,778,631；US 2017/0283469；US 2018/0051065；US 2014/0315245；或 US 8,778,631 中所述的無細胞轉譯系統來合成。在某些具體實例中，無細胞轉譯系統係包括修飾的釋放因子，或甚至從系統中移除一或多個釋放因子。在某些具體實例中，無細胞轉譯系統係包括還原蛋白酶濃縮。在某些具體實例中，無細胞轉譯系統係包括帶有再分配密碼子，用於編碼非天然胺基酸之修飾的 tRNA。在某些具體實例中，用於併入非天然胺基酸之文中所述的合成酶係用



於無細胞轉譯系統中。在某些具體實例中，tRNA 在加入無細胞轉譯系統之前係使用酵素或化學方法預承載非天然胺基。在某些具體實例中，用於無細胞轉譯系統的組份係由修飾的生物體所獲得，例如修飾的細菌、酵母菌或其他生物體。

【0297】 在某些具體實例中，細胞激素(例如，IL-2)多肽係經由一表現宿主系統或經由無細胞系統，以環狀排列的形式產生。

### 製造包括非天然胺基酸之細胞激素多肽

【0298】 正交的(orthogonal)或擴展的基因密碼可用於本揭示文中，其中一或多個存在細胞激素(例如，IL-2)多肽之核酸序列中的特定密碼子係經分配用於編碼非天然胺基酸，使得其可藉由使用正交 tRNA 合成酶/tRNA 對在基因上併入細胞激素(例如，IL-2)中。正交 tRNA 合成酶/tRNA 對能使 tRNA 接上非天然胺基酸並能回應此密碼子將非天然胺基酸併入此多肽鏈。

【0299】 在某些情況下，此密碼子為琥珀(amber)、赭石(ochre)、蛋白石(opal)或四聯體密碼子。在某些情況下，此密碼子係對應將用於攜帶非天然胺基酸之正交 tRNA。在某些情況下，此密碼子為琥珀密碼子。在其他的情況下，此密碼子為正交密碼子。

【0300】 在某些情況下，此密碼子為四聯體密碼子，其可藉由正交的核醣體 ribo-Q1 解碼。在某些情況下，此四聯體密碼子係如 Neumann, *et al.*, “Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome,” *Nature*, **464**(7287): 441-444 (2010)中所述，其揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0301】 在某些情況下，用於本揭示文的密碼子為再編碼(recoded)密碼子，例如，同義密碼子或稀有密碼子，其可經替代的密碼子置換。在某些情況下，此再編碼密碼子係如 Napolitano, *et al.*, “Emergent rules for codon choice elucidated by editing rare arginine codons in *Escherichia coli*,” *PNAS*, **113**(38): E5588-5597 (2016)中所述。在某些情況下，此再編碼密碼子係如 Ostrov *et al.*, “Design, synthesis 及 testing toward a 57-codon genome,” *Science* **353**(6301): 819-822 (2016)中所述。各自這些參考文獻之揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0302】 在某些情況下，係利用非天然核酸將一或多個非天然胺基酸併入細胞激素(例如，IL-2)中。例示的非天然核酸包括，但不限於尿嘧啶-5-基、黃嘌呤-9-基(I)、2-胺基腺嘌呤-9-基、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤、次黃嘌呤、2-胺基腺嘌呤、腺嘌呤和鳥嘌呤之 6-甲基和其他烷基衍生物、腺嘌呤和鳥嘌呤之 2-丙基和其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和 2-硫胞嘧啶、5-鹵基尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-鹵基、8-胺基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羥基和其他 8-經取代腺嘌呤和鳥嘌呤、5-鹵基尤其是 5-溴、5-三氟甲基和其他 5-經取代尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鳥嘌呤和 7-甲基腺嘌呤、8-氮鳥嘌呤和 8-氮腺嘌呤、7-去氮鳥嘌呤和 7-去氮腺嘌呤和 3-去氮鳥嘌呤和 3-去氮腺嘌呤。特定的非天然核酸，例如 5-經取代嘧啶、6-氮嘧啶和 N-2 經取代嘌呤、N-6 經取代嘌呤、O-6 經取代嘌呤、2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶，該等增加雙工形成之穩定性，通用核酸、疏水性核酸、混雜核酸、尺寸擴大的核酸、氟化核酸、5-經取代嘧啶、6-氮嘧啶和 N-2、N-6 及 O-6 經取代嘌呤包括 2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶和 5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤、次黃嘌呤、2-胺基腺嘌呤、腺嘌呤和鳥嘌呤的 6-甲基、其他烷基之衍生物、腺嘌呤和鳥嘌呤之 2-丙基和其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和 2-硫胞嘧啶、5-鹵基尿嘧啶、5-鹵基胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH<sub>3</sub>)尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、嘧啶核酸的其他炔基衍生物、6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-鹵基、8-胺基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羥基和其他 8-經取代腺嘌呤和鳥嘌呤、5-鹵基尤其是 5-溴、5-三氟甲基、其他 5-經取代尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鳥嘌呤、7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-胺基-腺嘌呤、8-氮鳥嘌呤、8-氮腺嘌呤、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮腺嘌呤、3-去氮鳥嘌呤、3-去氮腺嘌呤、三環嘧啶、啡啶吡胞昔([5,4-b][1,4] 苯并啡啶-2(3H)-酮)、啡噻吡胞昔(1H-嘧啶并[5,4-b][1,4] 苯并噻吡-2(3H)-酮)、G-clamp、啡啶吡胞昔(例如，9-(2-胺基乙氧基)-H-嘧啶并[5,4-b][1,4] 苯并啡啶-2(3H)-酮)、呋啶胞昔(2H-嘧啶并[4,5-b] 吡啶-2-酮)、吡啶并吡啶胞昔(H-吡啶并[3',2':4,5] 吡咯并[2,3-d] 嘧啶-2-酮)、該等其中嘌呤或嘧啶鹼基係經其他雜

環置換者、7-去氮-腺嘌呤、7-去氮鳥苷、2-胺基吡啶、2-吡啶酮、氮胞嘧啶、5-溴胞嘧啶、溴尿嘧啶、5-氮胞嘧啶、氯化胞嘧啶、環胞嘧啶、胞嘧啶阿糖胞苷、5-氟胞嘧啶、氟嘧啶、氟尿嘧啶、5,6-二氫胞嘧啶、5-碘胞嘧啶、羥基脲、碘尿嘧啶、5-硝基胞嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氮尿嘧啶、5-氟尿嘧啶及5-碘尿嘧啶、2-胺基-腺嘌呤、6-硫-鳥嘌呤、2-硫-胸腺嘧啶、4-硫-胸腺嘧啶、5-丙炔基-尿嘧啶、4-硫-尿嘧啶、N4-乙基胞嘧啶、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮-8-氮鳥嘌呤、5-羥基胞嘧啶、2'-去氧脲苷、2-胺基-2'-去氧腺苷及該等描述於美國專利編號 3,687,808 ; 4,845,205 ; 4,910,300 ; 4,948,882 ; 5,093,232 ; 5,130,302 ; 5,134,066 ; 5,175,273 ; 5,367,066 ; 5,432,272 ; 5,457,187 ; 5,459,255 ; 5,484,908 ; 5,502,177 ; 5,525,711 ; 5,552,540 ; 5,587,469 ; 5,594,121 ; 5,596,091 ; 5,614,617 ; 5,645,985 ; 5,681,941 ; 5,750,692 ; 5,763,588 ; 5,830,653 和 6,005,096 ; WO 99/62923 ; Kandimalla et al., (2001) *Bioorg. Med. Chem.* 9 : 807-813 ; *The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, Kroschwitz, J.I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858- 859 ; Englisch et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613 ; and Sanghvi, Chapter 15, *Antisense Research and Applications*, Crooke and Lebleu Eds., CRC Press, 1993, 273-288 。另外的鹼基修飾可參見，例如美國專利第 3,687,808 號 ; Englisch et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613 ; and Sanghvi, Chapter 15, *Antisense Research and Applications*, pages 289-302, Crooke and Lebleu ed., CRC Press, 1993 。各自這些參考文獻之揭示文係以引用的方式併入本文中。

**【0303】** 包括各種雜環鹼基和各種糖基團(和糖類似物)之非天然核酸在本項技術中為可取得的，且在某些情況下該等核酸係包括一或數個主要五種天然生成核酸之鹼基組份以外的雜環鹼基。例如，在某些情況下，此雜環鹼基包括，尿嘧啶-5-基、胞嘧啶-5-基、腺嘌呤-7-基、腺嘌呤-8-基、鳥嘌呤-7-基、鳥嘌呤-8-基、4-胺基吡咯并[2.3-d]嘧啶-5-基、2-胺基-4-側氧吡咯并[2、3-d]嘧啶-5-基、2-胺基-4-側氧吡咯并[2.3-d]嘧啶-3-基基團，其中嘌呤係經由 9-位置，嘧啶係經由 1-位置，吡咯并嘧啶係經由 7-位置及吡啶并嘧啶係經由 1-位置，與核酸的糖基團相連接。

【0304】 在某些具體實例中，核苷酸類似物亦在磷酸基團經修飾。經修飾的磷酸基團包括，但不限於該等在二個核苷酸間的鍵聯帶有修飾並含有，例如硫代磷酸、對掌硫代磷酸、二硫代磷酸、磷酸三酯、胺基烷基磷酸三酯、甲基和其他烷基磷酸酯，包括 3'-伸烷基磷酸酯和對掌磷酸酯、次磷酸酯、磷醯胺酯包括 3'-胺基磷醯胺酯和胺基烷基磷醯胺酯、硫酮磷醯胺酯、硫酮烷基磷酸酯、硫酮烷基磷酸三酯及硼磷酸酯。請了解，這些在二個核苷酸之間的磷酸或修飾的磷酸鍵聯係經由 3'-5' 鍵聯或 2'-5' 鍵聯且此鍵聯係含有反極性，例如 3'-5' 至 5'-3' 或 2'-5' 至 5'-2'。亦包括各種鹽類、混合鹽類和游離酸形式。許多美國專利教導了如何製造和使用含有修飾磷酸之核苷酸並包括，但不限於 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5,177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455,233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563,253; 5,571,799; 5,587,361; 和 5,625,050，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0305】 在某些具體實例中，非天然核酸包括 2',3'-二去氧-2',3'-二去氧-核 苷(PCT/US2002/006460)、5'-經 取 代 DNA 和 RNA 衍 生 物 (PCT/US2011/033961; Saha et al., *J, Org Chem.*, 1995, 60, 788-789; Wang et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 885-890; 和 Mikhailov et al., *Nucleosides & Nucleotides*, 1991, 10(1-3), 339-343; Leonid et al., 1995, 14(3-5), 901-905; 及 Eppacher et al., *Helvetica Chimica Acta*, 2004, 87, 3004-3020; PCT/JP2000/004720; PCT/JP2003/002342; PCT/JP2004/013216; PCT/JP2005/020435; PCT/JP2006/315479; PCT/JP2006/324484; PCT/JP2009/056718; PCT/JP2010/067560)，或以修飾鹼基所製造的 5'-經取代單體之單磷酸鹽(Wang et al., *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids*, 2004, 23 (1 & 2), 317-337)。各自這些參考文獻之揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0306】 在某些具體實例中，非天然核酸係在糖環的 5'-位置和 2'-位置包括修飾(PCT/US94/02993)，例如經 5'-CH<sub>2</sub>-取代 2'-O-保護的核苷酸(Wu et al., *Helvetica Chimica Acta*, 2000, 83, 1127-1143 和 Wu et al., *Bioconjugate Chem.* 1999, 10, 921-924)。在某些情況下，非天然核酸係包括經製備用於併入寡核

昔中之連接醯胺的核苷酸二聚體，其中二聚體中 3' 連接的核苷(5' 至 3') 係包括 2'-OCH<sub>3</sub> 和 5'-(S)-CH<sub>3</sub>(Mesmaeker et al., Synlett, 1997, 1287-1290)。非天然核酸可包括 2'-經取代 5'-CH<sub>2</sub>(或 O)修飾的核苷酸(PCT/US92/01020)。非天然核酸可包括 5'-亞甲基磷酸酯 DNA 和 RNA 單體及二聚體(Bohringer et al., Tet. Lett., 1993, 34, 2723-2726; Collingwood et al., Synlett, 1995, 7, 703-705; and Hutter et al., Helvetica Chimica Acta, 2002, 85, 2777-2806)。非天然核酸可包括具有 2'-經取代之 5'-磷酸酯單體(US2006/0074035)和其他修飾的 5'-磷酸酯單體(WO1997/35869)。非天然核酸可包括 5'-修飾的亞甲基磷酸酯單體(EP614907 和 EP629633)。非天然核酸可包括在 5' 及/或 6'-位置包括一羥基基團之 5' 或 6'-磷酸酯核糖核苷的類似物(Chen et al., Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2002, 777, 1783-1786; Jung et al., Bioorg. Med. Chem., 2000, 8, 2501-2509; Gallier et al., Eu. J. Org. Chem., 2007, 925-933; 及 Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19(8), 1029-1033)。非天然核酸可包括 5'-磷酸酯去氧核糖核苷單體和具有 5'-磷酸基團的二聚體(Nawrot et al., Oligonucleotides, 2006, 16(1), 68-82)。非天然核酸可包括具有 6'-磷酸酯基團之核苷其中 5' 或/及 6'-位置為未經取代或經硫基-第三丁基基團(SC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)(及其類似物); 亞甲基胺基基團(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)(及其類似物)或氰基基團(CN)(及其類似物)取代(Fairhurst et al., Synlett, 2001, 4, 467-472; Kappler et al., J. Med. Chem., 1986, 29, 1030-1038; Kappler et al., J. Med. Chem., 1982, 25, 1179-1184; Vrudhula et al., J. Med. Chem., 1987, 30, 888-894; Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19, 1371-1377; Geze et al., J. Am. Chem. Soc, 1983, 105(26), 7638-7640; 及 Hampton et al., J. Am. Chem. Soc, 1973, 95(13), 4404-4414)。各自這些參考文獻之揭示文係以引用的方式併入本文中。

**【0307】** 在某些具體實例中，非天然核酸亦包括糖基團之修飾。在某些情況下，核酸係含有一或多個其中糖基團已經修飾之核苷。此等糖經修飾的核苷可賦予提升的核酸酶穩定性，增加結合親和力或某些其他有利的生物性質。在特定的具體實例中，核酸係包括化學修飾的呋喃核糖環基團。化學修飾的呋喃核糖環之實例包括，不限於，加入取代基基團(包括 5' 及/或 2' 取代基基團; 二環個原子之橋接形成雙環核酸(BNA); 核糖基環氧原子經 S、N(R) 或 C(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>)(R = H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 烷基或保護基團)置換; 及其組合。化學修飾的糖

之實例可參見 WO2008/101157、US2005/0130923 及 WO2007/134181，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

**【0308】** 在某些情況下，修飾的核酸係包括修飾的糖或糖類似物。因此，除了核糖和去氧核糖外，此糖基團可為五碳糖、去氧五碳糖、六碳糖、去氧六碳糖、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、來蘇糖或糖「類似物」環戊基基團。糖可為吡喃基或呋喃基形式。糖基團可為核糖、去氧核糖、阿拉伯糖、或 2'-O-烷基核糖的呋喃糖苷，且此糖可與[α]或[β]變旋異構組態之個別的雜環鹼基相連接。糖修飾係包括，但不限 2'-烷氧基-RNA 類似物、2'-胺基-RNA 類似物、2'-氟-DNA 及 2'-烷氧基-或胺基-RNA/DNA 嵌合體。例如，糖修飾可包括 2'-O-甲基-尿苷或 2'-O-甲基-胞苷。糖修飾係包括經 2'-O-烷基-取代的去氧核糖核糖苷和類 2'-O-乙二醇核糖核糖苷。這些糖或糖類似物及其中此等糖或類似物係連接一雜環鹼基(核酸鹼基)的個別的「核糖」之製備，已為所知。亦可製造糖修飾及與其他修飾組合。

**【0309】** 糖基團的修飾係包括核糖和去氧核糖的天然修飾以及非天然修飾。糖修飾包括，但不限於下列在 2'位置的修飾：OH；F；O-、S-或 N-烷基；O-、S-或 N-烯基；O-、S-或 N-炔基；或 O-烷基-O-烷基，其中烷基、烯基和炔基可為經取代或未經取代 C<sub>1</sub> 至 C<sub>10</sub> 烷基或 C<sub>2</sub> 至 C<sub>10</sub> 烯基和炔基。2'糖修飾亦包括但不限於-O[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O]<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OCH<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ONH<sub>2</sub> 及-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ON[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>，其中 n 和 m 為從 1 至約 10。

**【0310】** 在 2'位置的其他修飾係包括但不限於：C<sub>1</sub> 至 C<sub>10</sub> 低碳烷基、經取代低碳烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基、O-芳烷基、SH、SCH<sub>3</sub>、OCN、Cl、Br、CN、CF<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、SOCH<sub>3</sub>、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、ONO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、雜環烷基、雜環烷芳基、胺基烷基胺基、聚烷胺基、經取代矽基、RNA 裂解基團、報導子基團、嵌入劑、改善寡核苷酸的藥物動力學性質之基團或改善寡核苷酸的藥效動力學性質之基團及其他具有類似性質的取代基。亦可在糖上的其他位置包括類似的修飾，尤其是 3'端核苷酸上糖的 3'位置或在 2'-5'連接的寡核苷酸和 5'端核苷酸的 5'位置。修飾的糖亦包括該等在橋接環氧含有修飾者，例如 CH<sub>2</sub> 和 S。核苷酸糖類似物亦可具有糖模擬物，例如環丁基基團取代五呋

喃糖基糖。有許多的美國專利教示此等修飾糖結構的製備且其係詳細描述一範圍的鹼基修飾，例如美國專利編號 4,981,957; 5,118,800; 5,319,080; 5,359,044; 5,393,878; 5,446,137; 5,466,786; 5,514,785; 5,519,134; 5,567,811; 5,576,427; 5,591,722; 5,597,909; 5,610,300; 5,627,053; 5,639,873; 5,646,265; 5,658,873; 5,670,633; 4,845,205; 5,130,302; 5,134,066; 5,175,273; 5,367,066; 5,432,272; 5,457,187; 5,459,255; 5,484,908; 5,502,177; 5,525,711; 5,552,540; 5,587,469; 5,594,121, 5,596,091; 5,614,617; 5,681,941; 和 5,700,920，其各自係以全文引用的方式併入本文中。

**【0311】** 具有修飾糖基團之核酸的實例包括，不限於包括 5'-乙烯基、5'-甲基(R 或 S)、4'-S、2'-F、2'-OCH<sub>3</sub> 及 2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 取代基基團之核酸。在 2'位置的取代基亦可選自烯丙基、胺基、疊氮基、硫基、O-烯丙基、O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基)、OCF<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)及 O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)，其中各 R<sub>m</sub> 和 R<sub>n</sub> 獨立地為 H 或經取代或未經取代 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基。

**【0312】** 在特定的具體實例中，文中所述的核酸係包括一或多個雙環核酸。在特定的此等具體實例中，雙環核酸係括介於 4'和 2'核糖基環原子之間的橋聯。在特定的具體實例中，文中所提供的核酸係包括一或多個雙環核酸，其中該橋聯係包括 4'至 2'雙環核酸。此等 4'至 2'雙環核酸之實例包括，但不限，下式之一：4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2' (LNA)；4'-(CH<sub>2</sub>)-S-2'；4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2' (ENA)；4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'和 4'-CH(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2'及其類似物(參見，美國專利第 7,399,845 號)；4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2'及其類似物，(參見 WO2009/006478、WO2008/150729, US2004/0171570、美國專利第 7,427,672 號，Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 209, 74, 118-134 及 WO2008/154401)。亦參見，例如：Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456；Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630；Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638；Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222；Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039；Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379；Elayadi et al., Curr. Opinion Invens. Drugs, 2001, 2, 558-561；Braasch et al., Chem. Biol, 2001, 8, 1-7；Oram et al., Curr. Opinion Mol. Ther.,

2001, 3, 239-243 ; 美國專利編號 4,849,513 ; 5,015,733 ; 5,118,800 ; 5,118,802 ; 7,053,207 ; 6,268,490 ; 6,770,748 ; 6,794,499 ; 7,034,133 ; 6,525,191 ; 6,670,461 ; 和 7,399,845 ; 國際申請案號 WO2004/106356 、 WO1994/14226 、 WO2005/021570 、 WO2007/090071 及 WO2007/134181 ; 美國專利公開案號 US2004/0171570 、 US2007/0287831 及 US2008/0039618 ; 美國臨時申請案號 60/989,574 、 61/026,995 、 61/026,998 、 61/056,564 、 61/086,231 、 61/097,787 及 61/099,844 ; 和國際公開案號 PCT/US2008/064591 、 PCT US2008/066154 、 PCT US2008/068922 及 PCT/DK98/00393 , 各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

**【0313】** 在特定的具體實例中，核酸係包括連接的核酸。核酸可使用任何核酸間的鍵聯相連一起。二種主要種類的核酸間連接基團係以有或無磷原子之存在來定義。代表性含磷的核酸間鍵聯包括，但不限於磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、磷醯胺酯及硫代磷酸(P=S)。代表性不含磷的核酸間連接基團包括，但不限於亞甲基甲基亞胺基(-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-CH<sub>2</sub>-)、硫二酯(-O-C(O)-S-)、硫羰胺甲酸酯(-O-C(O)(NH)-S-)；矽氧烷(-O-Si(H)<sub>2</sub>-O-)；和 N,N\*-二甲基胍(-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>))。在特定的具體實例中，具有對掌原子之核酸間鍵聯可製備為外消旋混合物、分離的鏡像異構物，例如，烷基膦酸酯和硫代磷酸。非天然核酸可含有單一修飾。非天然核酸可在一或多個基團內或不同基團之間含有多個修飾。

**【0314】** 核酸之骨架磷酸修飾係包括，但不限甲基膦酸酯、硫代磷酸、磷醯胺酯(橋接或非橋接)、磷酸三酯、二硫代磷酸、二硫代磷酸酯及硼烷磷酸酯，且可以任何組合來使用。亦可使用其他非磷酸鍵聯。

**【0315】** 在某些具體實例中，骨架修飾(例如，甲基膦酸酯、硫代磷酸、亞磷醯胺和二硫代磷酸核苷酸間鍵聯)可在修飾的核酸上賦予免疫調節活性及/或在活體內提升其穩定性。

**【0316】** 在某些情況下，磷衍生物(或修飾的磷酸基團)係連接糖或糖類似物基團並可為單磷酸酯、二磷酸酯、三磷酸酯、烷基膦酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷醯胺酯或諸如此類。含有修飾磷酸鍵聯或非磷酸鍵聯之例示的聚核苷酸可參見 Peyrottes et al., 1996, Nucleic Acids Res . 24 :1841-1848 ;



Chaturvedi et al., 1996, *Nucleic Acids Res.* 24: 2318-2323; 和 Schultz et al., (1996) *Nucleic Acids Res.* 24: 2966-2973; Matteucci, 1997, "Oligonucleotide analogs: an Overview" in *Oligonucleotides as Therapeutic Agents*, (Chadwick and Cardew, ed.) John Wiley and Sons, New York, NY; Zon, 1993, "Oligonucleoside Phosphorothioates" in *Protocols for Oligonucleotides and analogs, Synthesis and Properties*, Humana Press, pp. 165-190; Miller et al., 1971, *JACS* 93: 6657-6665; Jager et al., 1988, *Biochem.* 27: 7247-7246; Nelson et al., 1997, *JOC* 62: 7278-7287; 美國專利第 5,453,496 號; 和 Micklefield, 2001, *Curr. Med. Chem.* 8: 1157-1179, 其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

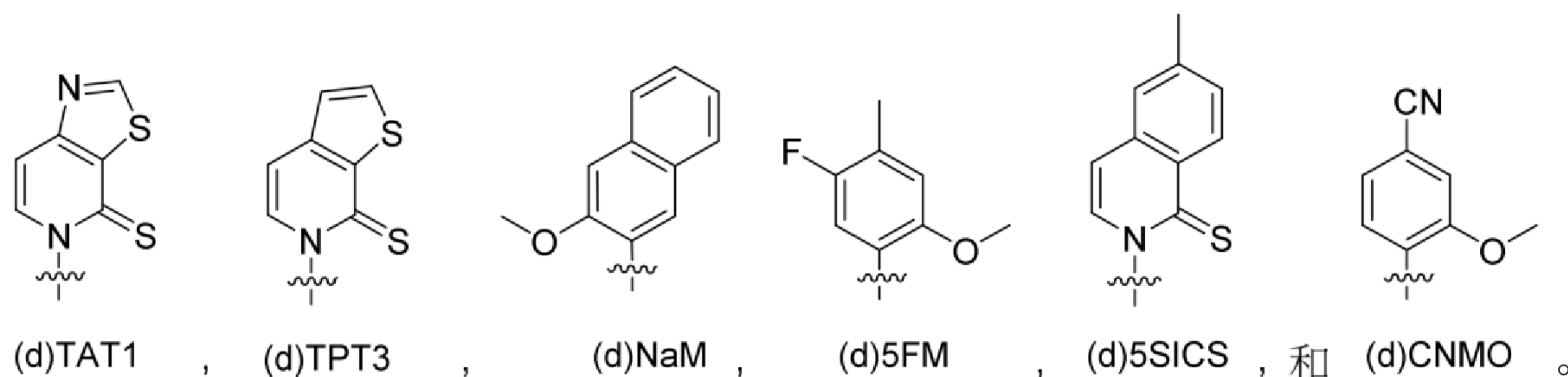
**【0317】** 在某些情況下，骨架修飾係包括以替代基團，例如陰離子、中性或陽離子基團取代磷酸二酯鍵聯。此等修飾之實例包括：陰離子核苷間鍵聯；N3'至 P5'磷醯胺酯修飾；硼烷磷酸酯 DNA；原寡核苷酸；中性核苷間鍵聯，例如甲基磷酸酯；醯胺連接的 DNA；亞甲基(甲基亞胺基)鍵聯；甲縮醛和硫代甲縮醛；含有磺醯基基團的骨架；嗎福啉基寡核苷酸；胍核酸(PNA)；和帶正電去氧核糖核酸胍(DNG)寡聚物(Micklefield, 2001, *Current Medicinal Chemistry* 8: 1157-1179, 其揭示文係以引用的方式併入本文中)。修飾的核酸可包括含有一或多個修飾之嵌合或混合的骨架，例如磷酸酯鍵聯之組合，如磷酸二酯和硫代磷酸酯鍵聯之組合。

**【0318】** 磷酸之取代包括，例如短鏈烷基或環烷基核苷間鍵聯，混合的雜原子和烷基或環烷基核苷間鍵聯，或一或多個短鏈雜原子或雜環核苷間鍵聯。這些包括該等具有嗎福啉基鍵聯者(部分係從核苷的糖部分所形成)；矽氧烷骨架；硫化物、亞砷和砷骨架；甲縮醛和硫代甲縮醛骨架；亞甲基甲縮醛和硫代甲縮醛骨架；含烯烴骨架；胺基磺酸骨架；亞甲基亞胺基和亞甲基胍基骨架；磺酸和磺醯胺骨架；醯胺骨架；及其他具有混合 N、O、S 和 CH<sub>2</sub> 組份部分的骨架。許多美國專利揭示了如何製造和使用這些類型的磷酸置換並包括，但不限於美國專利編號 5,034,506; 5,166,315; 5,185,444; 5,214,134; 5,216,141; 5,235,033; 5,264,562; 5,264,564; 5,405,938; 5,434,257; 5,466,677; 5,470,967; 5,489,677; 5,541,307; 5,561,225; 5,596,086; 5,602,240; 5,610,289; 5,602,240; 5,608,046; 5,610,289; 5,618,704; 5,623,070; 5,663,312; 5,633,360;

5,677,437；和 5,677,439，各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。亦請了解，在核苷酸的取代中，核苷酸的糖和磷酸基團二者可經，例如醯胺類鍵聯(胺基乙基甘胺酸)(PNA)置換。美國專利編號 5,539,082；5,714,331；和 5,719,262 教導如何製造和使用 PNA 分子，其各自係以引用的方式併入本文中。亦參見 Nielsen et al., *Science*, 1991, 254, 1497-1500。亦可能將其他類型的分子(接合物)與核苷酸或核苷酸類似物連接，用以促進例如細胞吸收。接合物可化學上與核苷酸或核苷酸類似物連接。此等接合物包括但不限於脂質基團，例如膽固醇基團(Letsinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86, 6553-6556)，膽酸(Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4, 1053-1060)，硫醚，例如，己基-S-三苯基甲硫醇(Manoharan et al., *Ann. NY Acad. Sci.*, 1992, 660, 306-309；Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3, 2765-2770)，巰基膽固醇(Oberhauser et al., *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20, 533-538)，脂肪鏈，例如，十二烷二醇或十一基殘基(Saison-Behmoaras et al., *EMBO J*, 1991, 10, 1111-1118；Kabanov et al., *FEBS Lett.*, 1990, 259, 327-330；Svinarchuk et al., *Biochimie*, 1993, 75, 49-54)，磷脂質，例如，二-十六烷基-外消旋-甘油或 1-二-O-十六烷基-外消旋-甘油基-S-H-磷酸三乙銨(Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 3651-3654；Shea et al., *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18, 3777-3783)，聚胺或聚乙二醇鏈(Manoharan et al., *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14, 969-973)，或金剛烷乙酸(Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 3651-3654)，棕櫚基基團(Mishra et al., *Biochem. Biophys. Acta*, 1995, 1264, 229-237)，或十八烷胺或己基胺基-羰基-氧基膽固醇基團(Crooke et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277, 923-937)。許多的美國專利教導此等接合物之製備並包括，但不限美國專利編號 4,828,979；4,948,882；5,218,105；5,525,465；5,541,313；5,545,730；5,552,538；5,578,717；5,580,731；5,580,731；5,591,584；5,109,124；5,118,802；5,138,045；5,414,077；5,486,603；5,512,439；5,578,718；5,608,046；4,587,044；4,605,735；4,667,025；4,762,779；4,789,737；4,824,941；4,835,263；4,876,335；4,904,582；4,958,013；5,082,830；5,112,963；5,214,136；5,082,830；5,112,963；5,214,136；5,245,022；5,254,469；5,258,506；5,262,536；5,272,250；5,292,873；5,317,098；5,371,241；5,391,723；5,416,203；5,451,463；5,510,475；5,512,667；5,514,785；

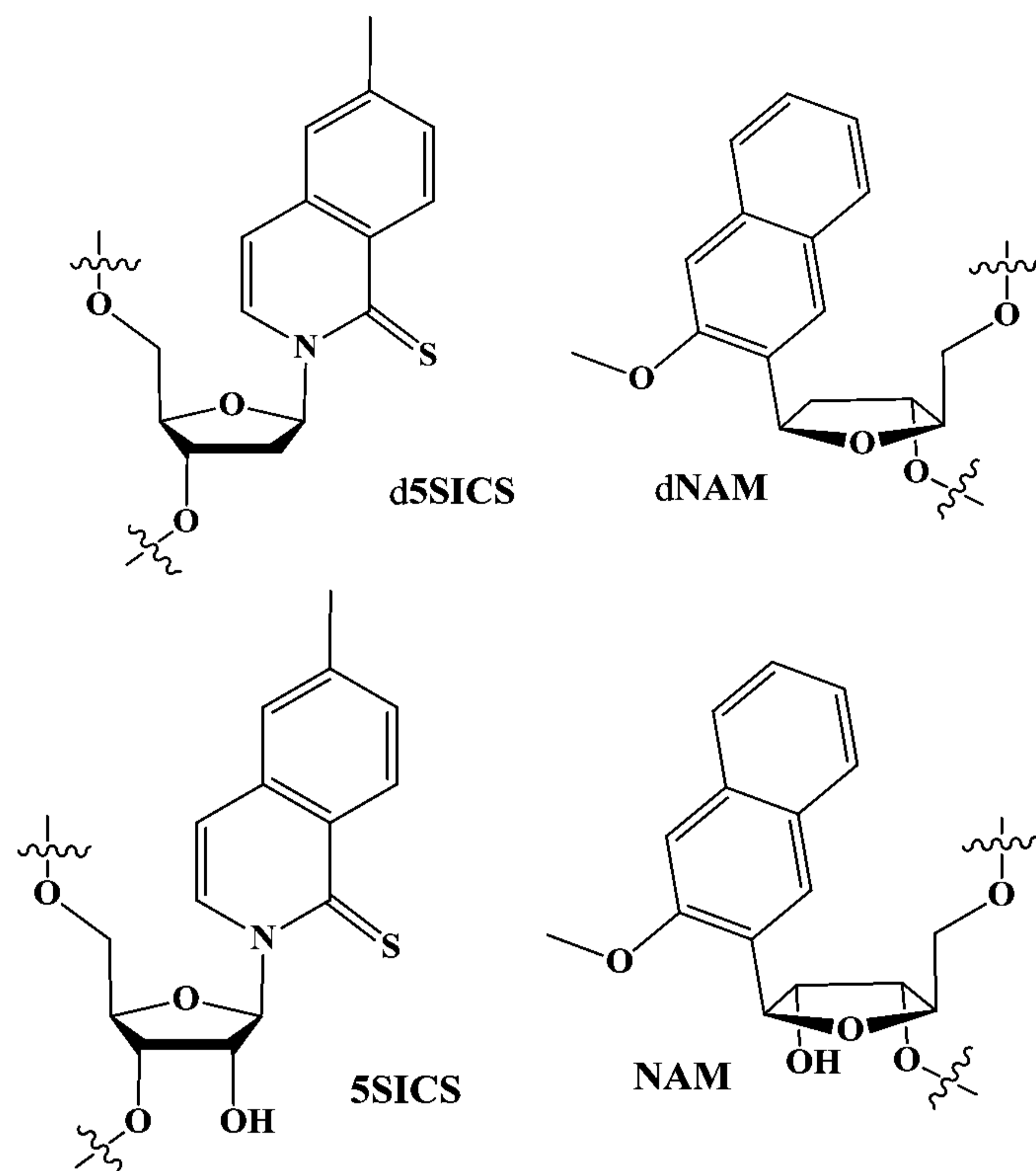
5,565,552 ; 5,567,810 ; 5,574,142 ; 5,585,481 ; 5,587,371 ; 5,595,726 ; 5,597,696 ; 5,599,923 ; 5,599,928 和 5,688,941 。各自這些參考文獻之揭示文係以引用的方式併入本文中。

**【0319】** 在某些情況下，非天然核酸進一步係形成非天然鹼基對。於活體內條件下能形成非天然 DNA 或 RNA 鹼基對(UBP)之例示的非天然核苷酸包括，但不限於 TAT1、dTAT1、5FM、d5FM、TPT3、dTPT3、5SICS、d5SICS、NaM、dNaM、CNMO、dCNMO 及其組合。在某些具體實例中，非天然核苷酸係包括：

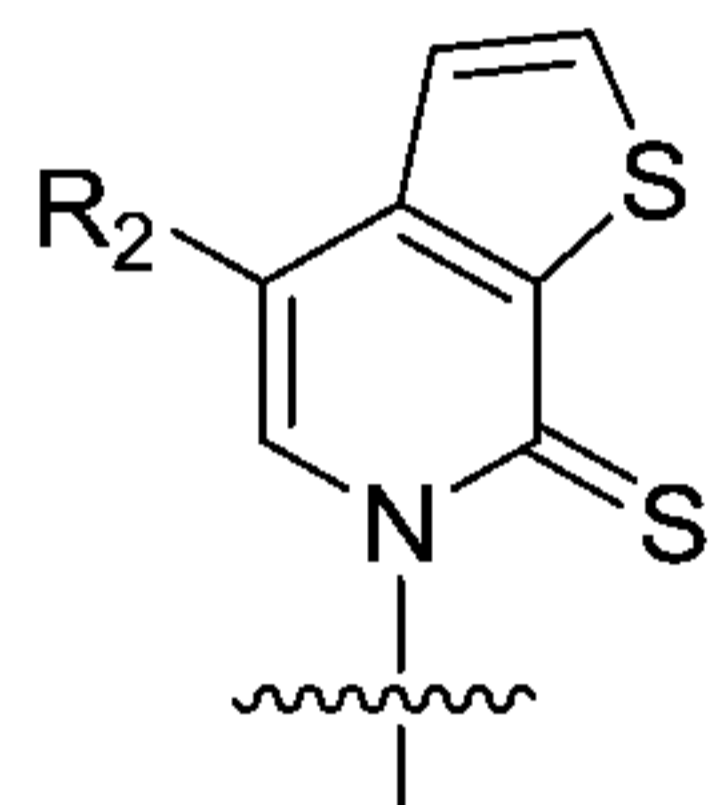


例示的非天然鹼基對包括：(d)TPT3-(d)NaM；(d)5SICS-(d)NaM；(d)CNMO-(d)TAT1；(d)NaM-(d)TAT1；(d)CNMO-(d)TPT3；和 (d)5FM-(d)TAT1。

**【0320】** 能形成非天然 UBPs 的非天然核苷酸，其可用於製備文中所揭示的 IL-2 接合物之其他實例可參見 Dien et al., J Am Chem Soc., 2018, 140 : 16115–16123 ; Feldman et al., J Am Chem Soc, 2017, 139 : 11427–11433 ; Ledbetter et al., J Am Chem Soc., 2018, 140 : 758-765 ; Dhami et al., Nucleic Acids Res. 2014, 42 : 10235-10244 ; Malyshev et al., Nature, 2014, 509 : 385-388 ; Betz et al., J Am Chem Soc., 2013, 135 : 18637-18643 ; Lavergne et al., J Am Chem Soc. 2013, 135 : 5408-5419 ; and Malyshev et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109 : 12005-12010 , 各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。在某些具體實例中，非天然核苷酸係包括：



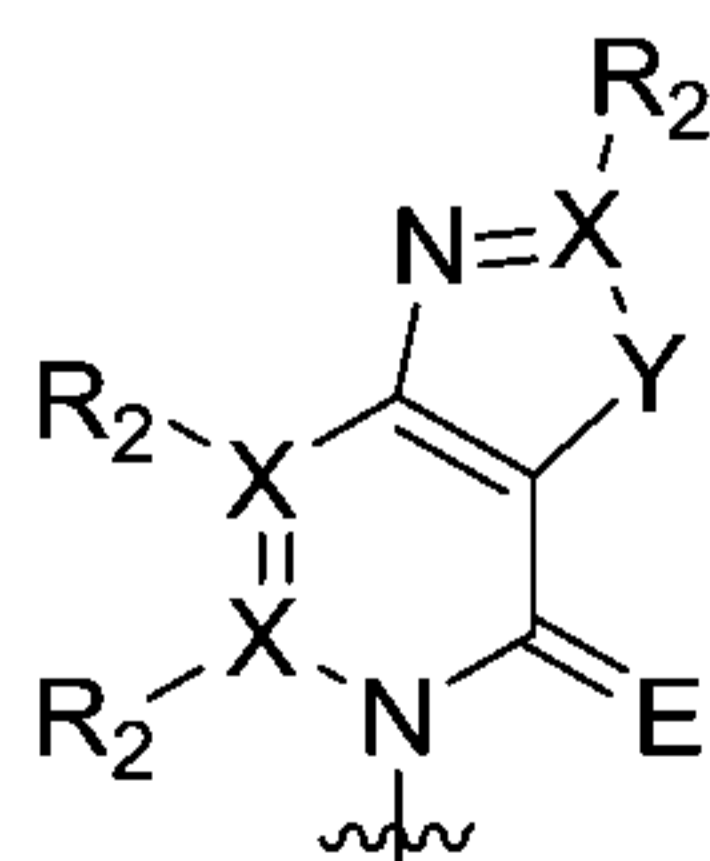
【0321】 在某些具體實例中，可用於製備文中所揭示的 IL-2 接合物之非天然核苷酸可衍生自下式之化合物



其中 R<sub>2</sub> 係由下列組成之群中選出：氫、烷基、烯基、炔基、甲氧基、甲硫醇、甲硒醇、鹵素、氰基及疊氮基；及

波形線係指連接核糖基或 2'-去氧核糖基之鍵，其中核糖基或 2'-去氧核糖基的 5'-羥基基團為游離形式，其視需要係與單磷酸、二磷酸或三磷酸基團鍵結，或包括在 RNA 或 DNA 或在 RNA 類似物或 DNA 類似物中。

【0322】 在某些具體實例中，可用於製備文中所述的 IL-2 接合物之非天然核苷酸可衍生自下式之化合物



其中：

各 X 獨立地為碳或氮；

$R_2$ ，當 X 為氮時則不存在，而當 X 為碳時則存在，且獨立地為氫、烷基、烯基、炔基、甲氧基、甲硫醇、甲硒醇(methaneseleno)、鹵素、氰基或疊氮；

Y 為硫、氧、硒或二級胺；

E 為氧、硫或硒；及

波形線係指連接核糖基、去氧核糖基或二去氧核糖基基團或其類似物之鍵，其中核糖基、去氧核糖基或二去氧核糖基基團或其類似物為游離形式，與單磷酸、二磷酸、三磷酸、 $\alpha$ -硫代磷酸、 $\beta$ -硫代磷酸或  $\gamma$ -硫代磷酸基團連接，或包括在 RNA 或 DNA 或在 RNA 類似物或 DNA 類似物中。

【0323】 在某些具體實例中，各 X 為碳。在某些具體實例中，至少一個 X 為碳。在某些具體實例中，一個 X 為碳。在某些具體實例中，至少二個 X 為碳。在某些具體實例中，二個 X 為碳。在某些具體實例中，至少一個 X 為氮。在某些具體實例中，一個 X 為氮。在某些具體實例中，至少二個 X 為氮。在某些具體實例中，二個 X 為氮。

【0324】 在某些具體實例中，Y 為硫。在某些具體實例中，Y 為氧。在某些具體實例中，Y 為硒。在某些具體實例中，Y 為二級胺。

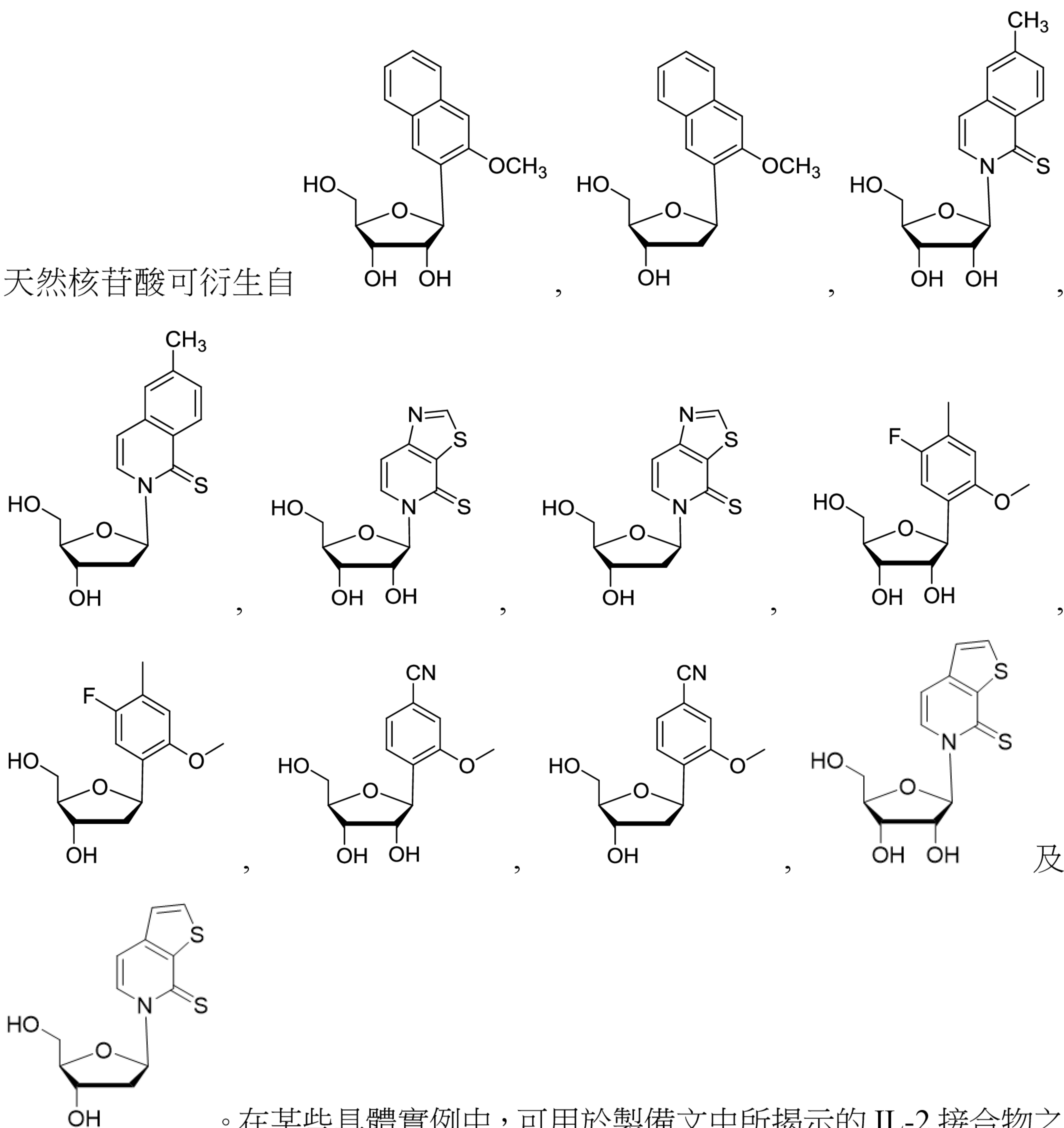
【0325】 在某些具體實例中，E 為硫。在某些具體實例中，E 為氧。在某些具體實例中，E 為硒。

【0326】 在某些具體實例中，當 X 為碳時則  $R_2$  存在。在某些具體實例中，當 X 為氮時則  $R_2$  不存在。在某些具體實例中，各  $R_2$ ，當存在時，為氫。在某些具體實例中， $R_2$  為烷基，例如甲基、乙基或丙基。在某些具體實例中， $R_2$  為烯基，例如  $-\text{CH}_2=\text{CH}_2$ 。在某些具體實例中， $R_2$  為炔基，例如乙炔基。在某些具體實例中， $R_2$  為甲氧基。在某些具體實例中， $R_2$  為甲硫醇。在某些具體實例中， $R_2$  為甲硒醇。在某些具體實例中， $R_2$  為鹵素，例如氯、溴或氟。在某些具體實例中， $R_2$  為氰基。在某些具體實例中， $R_2$  為疊氮。

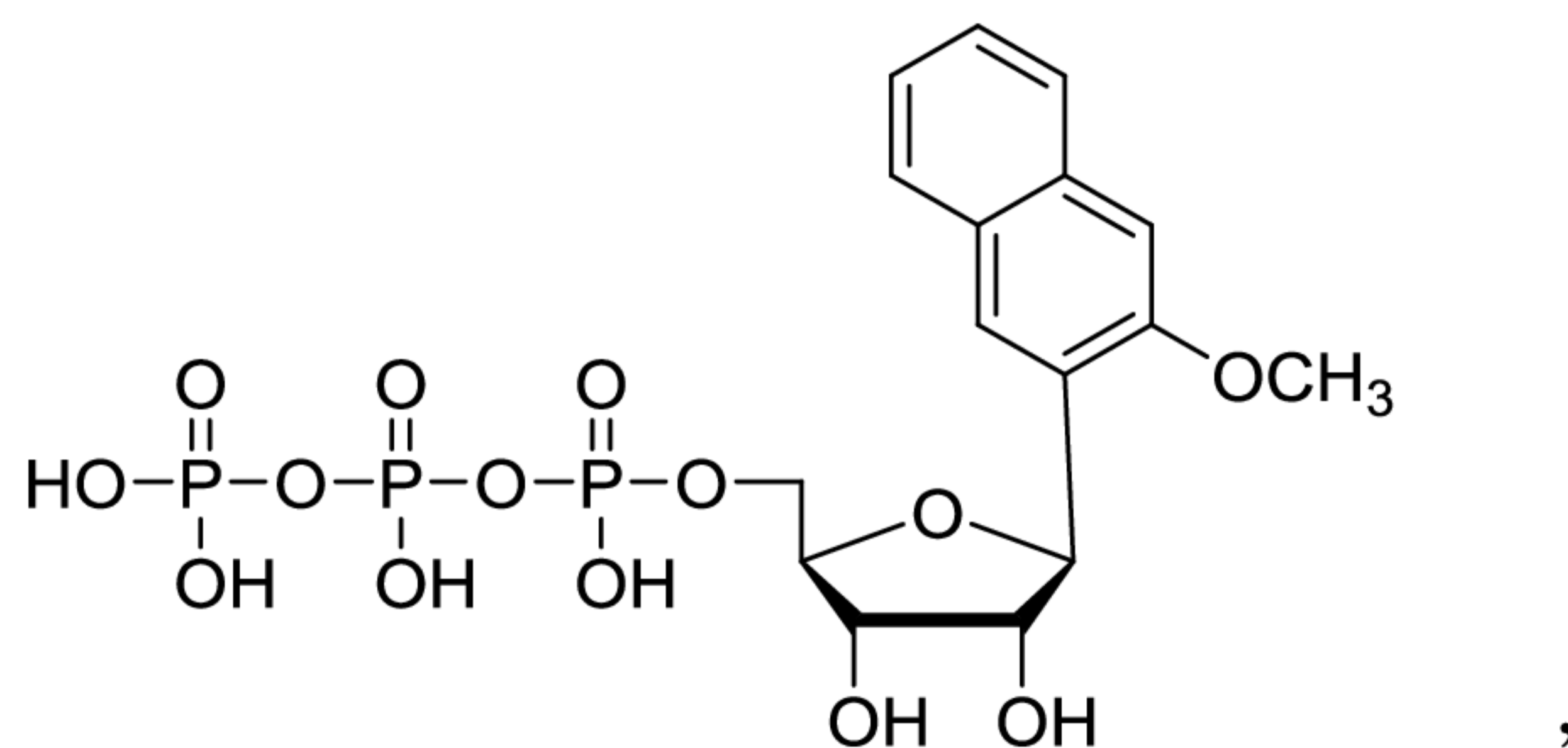
【0327】 在某些具體實例中，E 為硫，Y 為硫及各 X 獨立地為碳或氮。在某些具體實例中，E 為硫，Y 為硫及各 X 為碳。

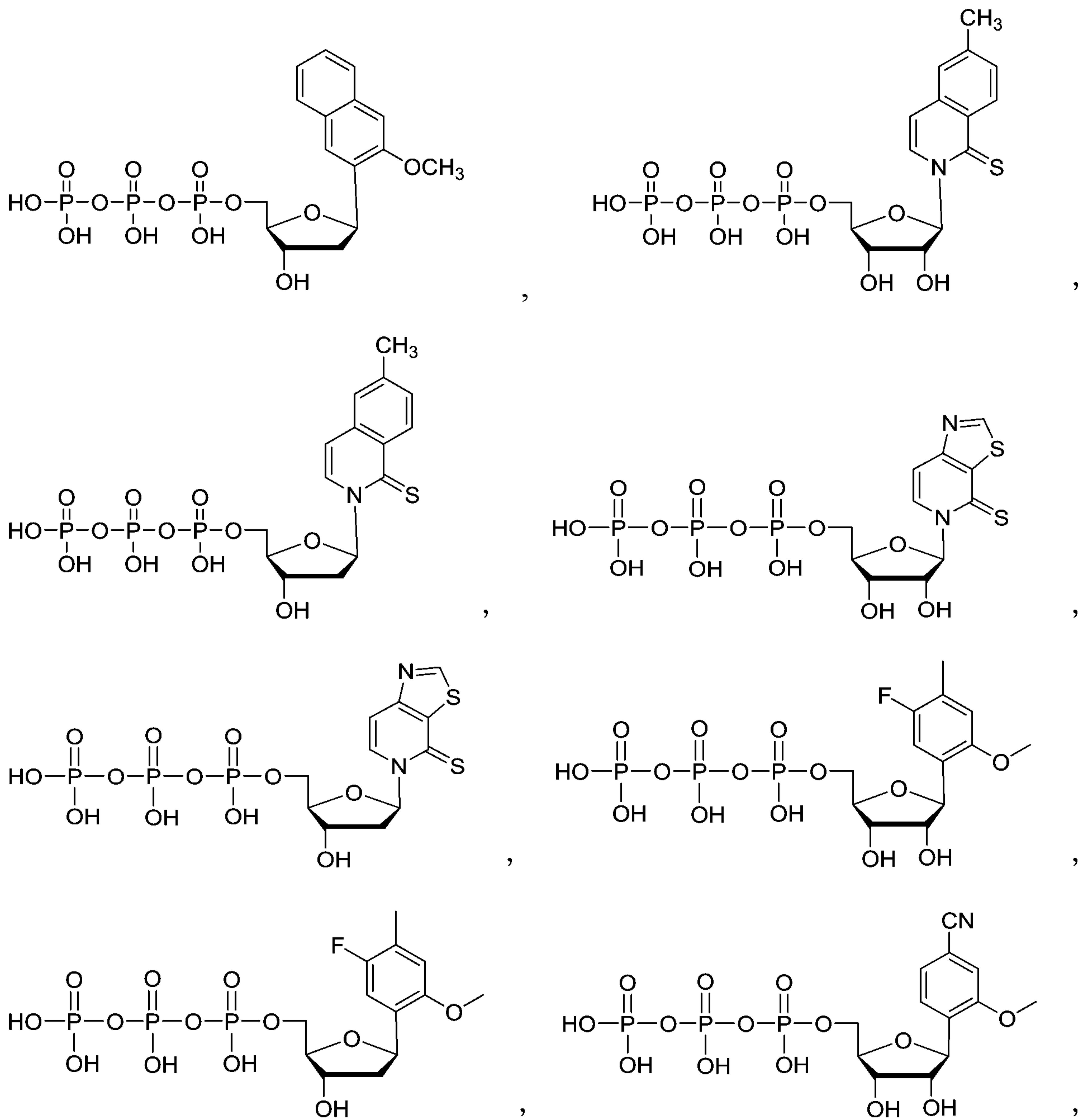
【0328】 在某些具體實例中，可用於製備文中所揭示的 IL-2 接合物之非

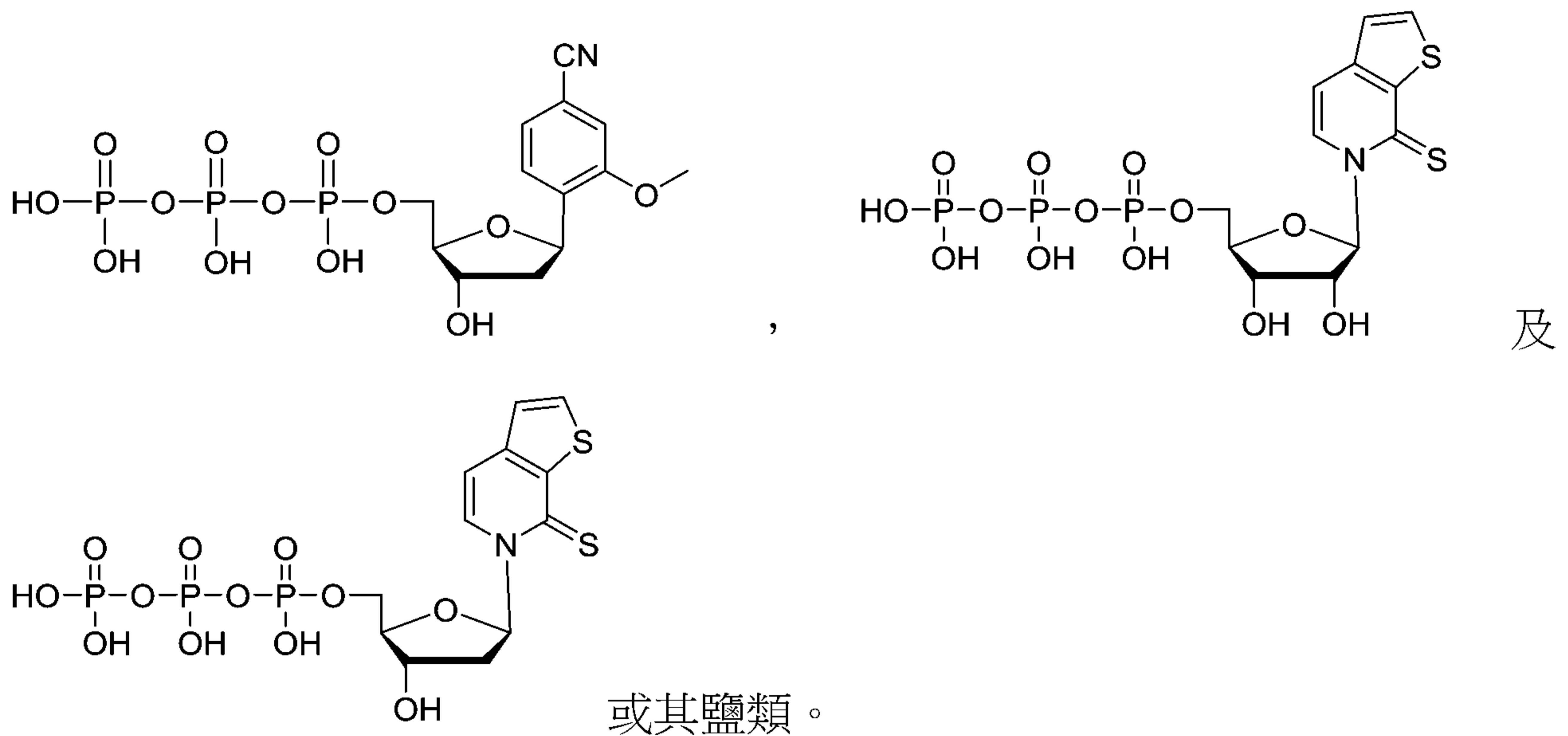
天然核苷酸可衍生自



非天然核苷酸包括







【0329】在某些具體實例中，非天然鹼基對係產生描述於 Dumas *et al.*, “Designing logical codon reassignment – Expanding the chemistry in biology,” *Chemical Science*, **6**: 50-69 (2015)中之非天然胺基酸，其揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0330】在某些具體實例中，非天然胺基酸係藉由包括非天然核酸之合成密碼子併入細胞激素(例如，IL 多肽)中。在某些情況下，非天然胺基酸係藉由正交、修飾的合成酶/tRNA 對併入細胞激素中。此等正交對係包括一能使非天然 tRNA 接上非天然胺基酸的非天然合成酶，同時最小化 a)其他內生性胺基酸接上此非天然 tRNA 及 b)此非天然胺基酸接上其他內生性 tRNA。此等正交對係包括能接上非天然合成酶的 tRNA，同時避免 a)其他內生性胺基酸接上內生性合成酶。在某些具體實例中，此等正交對係從各種生物體鑑別出，例如細菌、酵母菌、古菌或人類來源。在某些具體實例中，正交合成酶/tRNA 對包括來自單一生物體之組份。在某些具體實例中，正交合成酶/tRNA 對係包括來自二種不同生物體之組份。在某些具體實例中，包括修飾前組份之正交合成酶/tRNA 對係提升二種不同胺基酸的轉譯。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的丙胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的精胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的天門冬醯胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的天門冬胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的半胱胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合



成酶為一修飾的麩醯胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的麩胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的丙胺酸甘胺酸。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的組胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的白胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的異白胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的離胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的甲硫胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的苯丙胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的脯胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的絲胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的蘇胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的色胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的酪胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的纈胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交合成酶為一修飾的磷酸絲胺酸合成酶。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的丙胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的精胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的天門冬醯胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的天門冬胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的半胱胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的麩醯胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的麩胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的丙胺酸甘胺酸。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的組胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的白胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的異白胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的離胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的甲硫胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的苯丙胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的脯胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的絲胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的蘇胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的色胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的酪胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交

的 tRNA 為一修飾的纈胺酸 tRNA。在某些具體實例中，正交的 tRNA 為一修飾的磷酸胺酸 tRNA。

【0331】 在某些具體實例中，非天然胺基酸係藉由胺基醯基(aaRS 或 RS)-tRNA 合成酶-tRNA 對併入細胞激素(例如，IL 多肽)中。aaRS-tRNA 對之實例包括，但不限詹氏甲烷球菌(*Methanococcus jannaschii*)(*Mj-Tyr*)aaRS/tRNA 對，大腸桿菌 TyrRS(*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌(*B. stearothermophilus*)tRNA<sub>CUA</sub> 對，大腸桿菌 LeuRS(*Ec-Leu*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌 tRNA<sub>CUA</sub> 對及吡咯離胺醯基-tRNA 對。在某些情況下，非天然胺基酸係藉由 *Mj-Tyr*RS/tRNA 對併入細胞激素中(例如，IL 多肽)。可藉由 *Mj-Tyr*RS/tRNA 對併入之例示的 UAA 包括，但不限於對位-經取代苯丙胺酸衍生物，例如對-胺基苯丙胺酸和對-胺基苯丙胺酸；間位-經取代酪胺酸衍生物，例如 3-胺基酪胺酸、3-硝基酪胺酸、3,4-二羥基苯丙胺酸及 3-碘酪胺酸；苯基硒半胱胺酸；對-硼苯丙胺酸；和鄰-硝基苯甲基酪胺酸。

【0332】 在某些情況下，非天然胺基酸係藉由 *Ec-Tyr*/tRNA<sub>CUA</sub> 或 *Ec-Leu*/tRNA<sub>CUA</sub> 對併入細胞激素(例如，IL 多肽)中。可藉由 *Ec-Tyr*/tRNA<sub>CUA</sub> 或 *Ec-Leu*/tRNA<sub>CUA</sub> 對併入之例示的 UAA 包括，但不限於含有二苯甲酮、酮、碘或疊氮化物取代基之苯丙胺酸衍生物；*O*-炔丙基酪胺酸； $\alpha$ -胺基辛酸、*O*-甲基酪胺酸、*O*-硝基苯甲基半胱胺酸；及 3-(萘-2-基胺基)-2-胺基-丙酸。

【0333】 在某些情況下，非天然胺基酸係藉由吡咯離胺醯基-tRNA 對併入細胞激素(例如，IL 多肽)中。在某些情況下，此 PylRS 係得自古細菌，例如，產甲烷的古細菌。在某些情況下，此 PylRS 係得自巴氏甲烷八疊球菌(*Methanosarcina barkeri*)、馬氏甲烷八疊球菌(*Methanosarcina mazei*)或乙酸甲烷八疊球菌(*Methanosarcina acetivorans*)。可藉由吡咯離胺醯基-tRNA 對併入之例示的 UAA 包括，但不限醯胺和經胺甲酸取代的離胺酸，例如 2-胺基-6-((*R*)-四氫呋喃-2-甲醯胺基)己酸、*N*- $\epsilon$ -D-丙基-L-離胺酸及 *N*- $\epsilon$ -環戊基氧基羰基-L-離胺酸；*N*- $\epsilon$ -丙烯醯基-L-離胺酸；*N*- $\epsilon$ -[(1-(6-硝基苯并[d][1,3]間二氧雜環戊烯基-5-基)乙氧基)羰基]-L-離胺酸；和 *N*- $\epsilon$ -(1-甲基環丙-2-烯甲醯胺基)離胺酸。在某些具體實例中，文中所述的 IL-2 接合物可藉由使用選擇性接上非天然胺基酸，例如 *N*6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)之馬氏甲烷八疊球菌

tRNA，藉由巴氏甲烷八疊球菌吡咯離胺醯基-tRNA 合成酶(*Mb* PyIRS)來製備。其他的方法已為本項技術之一般技術者所知，例如該等揭示於 Zhang et al., *Nature* 2017, 551(7682) : 644-647 中的方法，其揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0334】 在某些情況下，非天然胺基酸係藉由揭示於 US 9,988,619 和 US 9,938,516 中的合成酶併文中所述的細胞激素(例如，IL 多肽)中，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0335】 導入文中所揭示的結構或載體之宿主細胞係培養或維養於適合的培養基中，使得 tRNA、tRNA 合成酶和感興趣蛋白得以產生。此培養基亦包括非天然胺基酸，使得感興趣蛋白得以併入非天然胺基酸。在某些具體實例中，在宿主細胞中亦存在來自細菌、植物或藻類的核苷三磷酸運送蛋白(NTT)。在某些具體實例中，文中所揭示的 IL-2 接合物係藉由使用表現 NTT 之宿主細胞所製備。在某些具體實例中，用於宿主細胞中的核苷三磷酸運送蛋白可選自 TpNTT1、TpNTT2、TpNTT3、TpNTT4、TpNTT5、TpNTT6、TpNTT7、TpNTT8(假微型海鏈藻(*T. pseudonana*))、PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5、PtNTT6(三角褐指藻(*P. tricornutum*))、GsNTT (紅藻(*Galdieria sulphuraria*))、AtNTT1、AtNTT2 (阿拉伯芥(*Arabidopsis thaliana*))、CtNTT1、CtNTT2 (砂眼披衣菌(*Chlamydia trachomatis*))、PamNTT1、PamNTT2(前衣原體(*Protochlamydia amoebophila*))、CcNTT(*Caedibacter caryophilus*)、RpNTT1 (普氏立克次體(*Rickettsia prowazekii*))。在某些具體實例中，該 NTT 係選自 PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5 及 PtNTT6。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT1。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT2。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT3。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT4。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT5。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT6。可使用的其他 NTT 係揭示於 Zhang et al., *Nature* 2017, 551(7682) : 644-647 ; Malyshev et al, *Nature* 2014 (509(7500), 385-388 ; 和 Zhang et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114 : 1317-1322 中，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

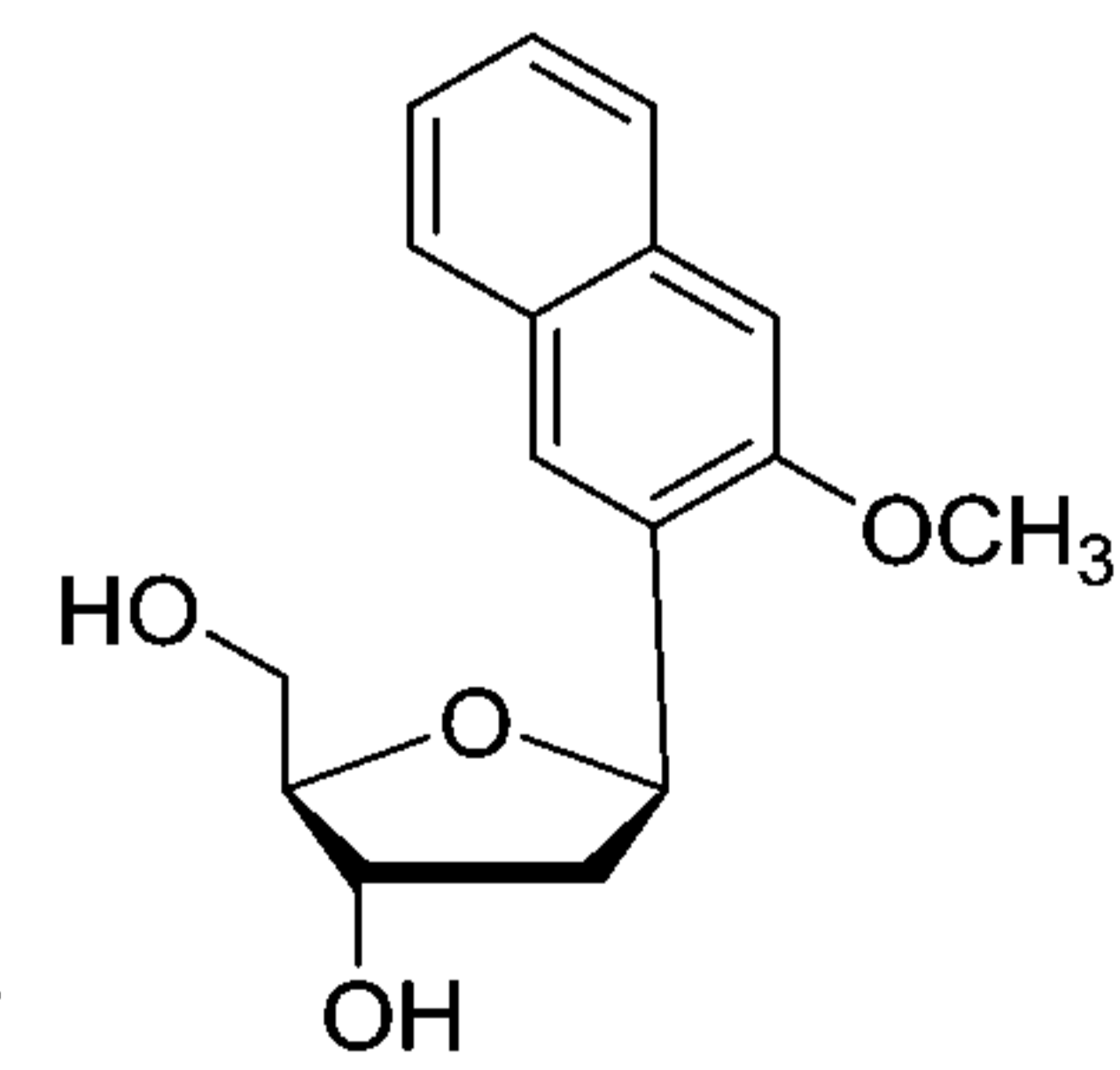
【0336】 正交 tRNA 合成酶/tRNA 對將 tRNA 接上非天然胺基酸並回應密碼子將非天然胺基酸併入多肽鏈。例示的 aaRS-tRNA 對包括，但不限詹氏

甲烷球菌(*Mj-Tyr*)aaRS/tRNA 對、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌 tRNA<sub>CUA</sub> 對、大腸桿菌 LeuRS (*Ec-Leu*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌 tRNA<sub>CUA</sub> 對及吡咯離胺醯基-tRNA 對。根據本揭示文可使用的其他 aaRS-tRNA 對包括該等衍生自馬氏甲烷八疊球菌之 aaRS-tRNA 對，該等描述於 Feldman et al., J Am Chem Soc., 2018 140 : 1447–1454 ; 和 Zhang et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114 : 1317–1322 中之 aaRS-tRNA 對，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

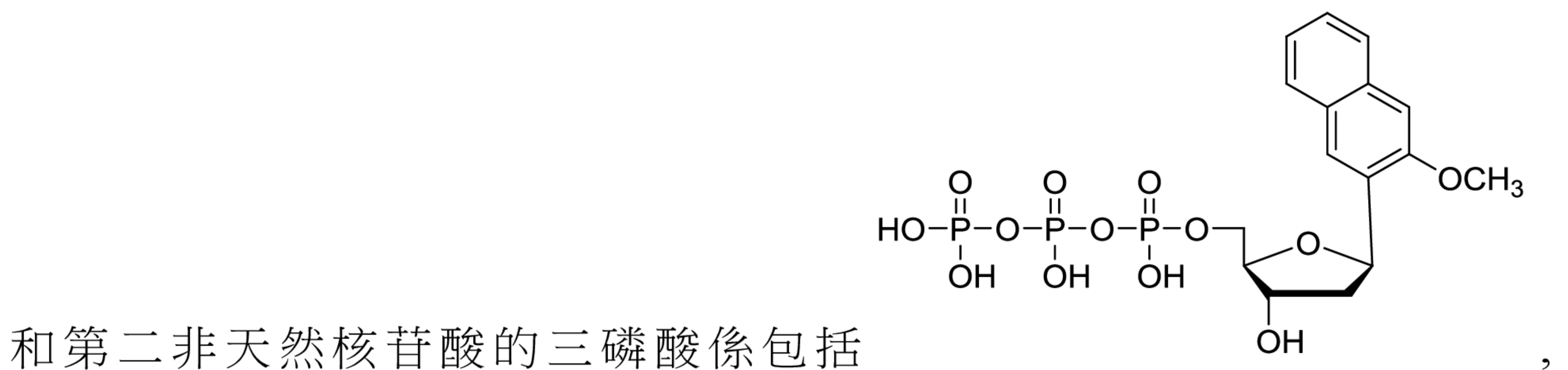
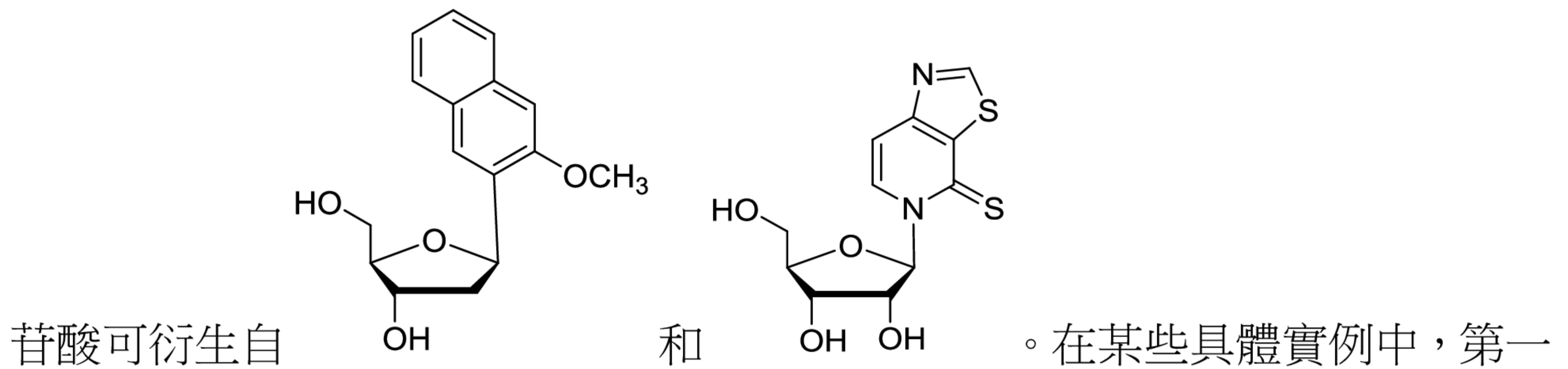
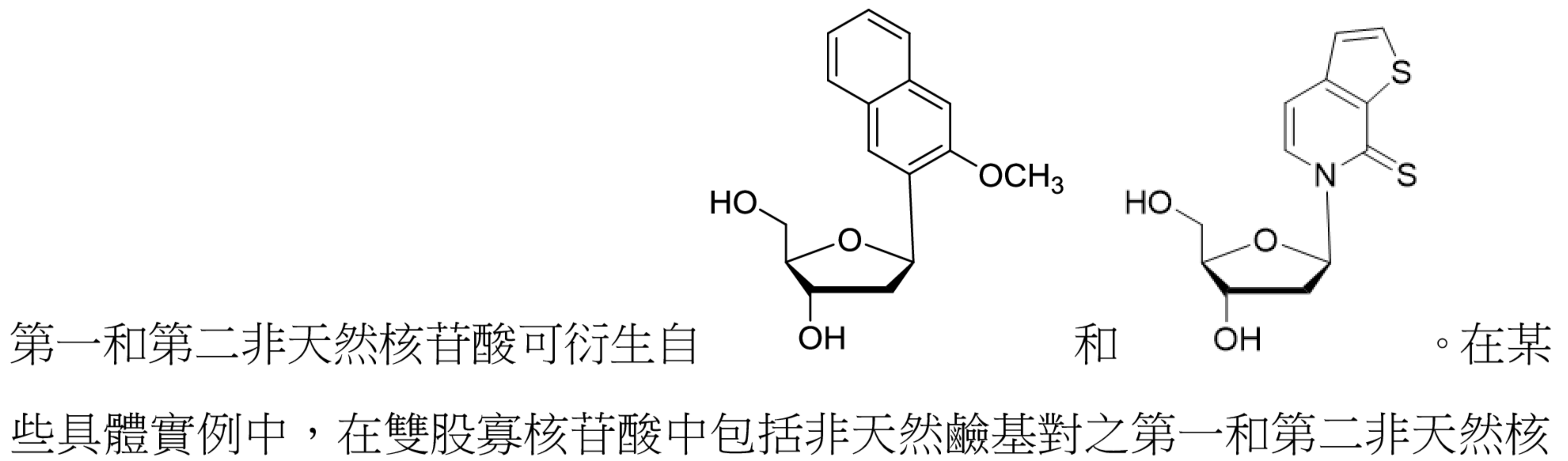
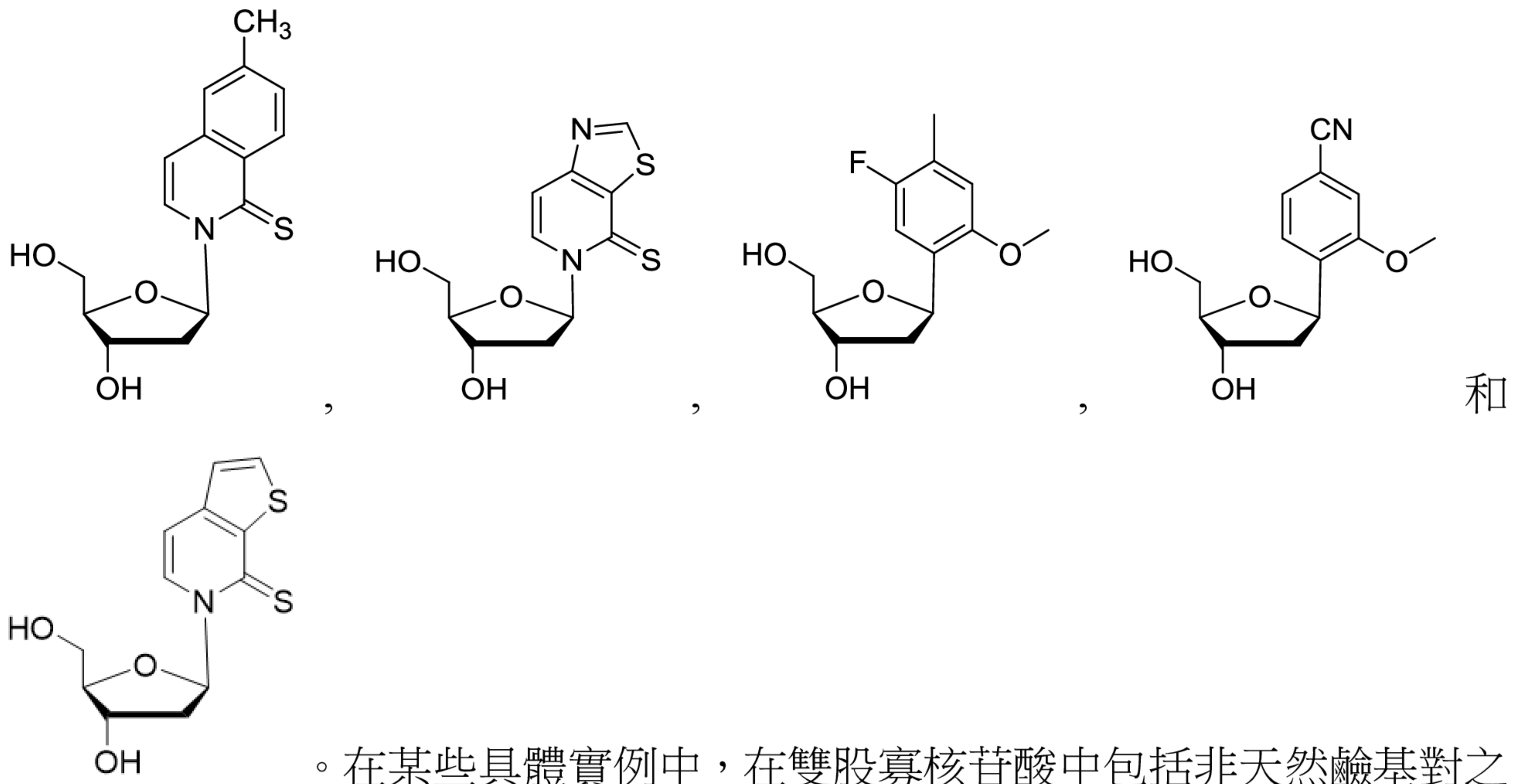
**【0337】** 在某些具體實例中係提供於一表現 NTT 和 tRNA 合成酶之細胞系統中製備文中所揭示的 IL-2 接合物的方法。在某些文中所述的具體實例中，該 NTT 係選自 PtNTT1、PtNTT2、PtNTT3、PtNTT4、PtNTT5 和 PtNTT6 且該 tRNA 合成酶係選自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌及馬氏甲烷八疊球菌。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT1 而該 tRNA 合成酶係衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌或馬氏甲烷八疊球菌。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT2 而該 tRNA 合成酶係衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌或馬氏甲烷八疊球菌。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT3 而該 tRNA 合成酶係衍生自詹氏甲烷球菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌或馬氏甲烷八疊球菌。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT3 而該 tRNA 合成酶係衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌或馬氏甲烷八疊球菌。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT4 而該 tRNA 合成酶係衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌或馬氏甲烷八疊球菌。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT5 而該 tRNA 合成酶係衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌或馬氏甲烷八疊球菌。在某些具體實例中，該 NTT 為 PtNTT6 而該 tRNA 合成酶係衍生自詹氏甲烷球菌、大腸桿菌 TyrRS (*Ec-Tyr*)/嗜熱脂肪土芽孢桿菌或馬氏甲烷八疊球菌。

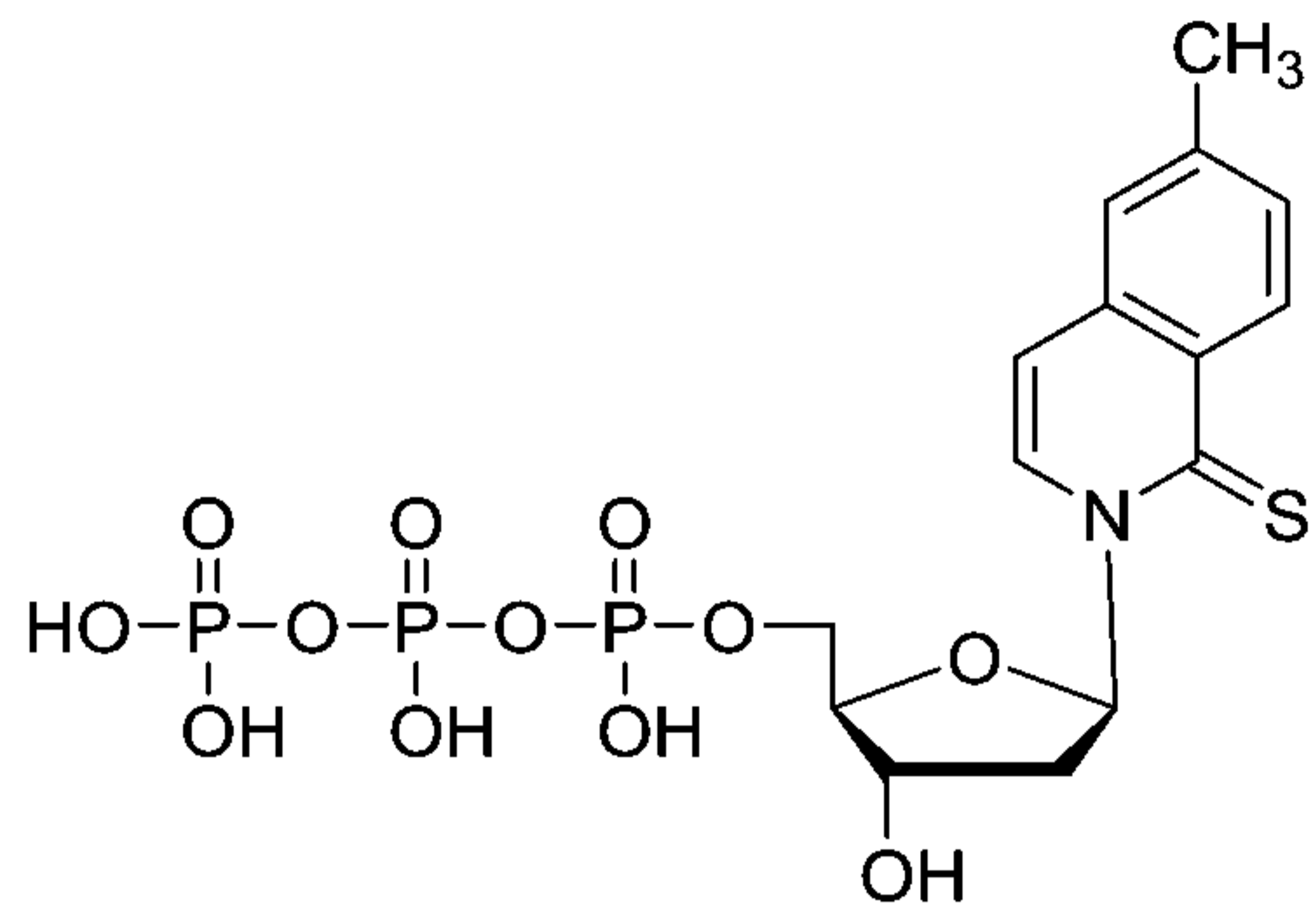
**【0338】** 在某些具體實例中，文中所揭示的 IL-2 接合物可於一細胞，例如大腸桿菌中製備，其係包括(a)核苷酸三磷酸運送蛋白 *PtNTT2*(包括截斷的變體，其中全長蛋白的前 65 個胺基酸殘基已刪除)，(b)包括一編碼 IL-2 變體之雙股寡核苷酸的質體，該變體具有所欲的胺基酸序列且其含有包括第一非

天然核苷酸和第一非天然核苷酸之非天然鹼基對，用以提供在非天然胺基酸所欲位置的密碼子，例如併入 *N*6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-*L*-離胺酸(AzK)，(c) 編碼衍生自馬氏甲烷八疊球菌之 tRNA 的質體，且其係包括非天然核苷酸用以提供辨識的反密碼子(針對 IL-2 變體之密碼子)取代其天然序列及(d)編碼巴氏甲烷八疊球菌衍生的吡咯離胺醯基-tRNA 合成酶(*Mb* PyIRS)之質體，其可為編碼此 tRNA 相同的質體或不同的質體。在某些具體實例中，此細胞進一步添加了包括一或多個非天然鹼基之去氧核糖三磷酸。在某些具體實例中，此細胞進一步添加了包括一或多個非天然鹼基之核糖三磷酸。在某些具體實例中，此細胞進一步添加了一或多個非天然胺基酸，例如 *N*6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-*L*-離胺酸 (AzK)。在某些具體實例中，此編碼所欲 IL-2 變體之胺基酸序列的雙股寡核苷酸係在，例如編碼具有 SEQ ID NO:3 之蛋白序列的位置 34、37、40、41、42、43、44、61、64、68 或 71，或在編碼具有 SEQ ID NO:4 之蛋白序列的位置 35、38、41、42、43、45、62、65、69 或 72 含有一 AXC 密碼子，其中 X 為一非天然核苷酸。在某些具體實例中，此細胞進一步係包括一質體，該質體可為蛋白表現質體或編碼來自馬氏甲烷八疊球菌之正交 tRNA 基因的另外質體，該質體可包括 AXC-配對的反密碼子替代其天然序列，其中 Y 為一互補的非天然核苷酸且可與密碼子中的非天然核苷酸為相同或不相同的。在某些具體實例中，密碼子中的非天然核苷酸為不同的且與反密碼子中的非天然核苷酸為互補的。在某些具體實例中，密碼子中的非天然核苷酸與反密碼子中的非天然核苷酸為相同的。在某些具體實例中，在雙股寡核苷酸中包

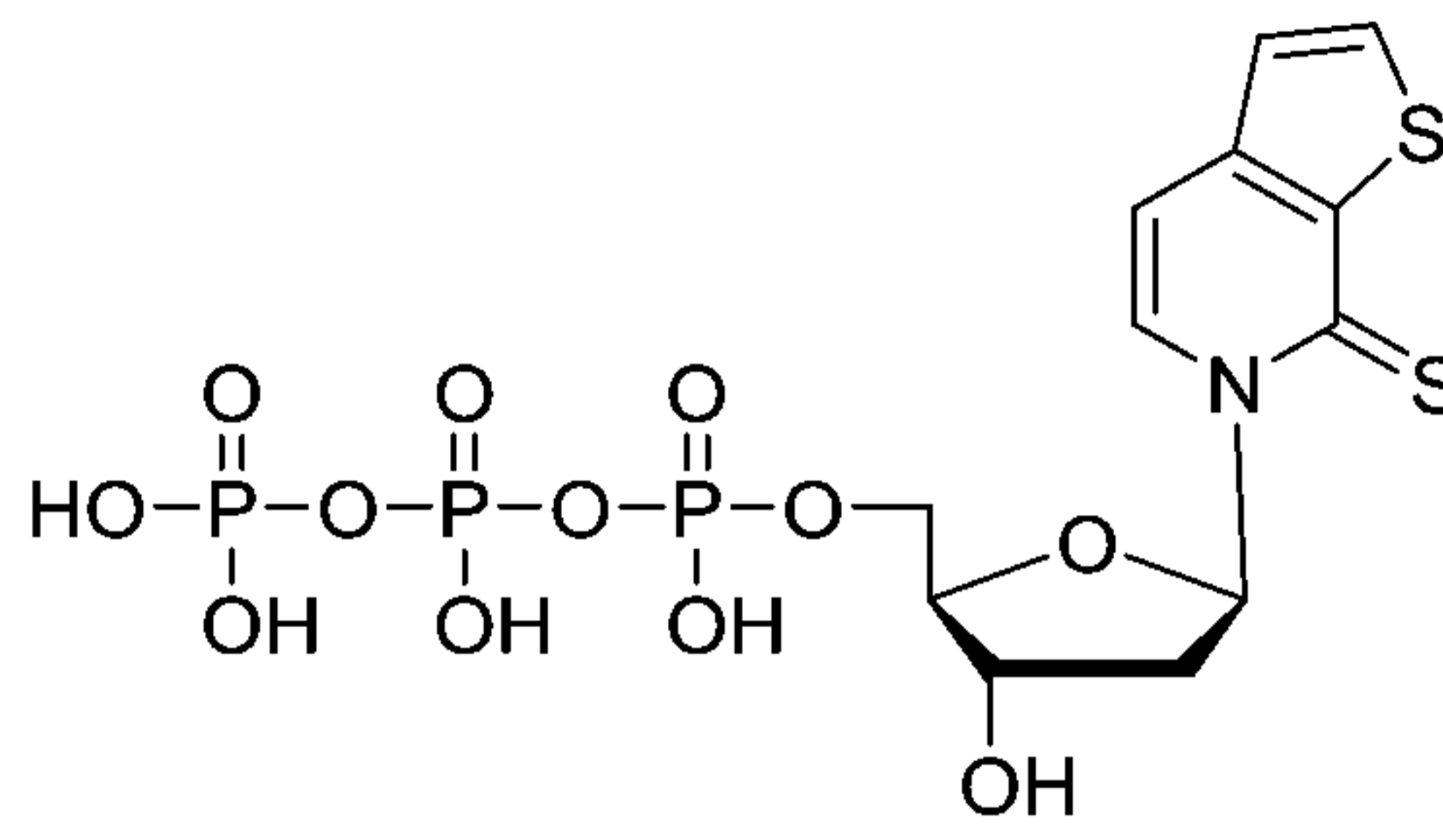


括非天然鹼基對之第一和第二非天然核苷酸可衍生自



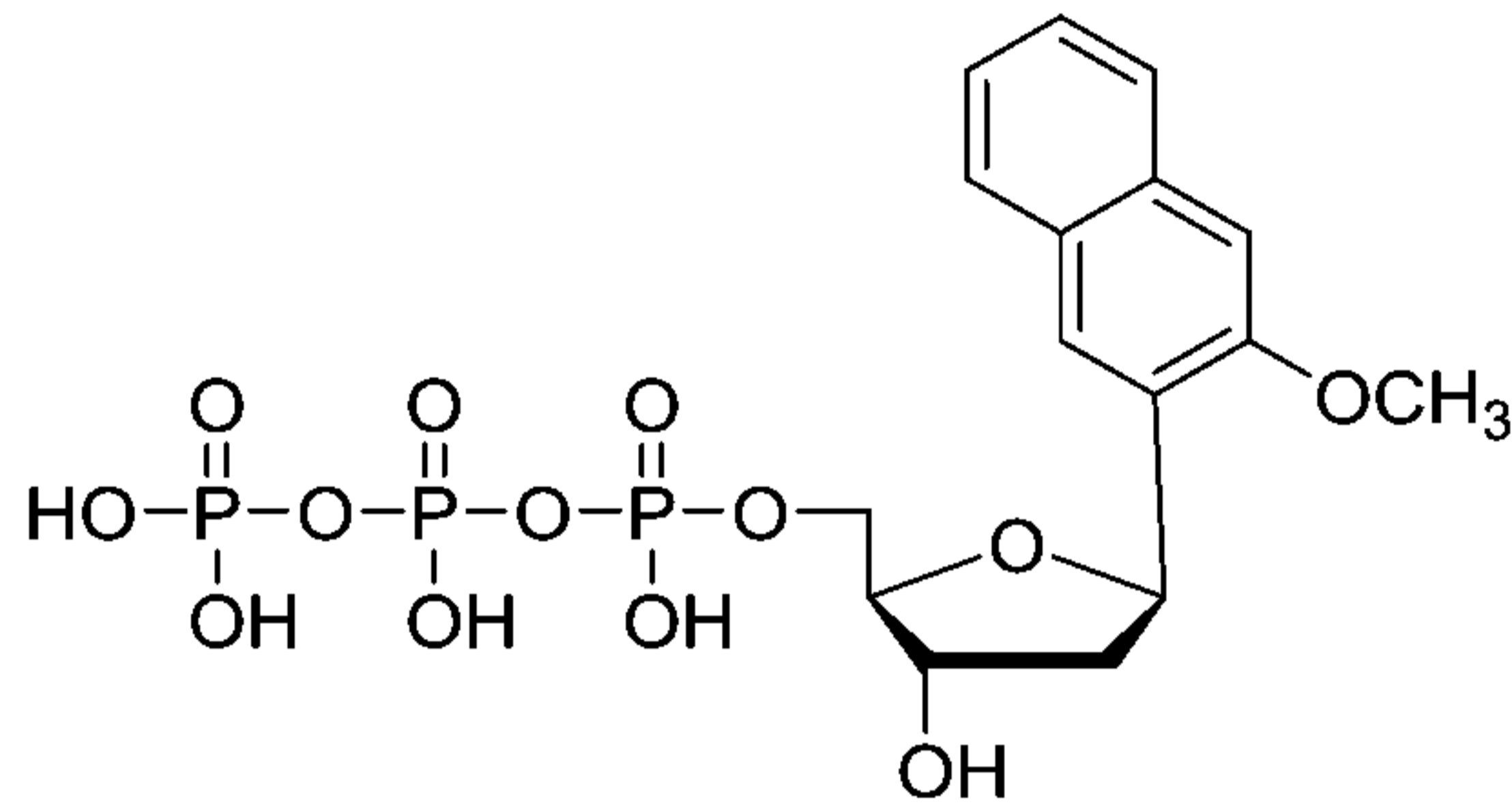


和

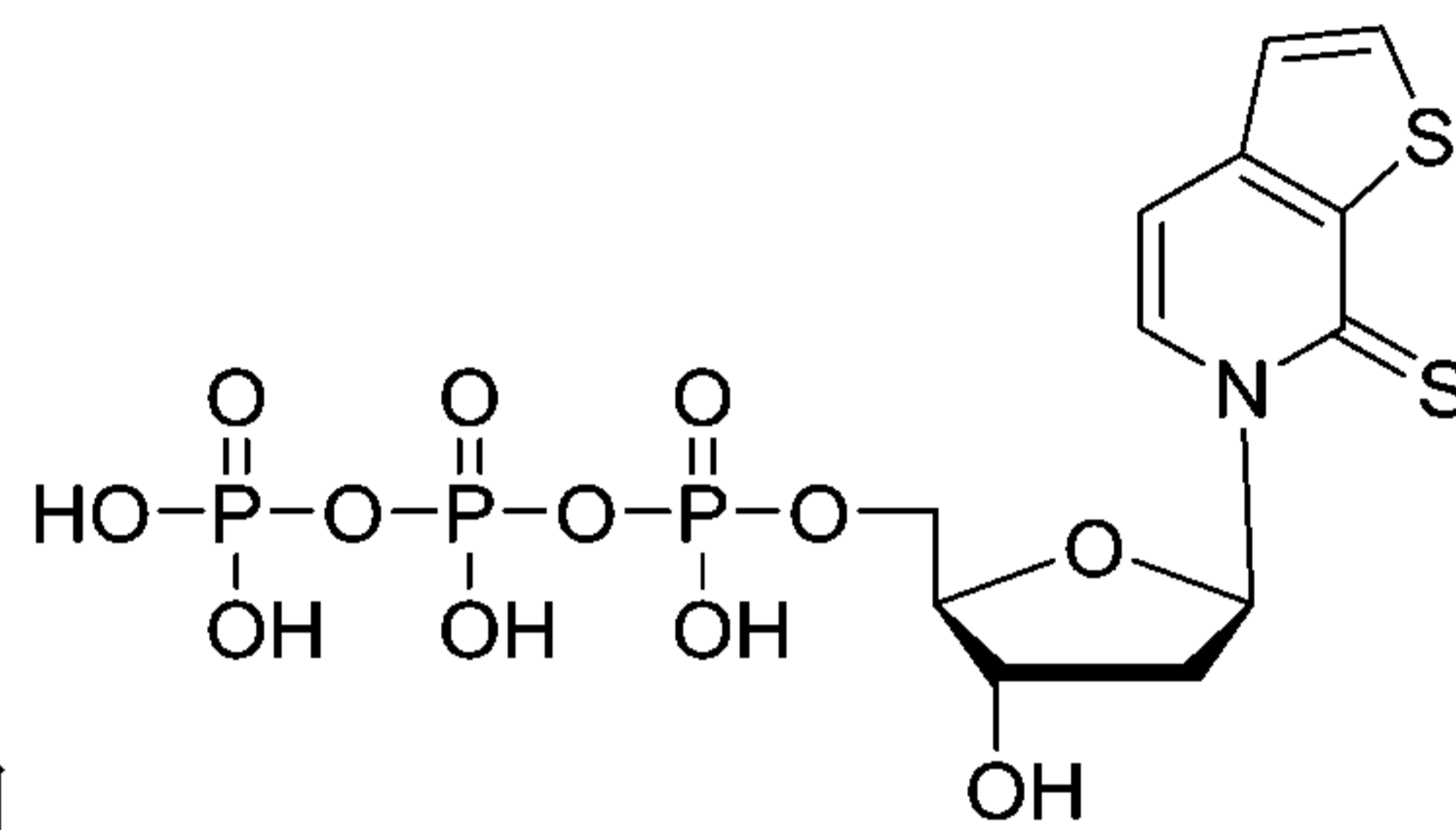


或其鹽類。在

某些具體實例中，第一和第二非天然核苷酸的三磷酸係包括

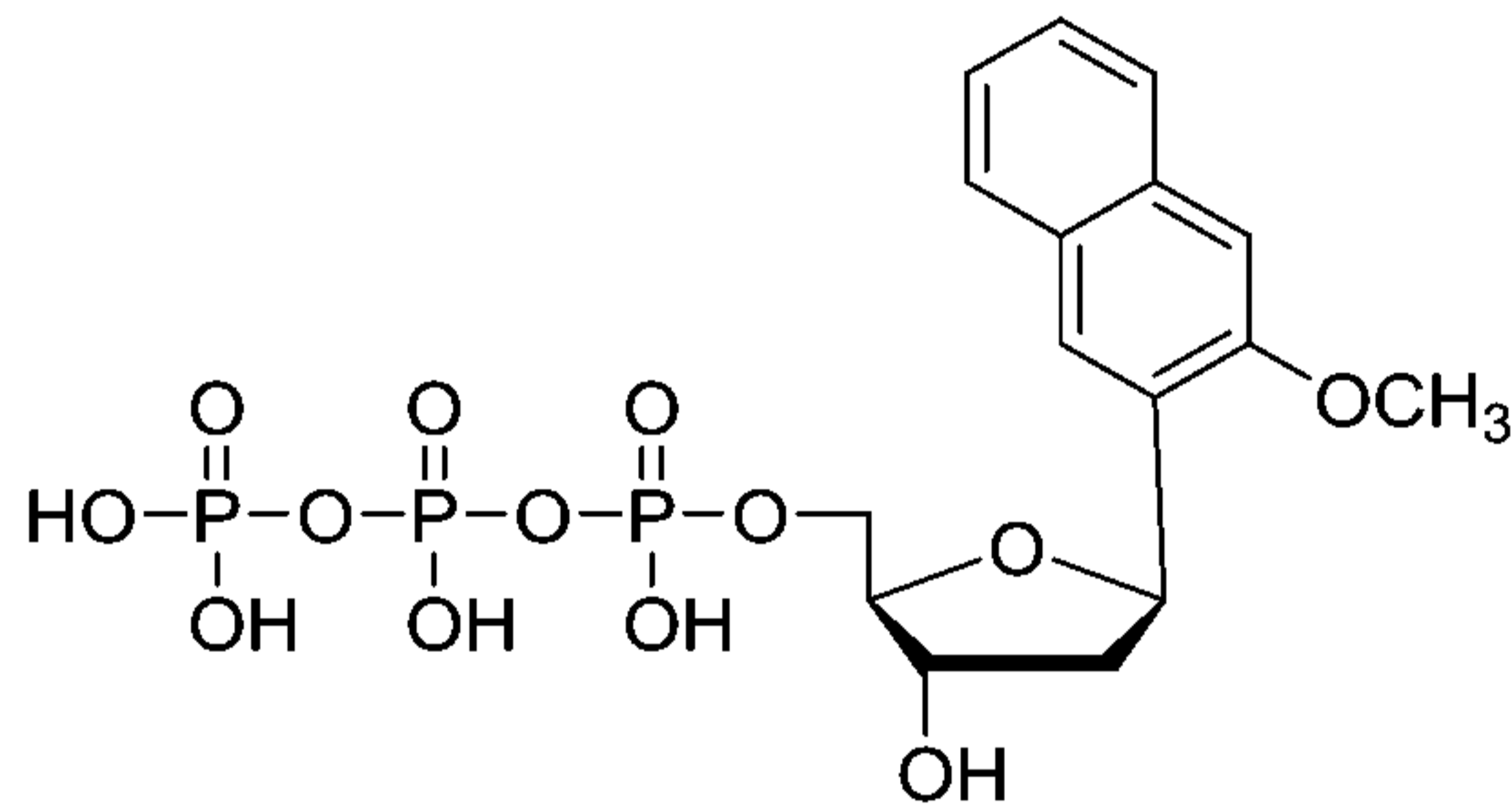


和

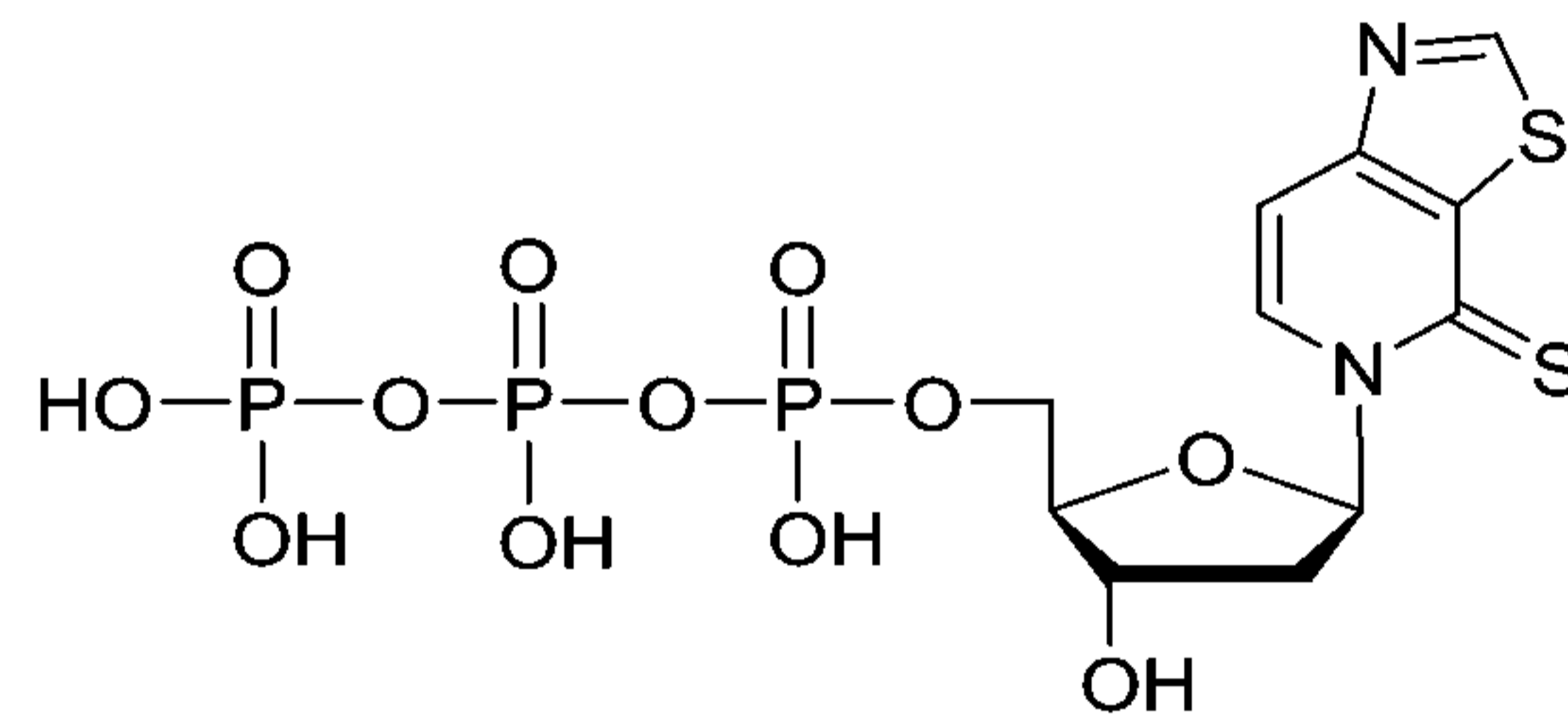


或其鹽類。

在某些具體實例中，第一和第二非天然核苷酸的三磷酸係包括



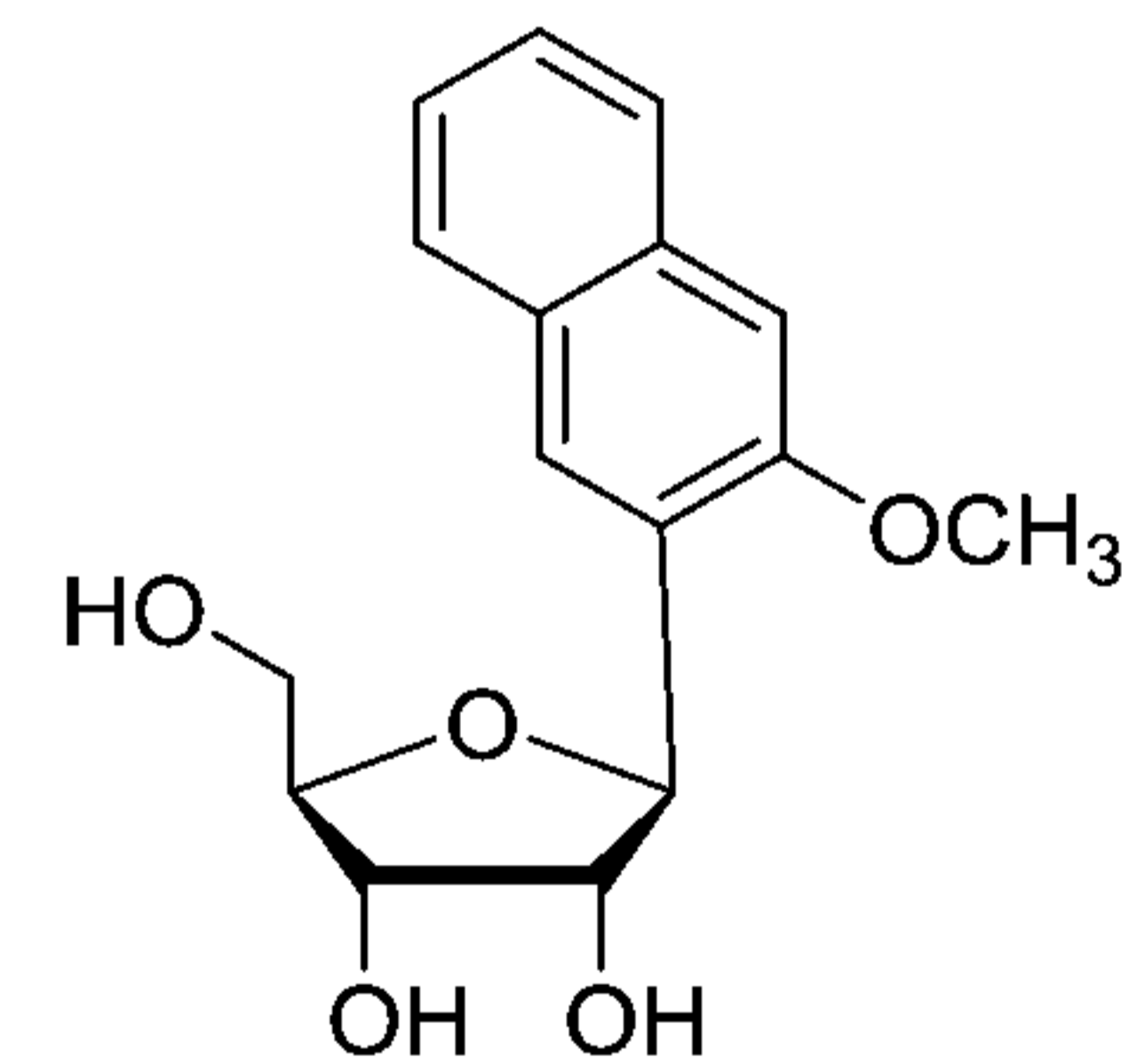
和



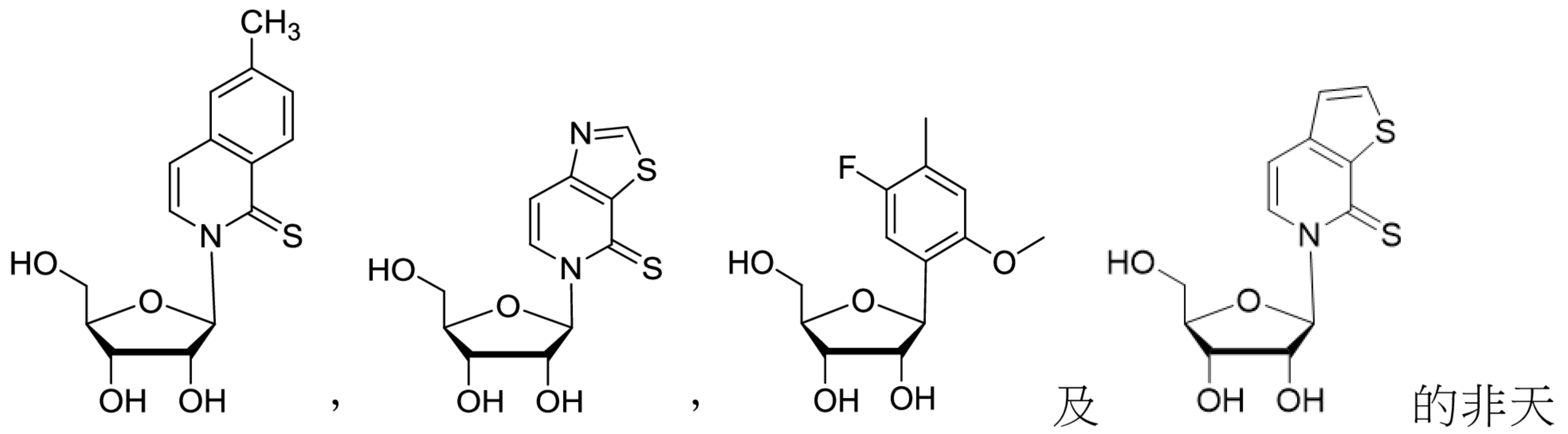
或其鹽

類。在某些具體實例中，衍生該包括第一非天然核苷酸和第二非天然核苷酸

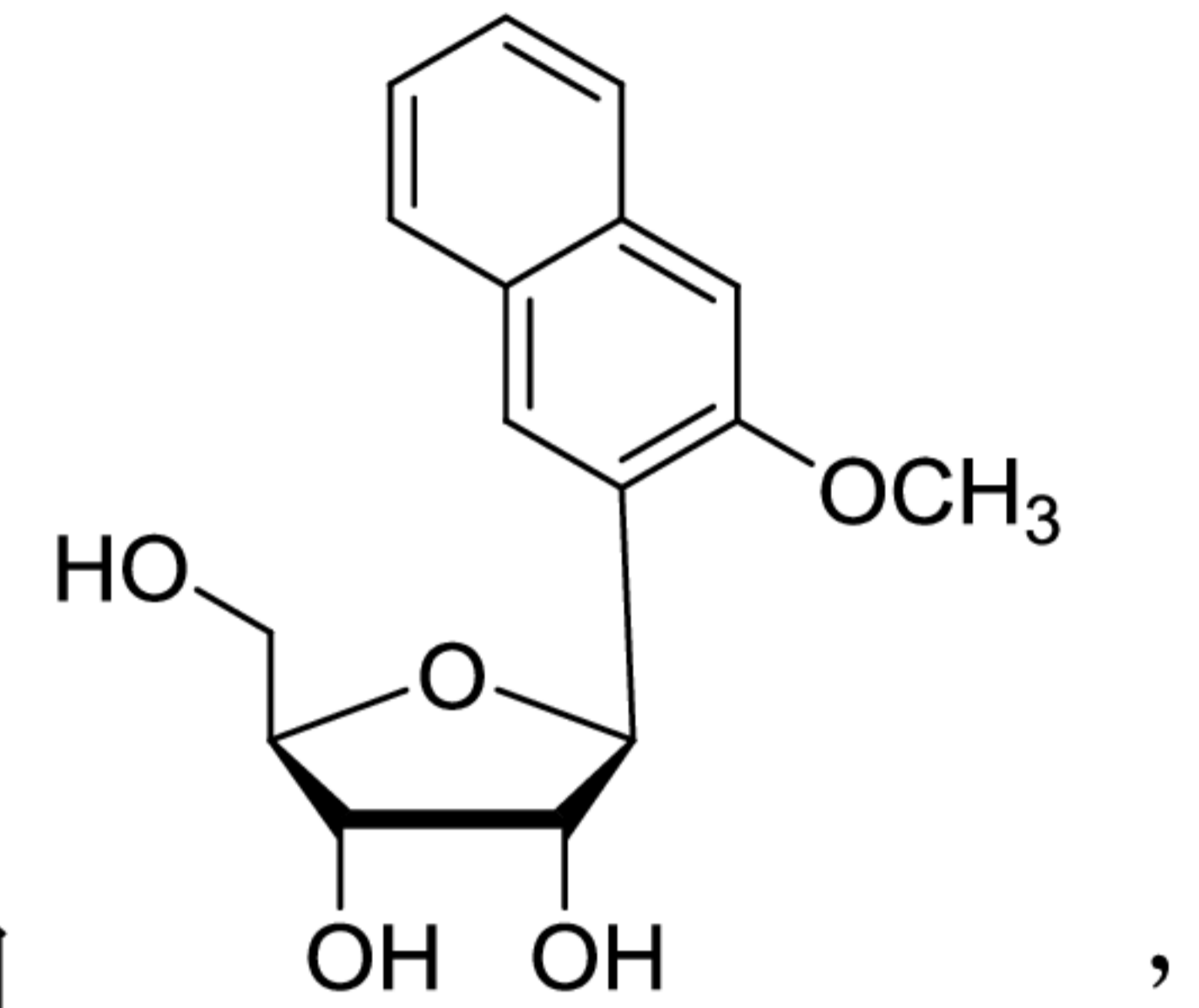
之雙股寡核苷酸的 mRNA 可包括一包含衍生自



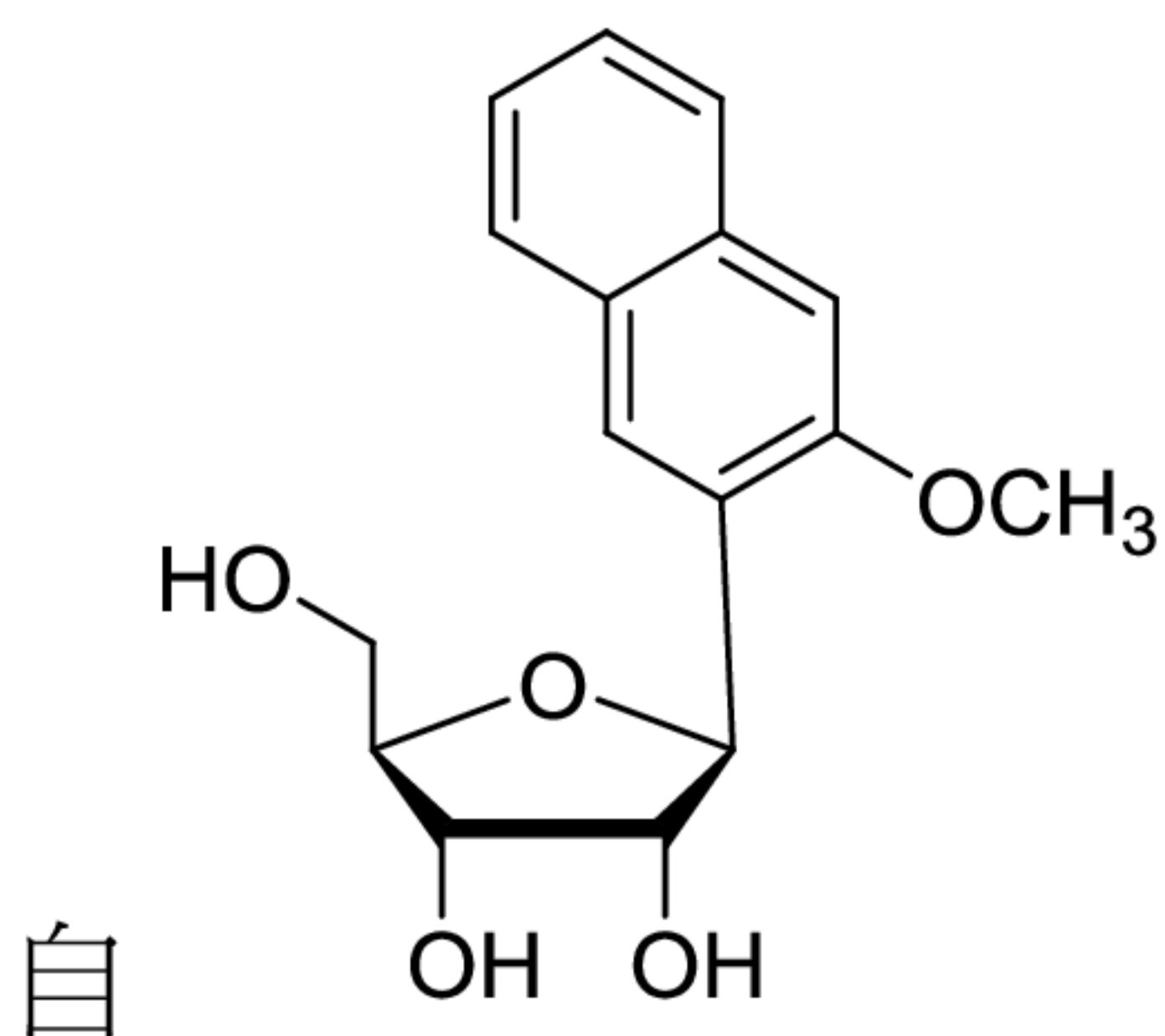
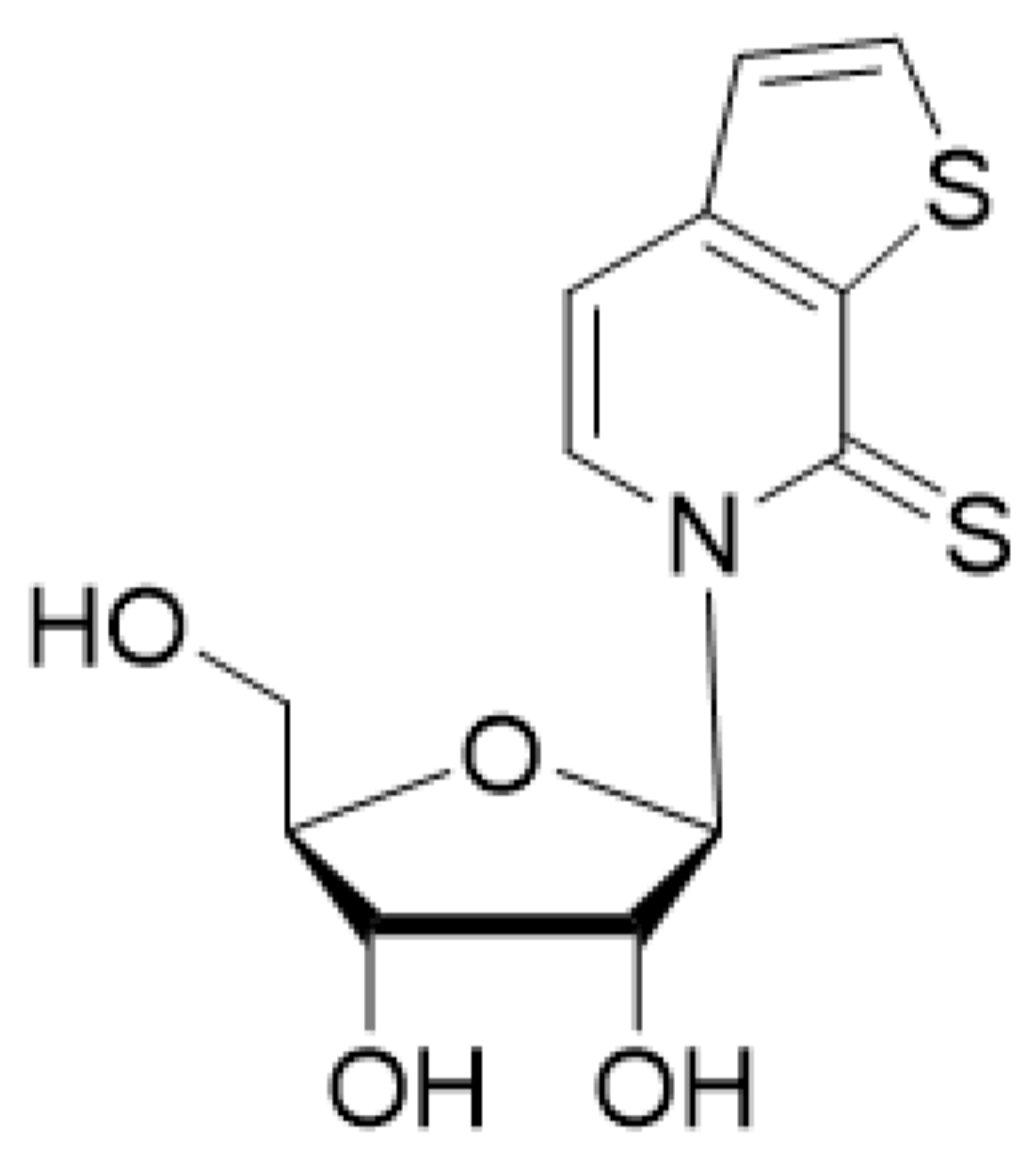
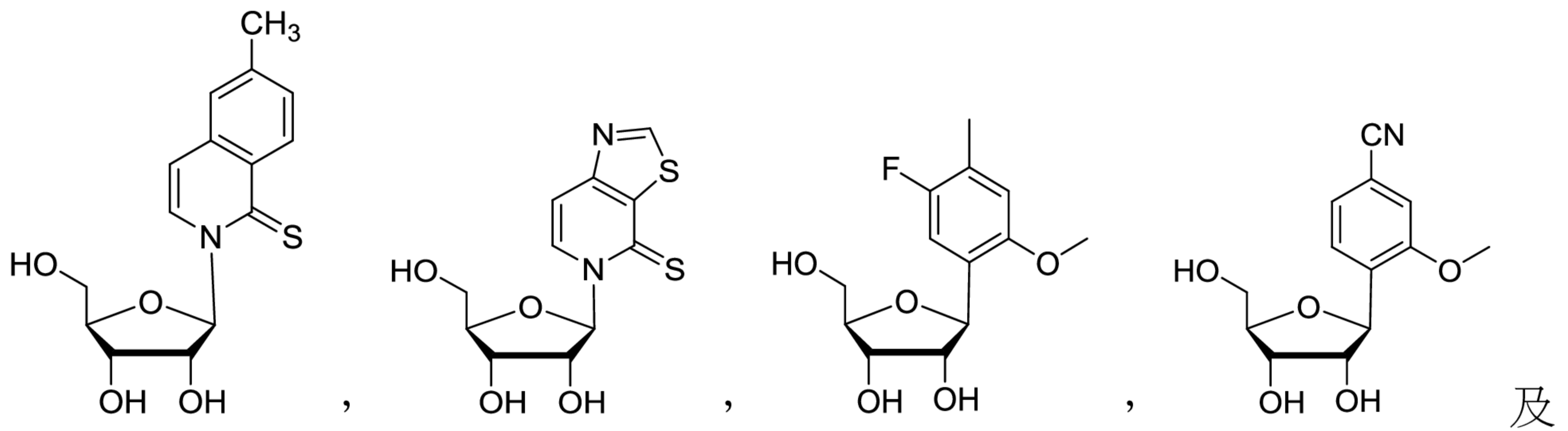
,



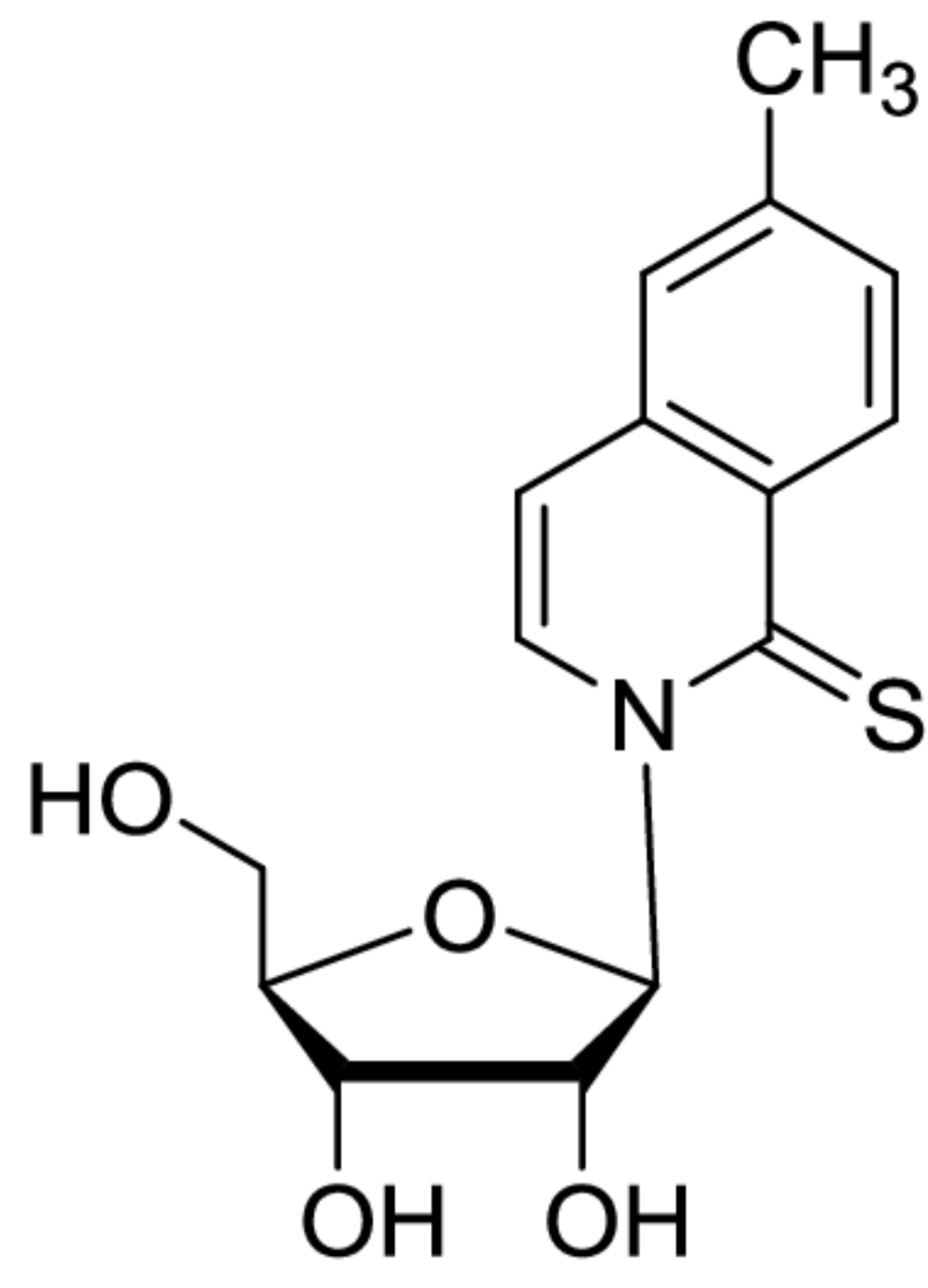
然核苷酸之密碼子。在某些具體實例中，馬氏甲烷八疊球菌 tRNA 可包括一包  
含非天然核苷酸的反密碼子，其係辨識包括 mRNA 之非天然核苷酸的密碼子。



馬氏甲烷八疊球菌 tRNA 中的反密碼子可包括衍生自

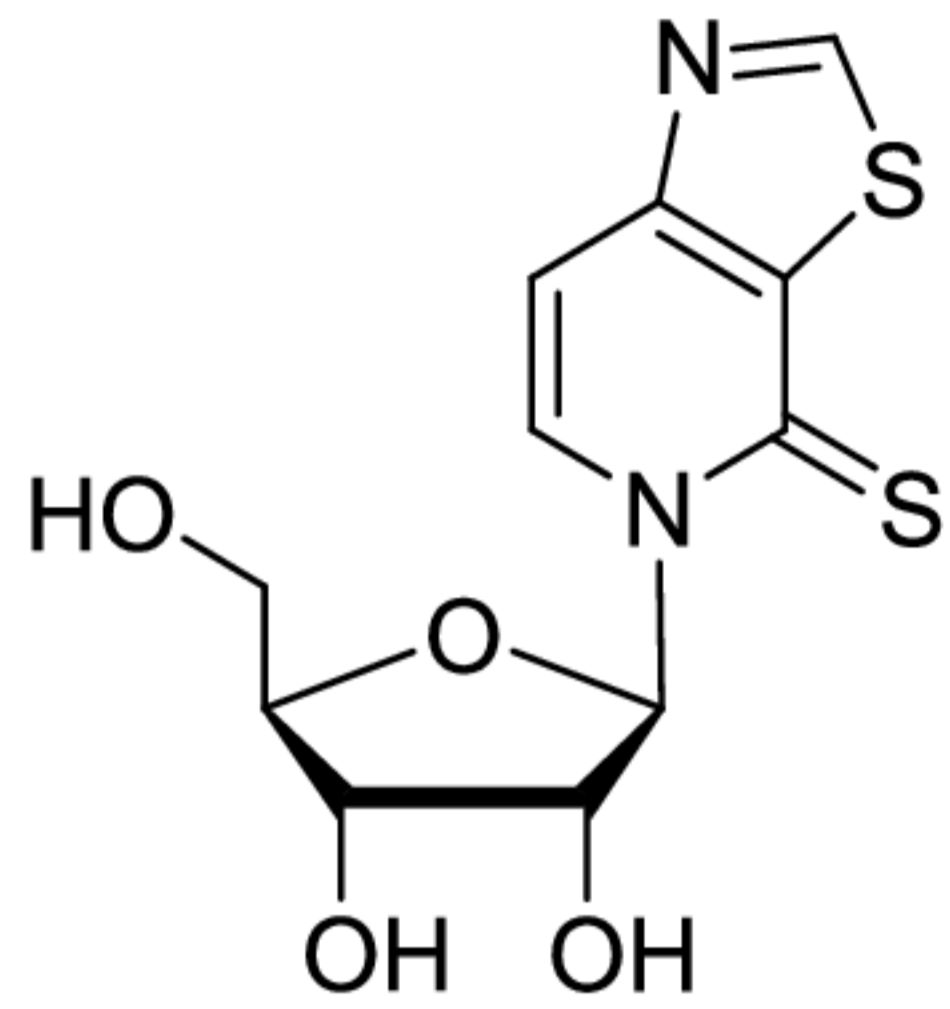






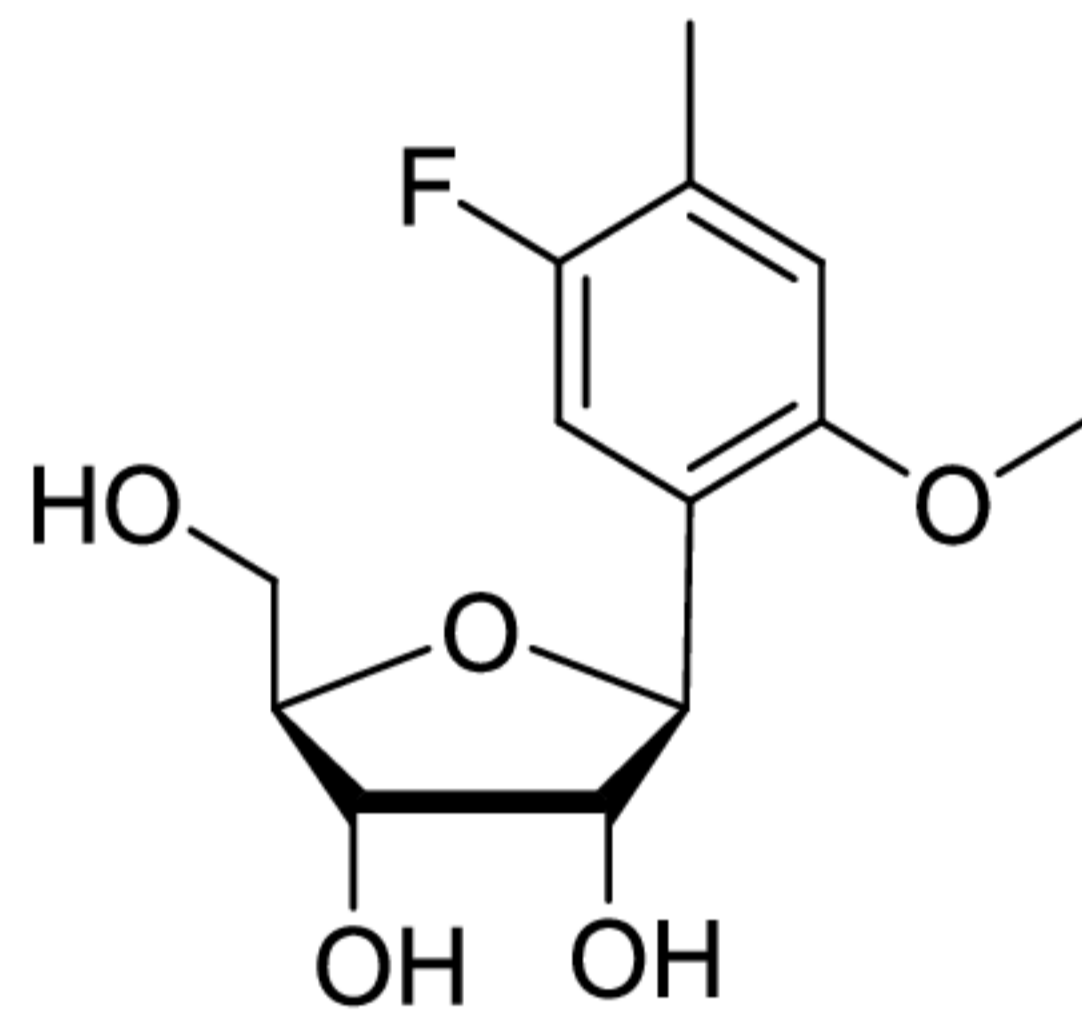
衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA 係包



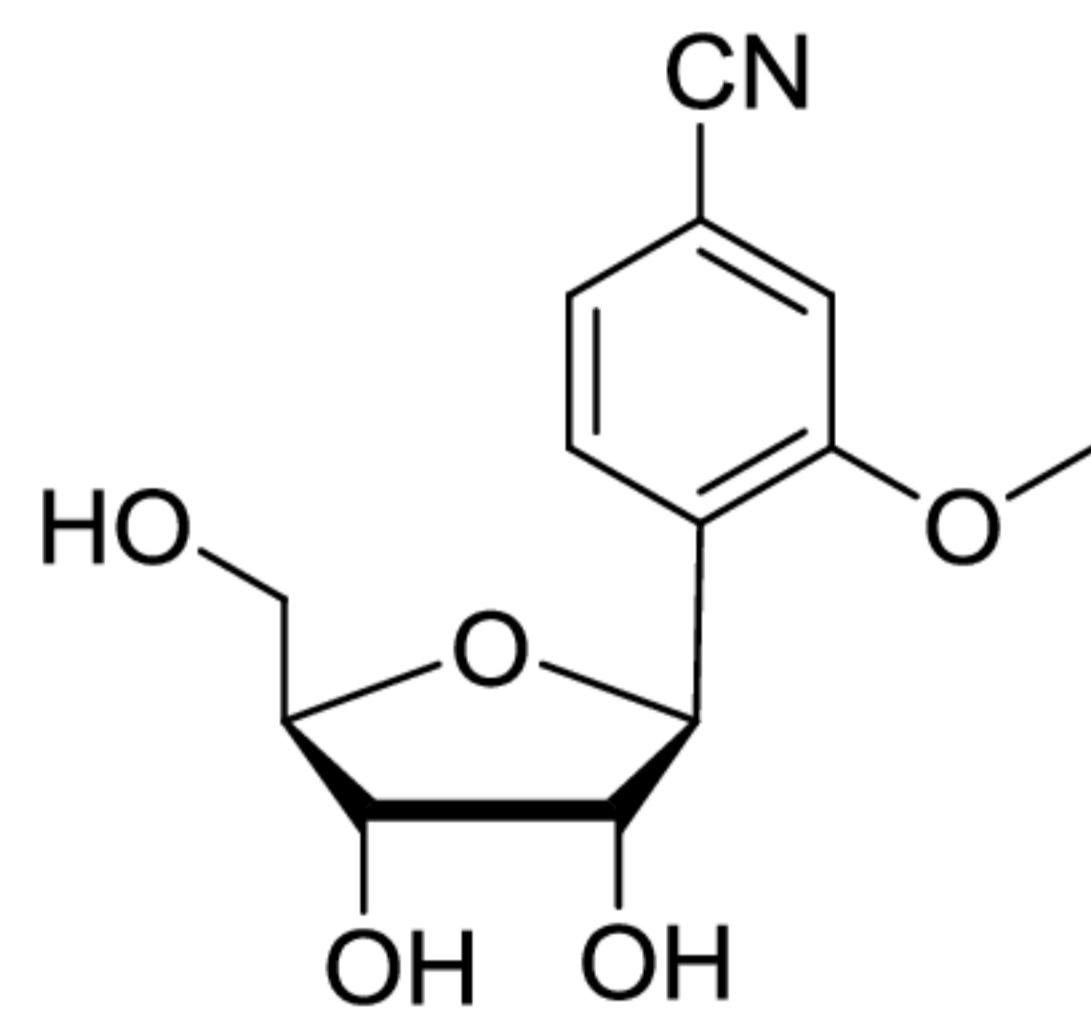
括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA 係包



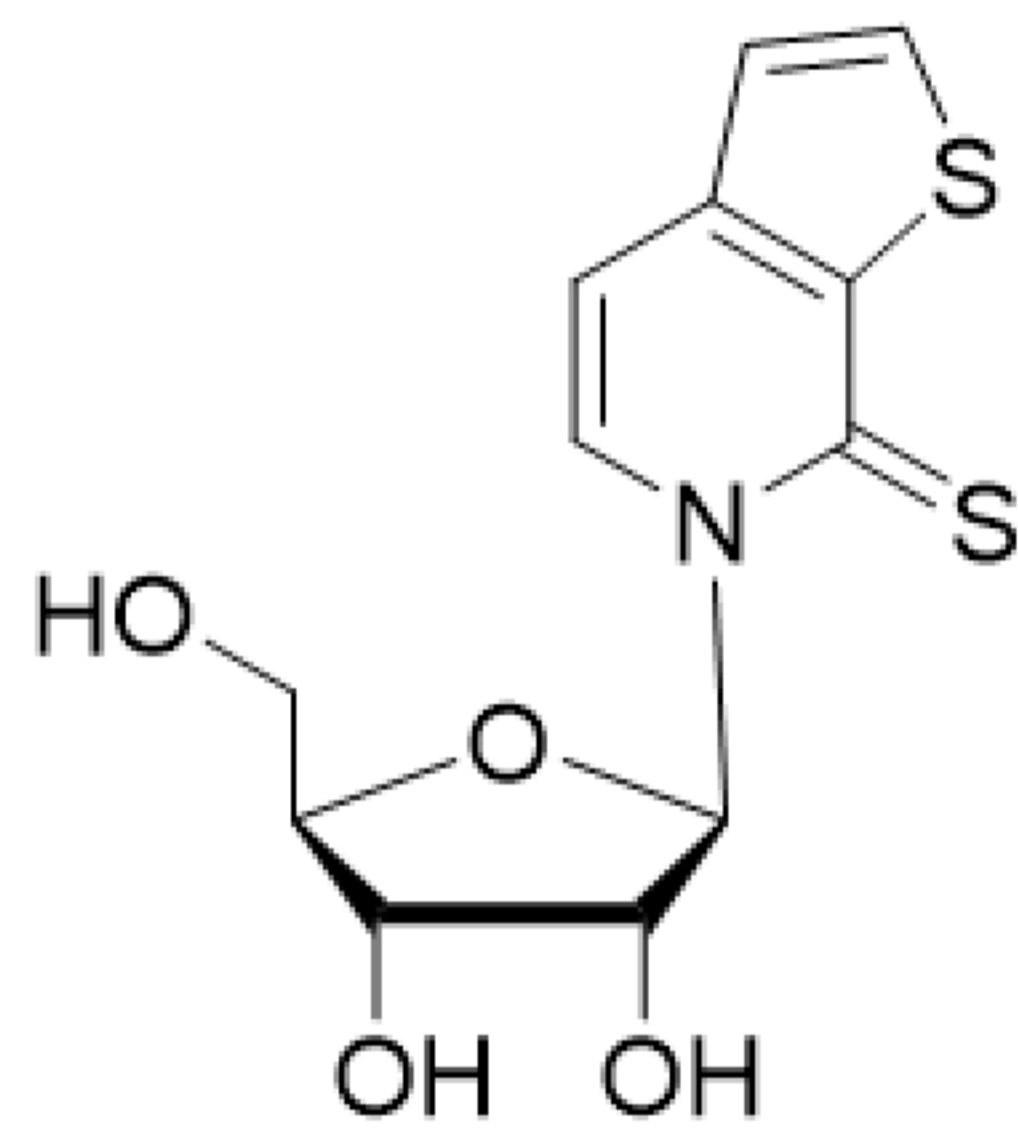
括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA



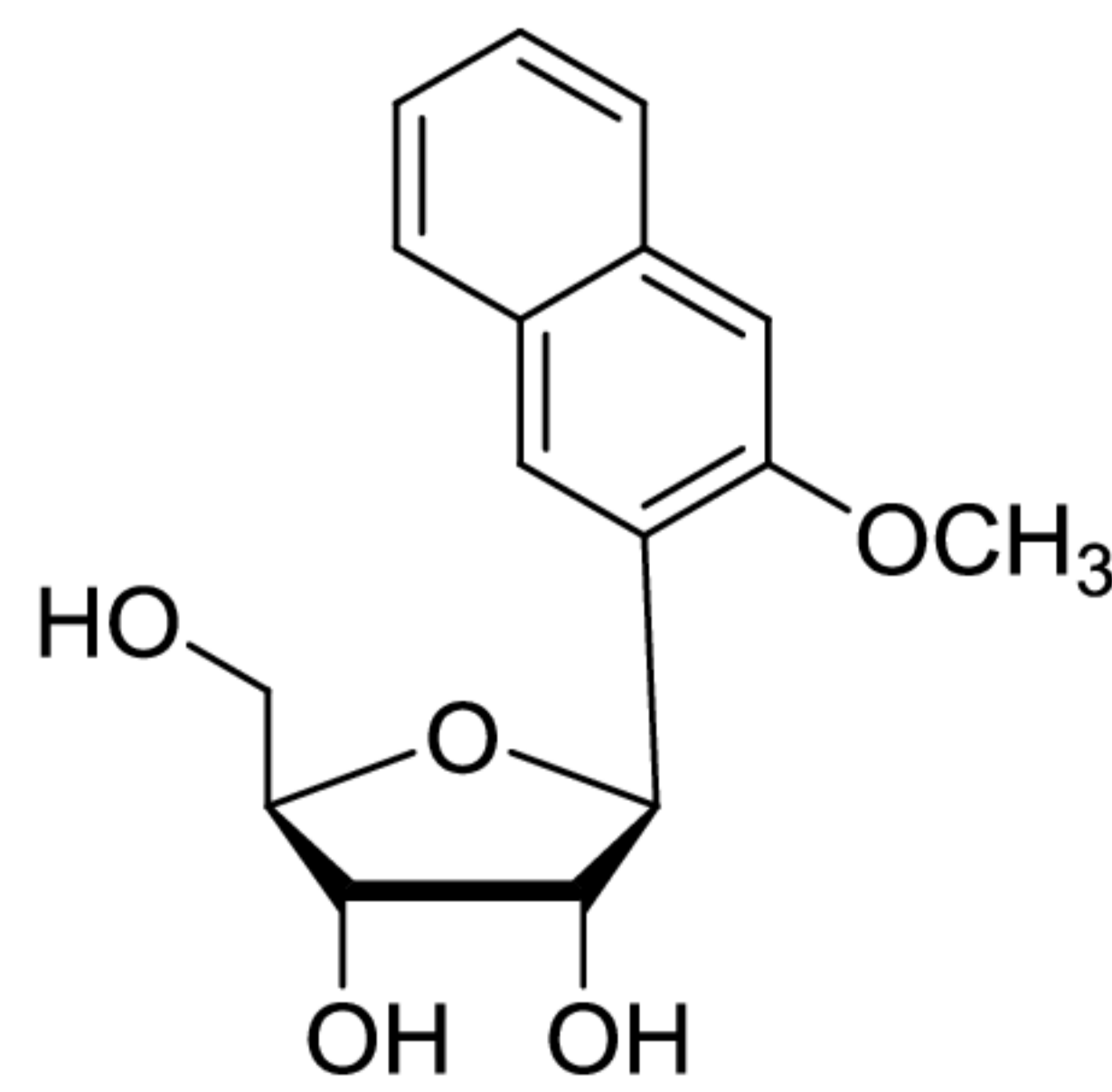
係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA



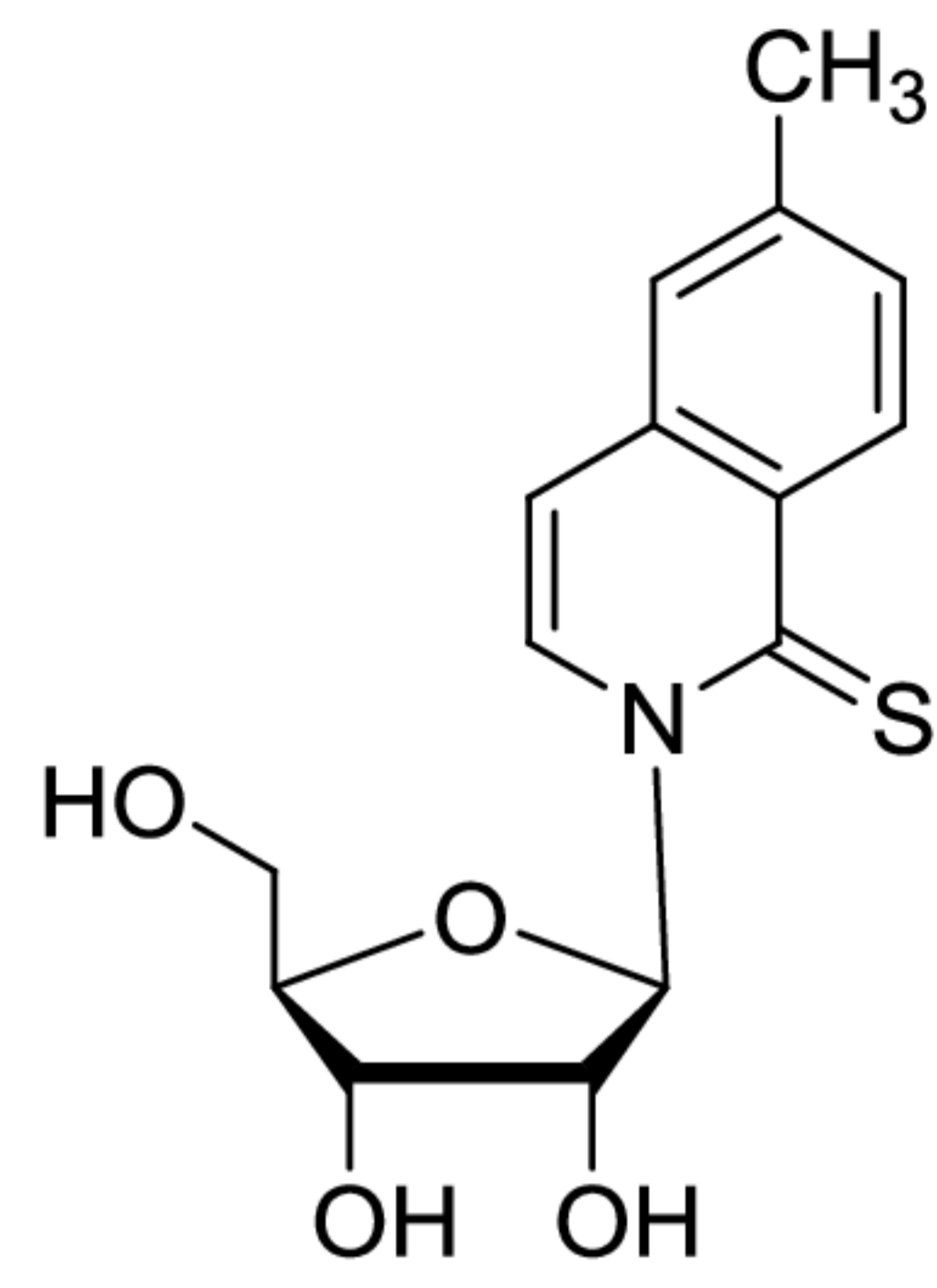
係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA



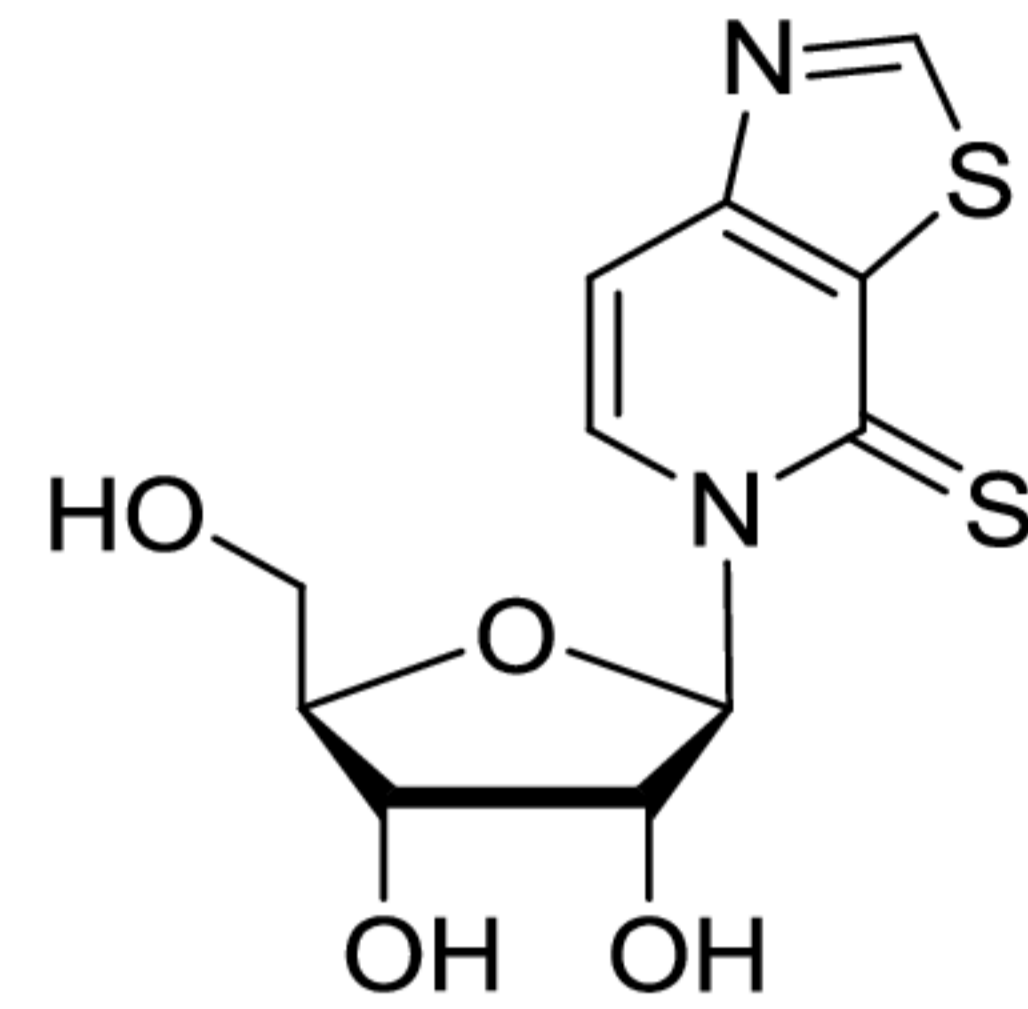
係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此



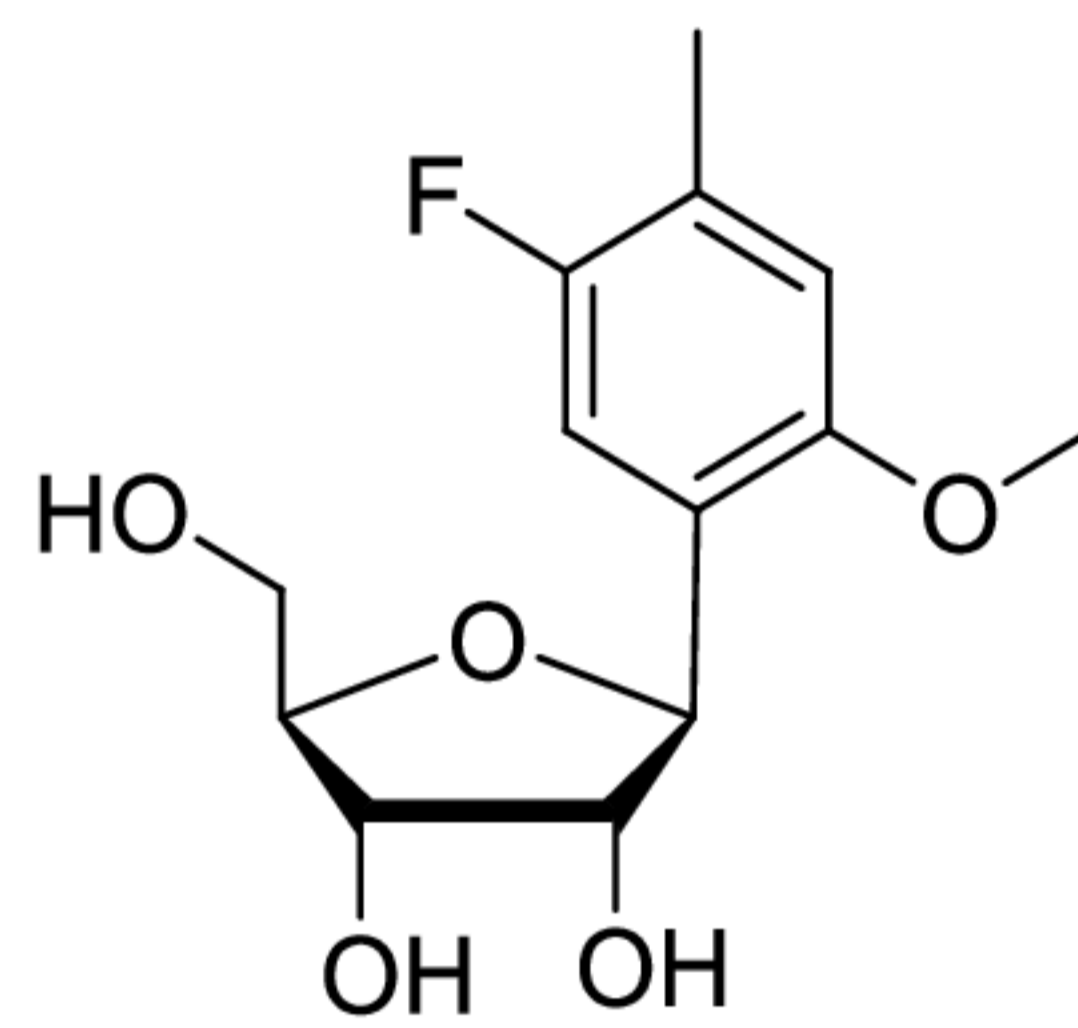
mRNA 係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此



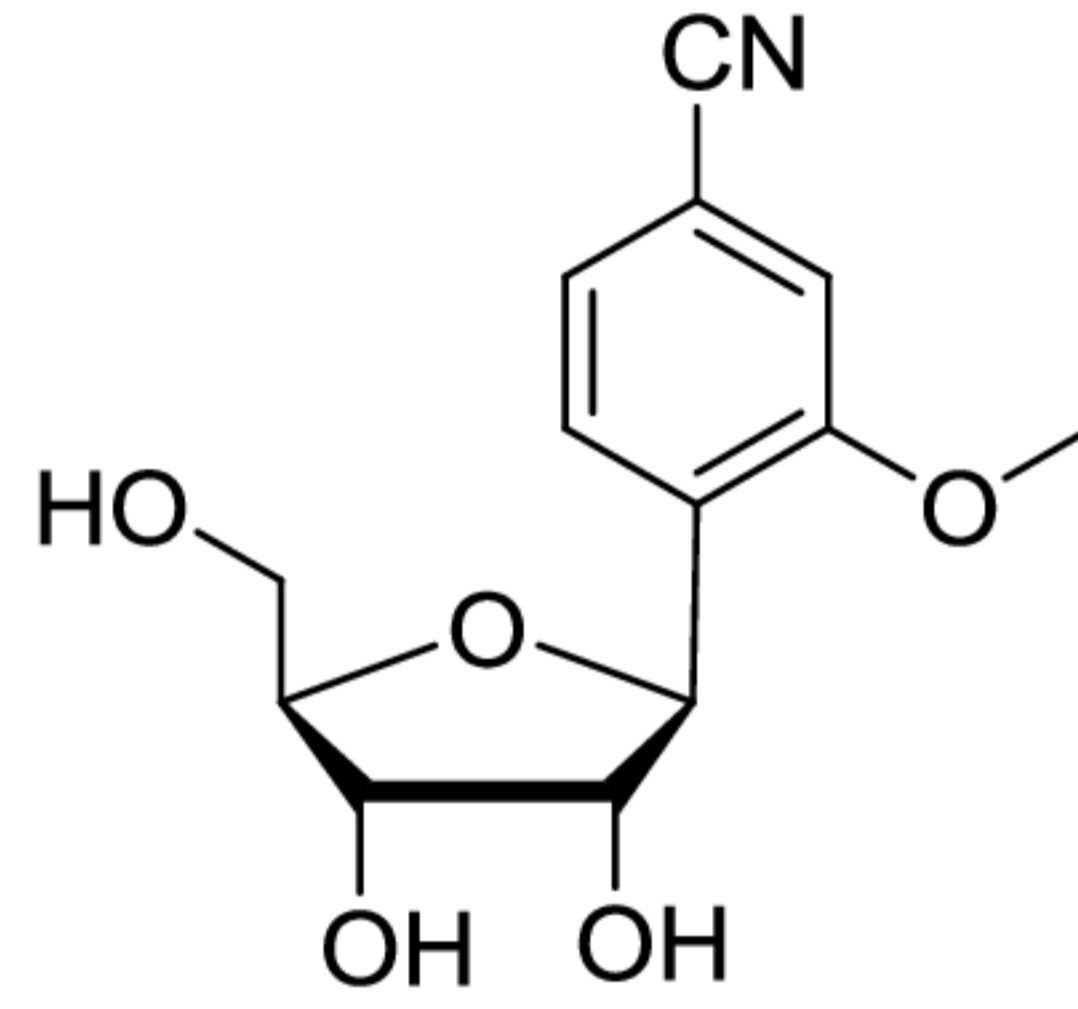
mRNA 係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，



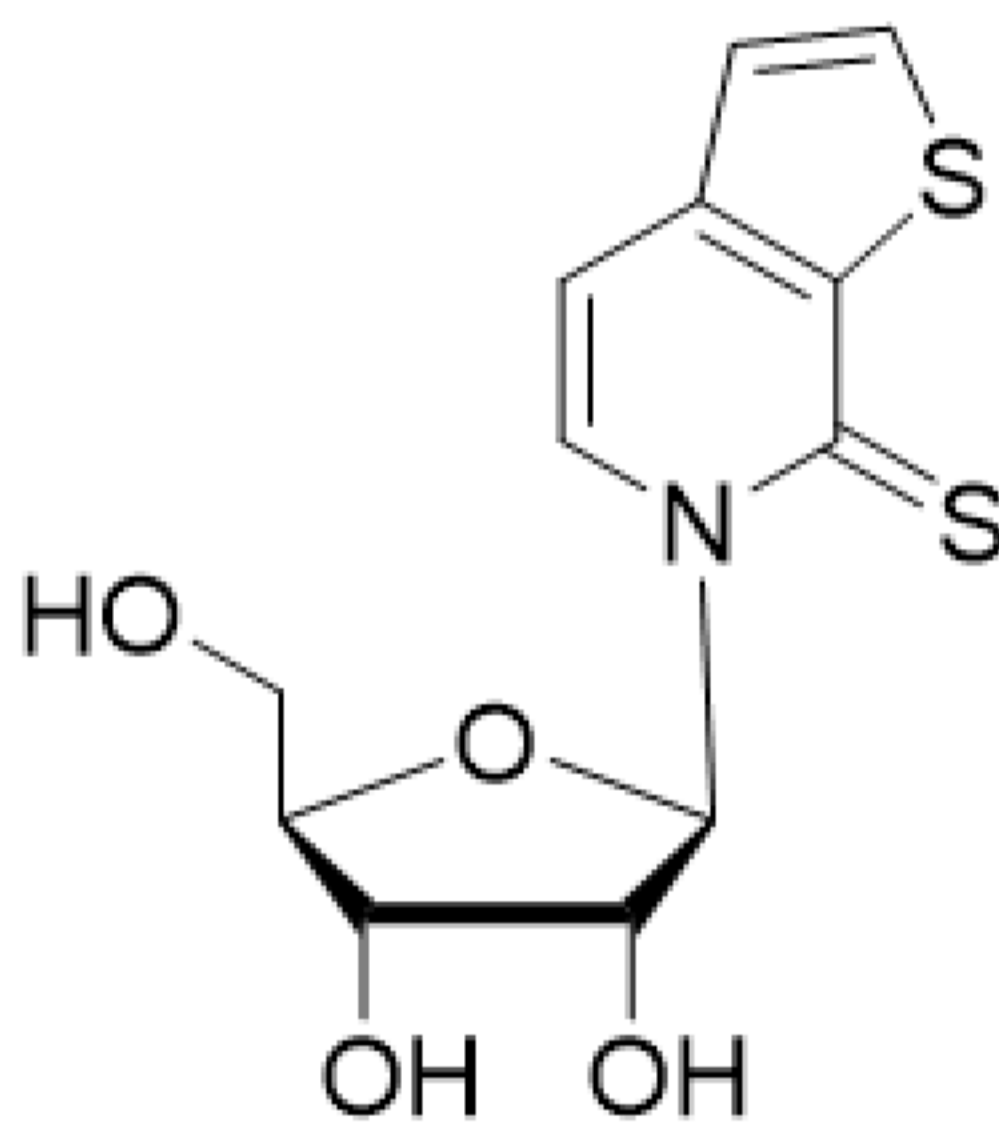
此 mRNA 係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，



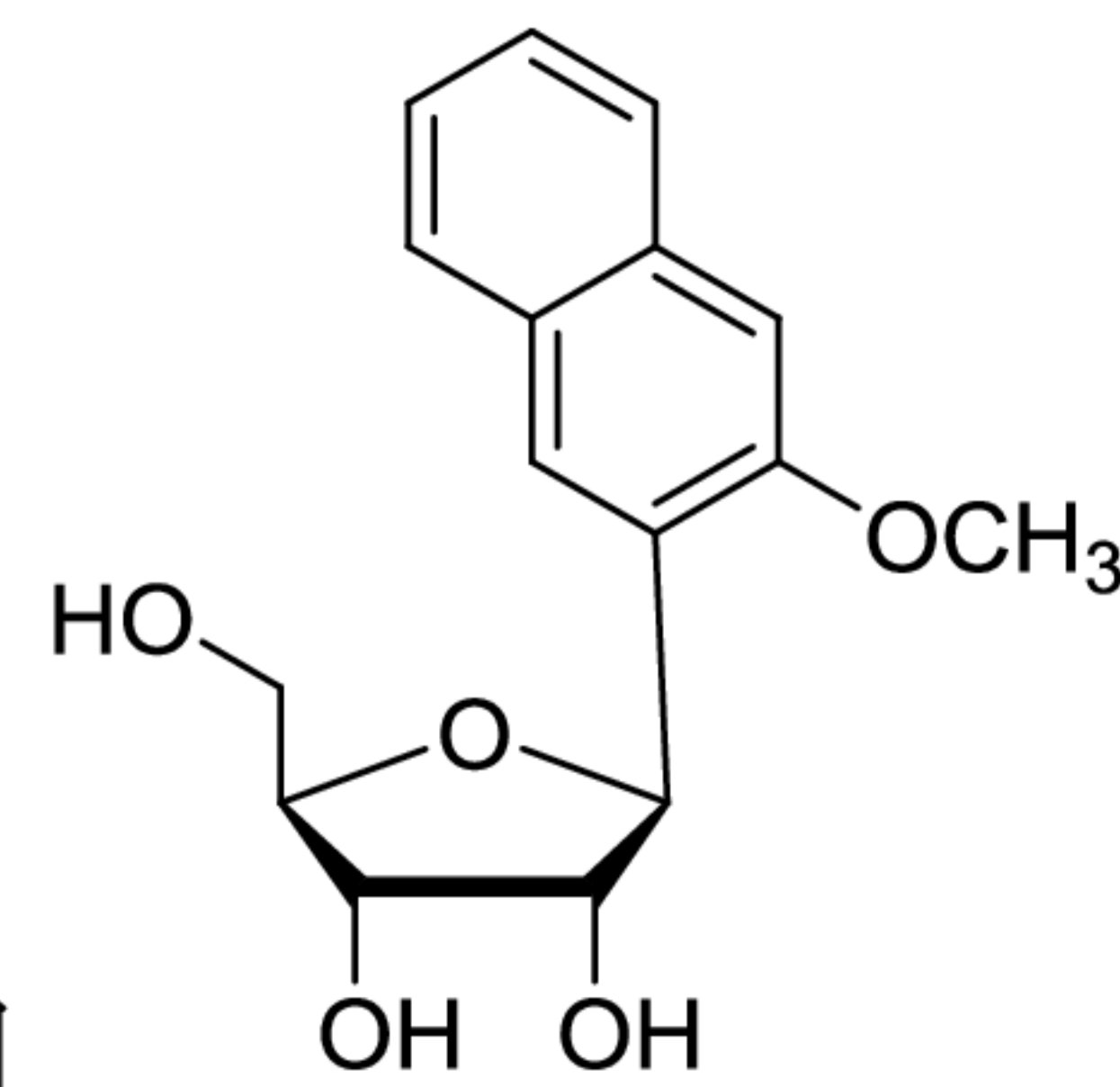
此 mRNA 係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，



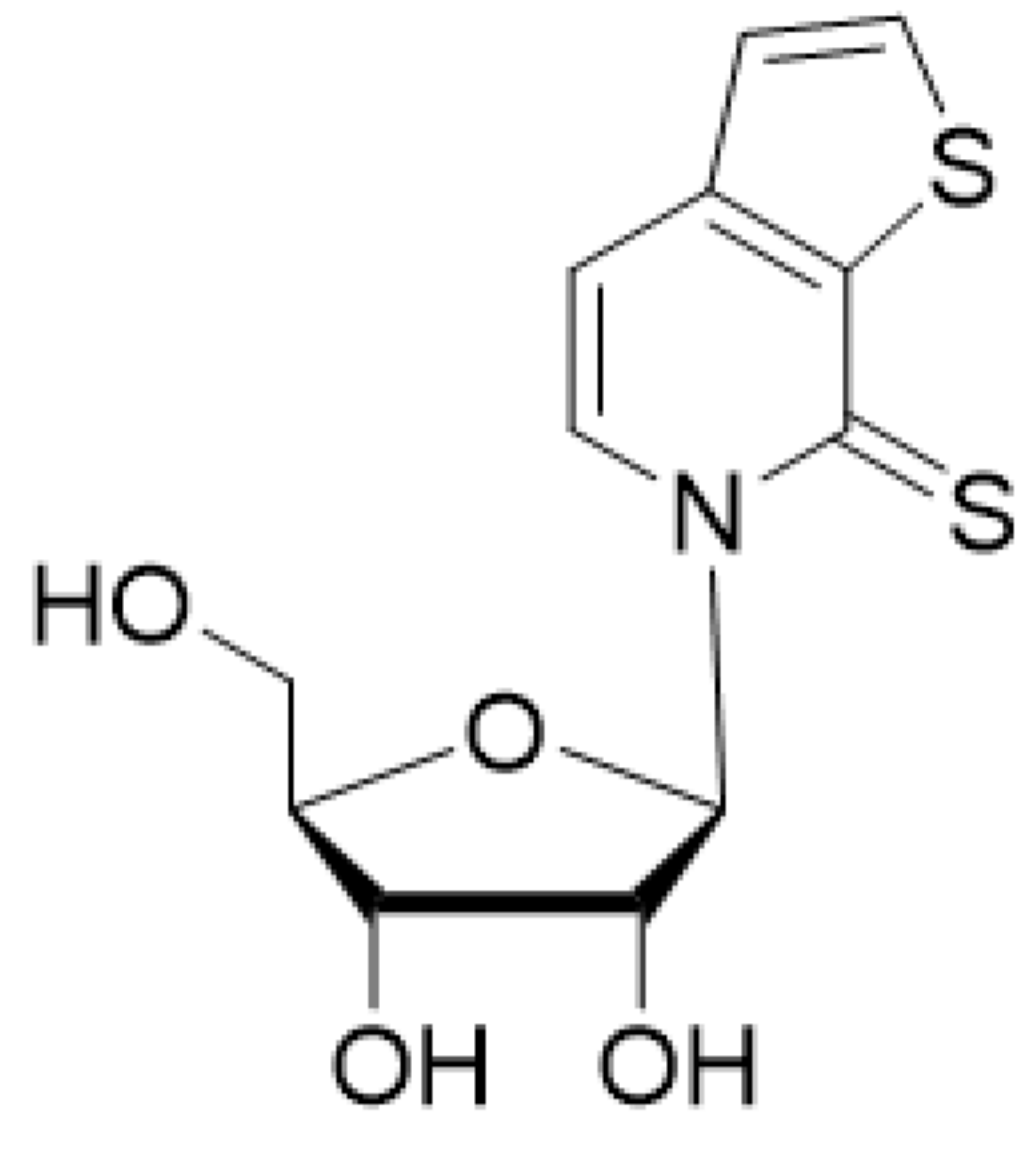
此 mRNA 係包括衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，



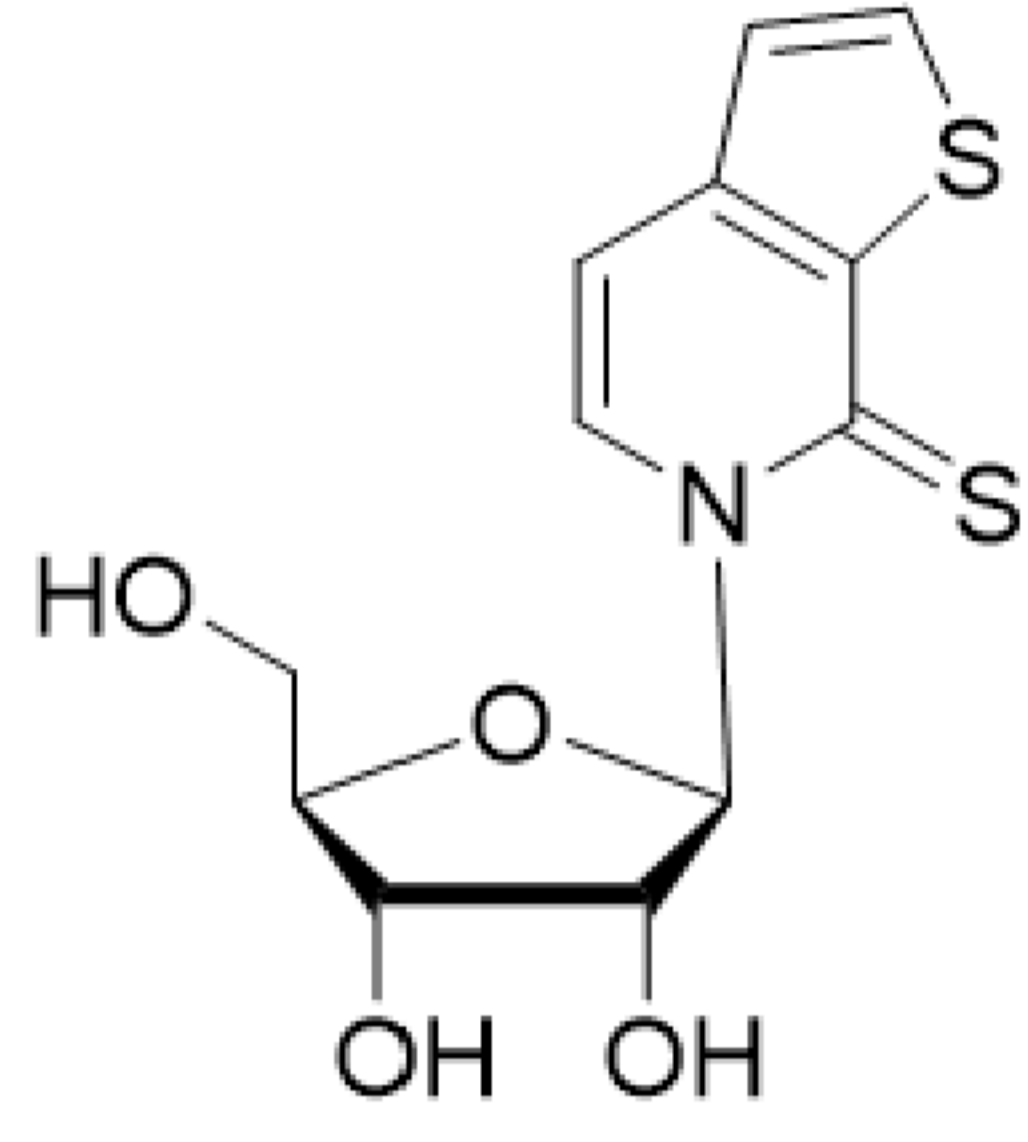
此 mRNA 係包括衍生自

之非天然核苷酸且此 tRNA 係包括



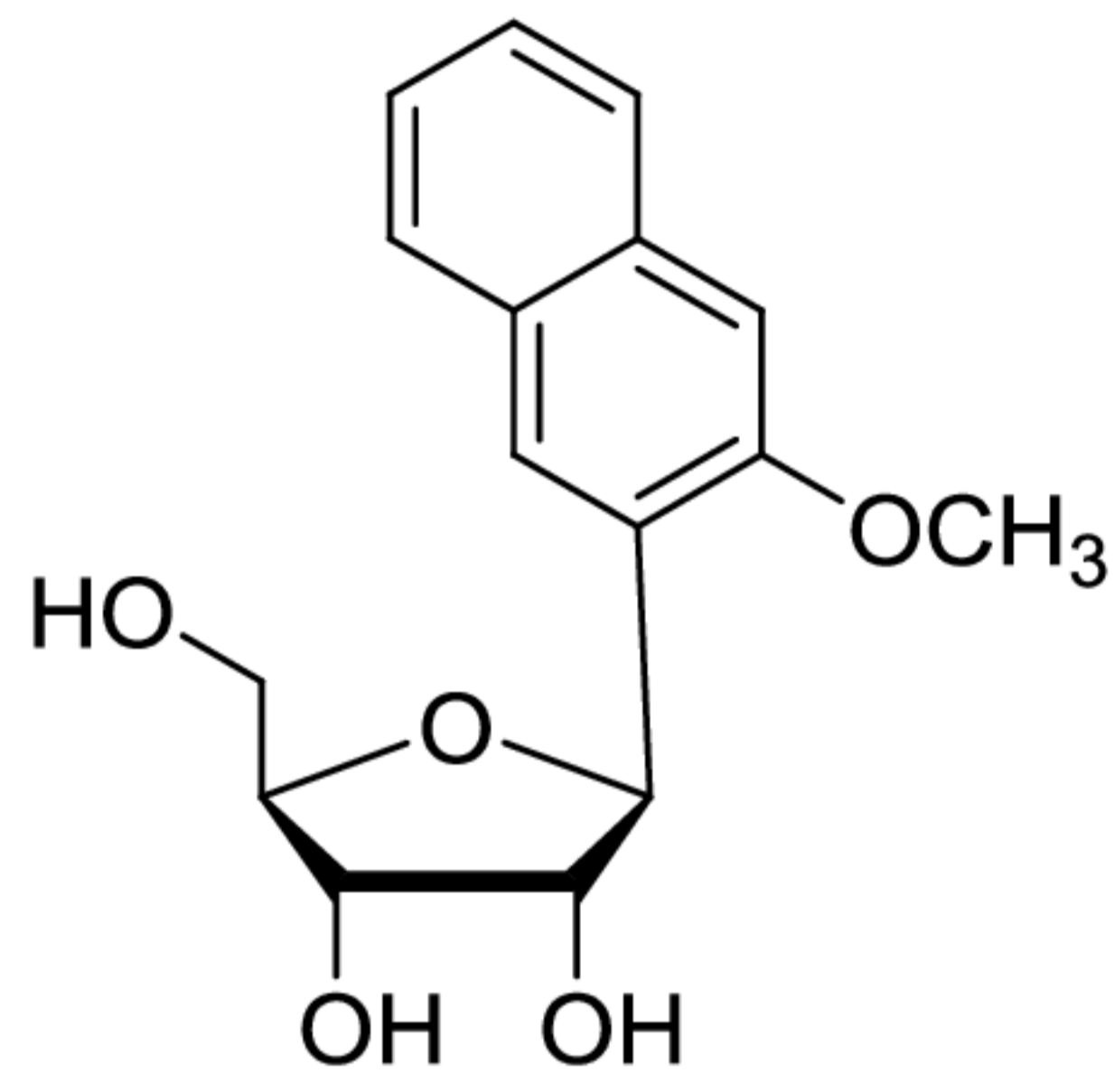
衍生自

之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA 係包

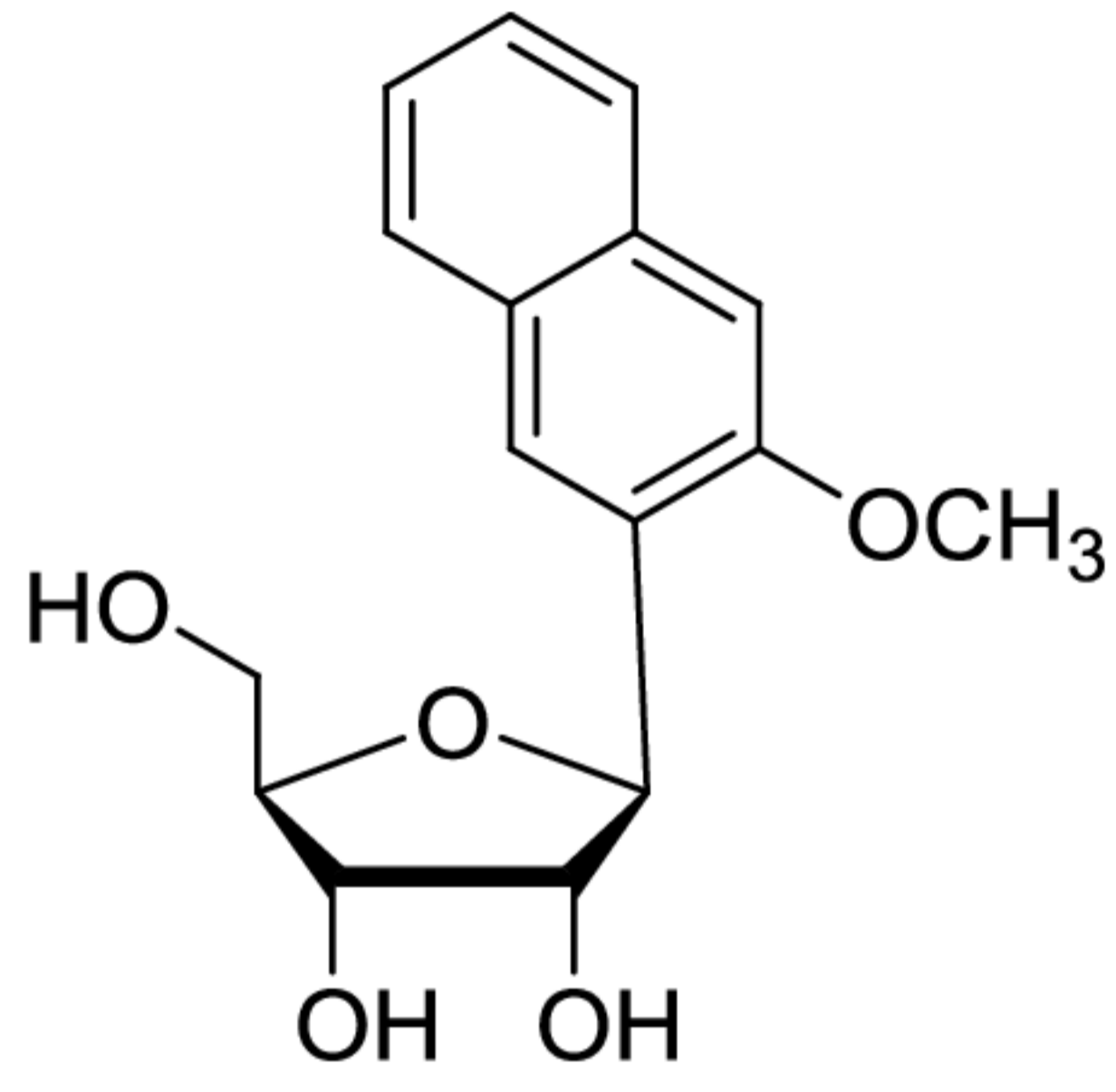


括衍生自

之非天然核苷酸而此 tRNA 係包括衍生自

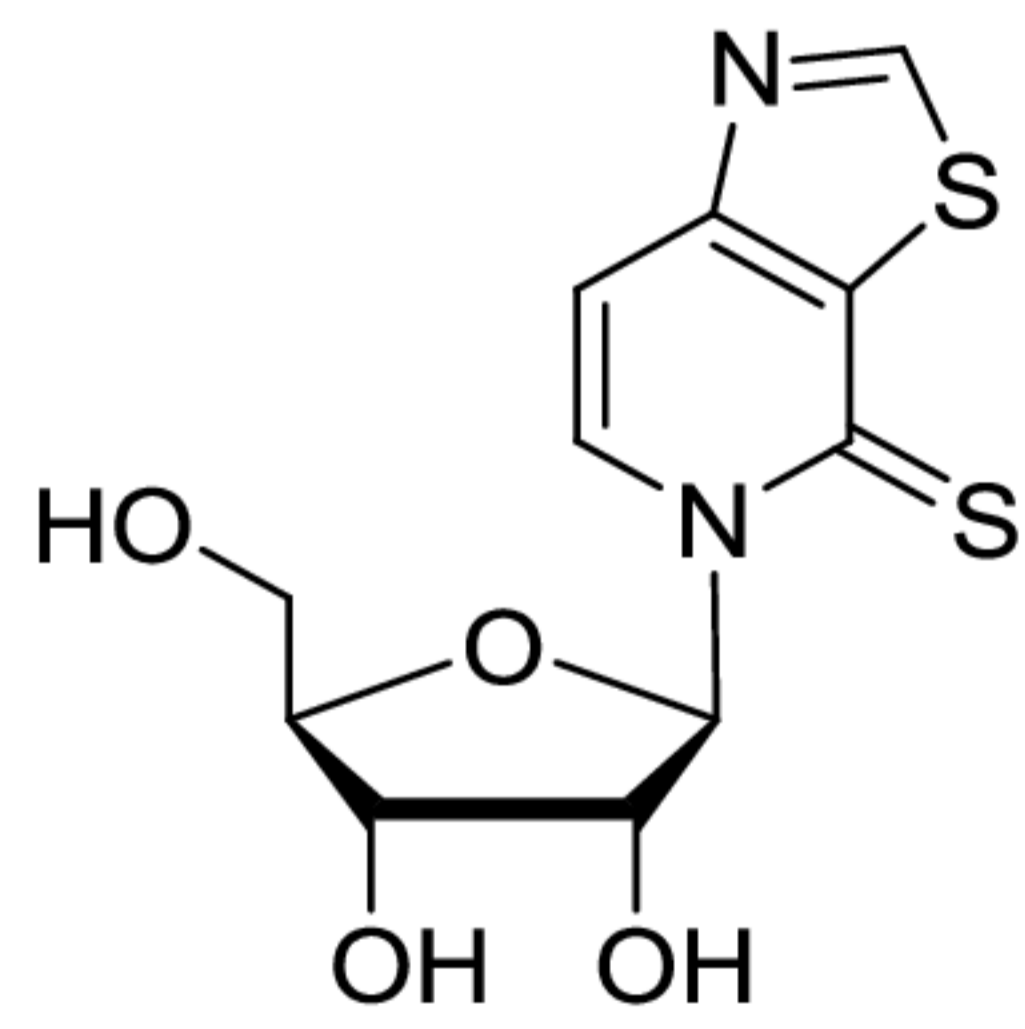


之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA 係包括衍

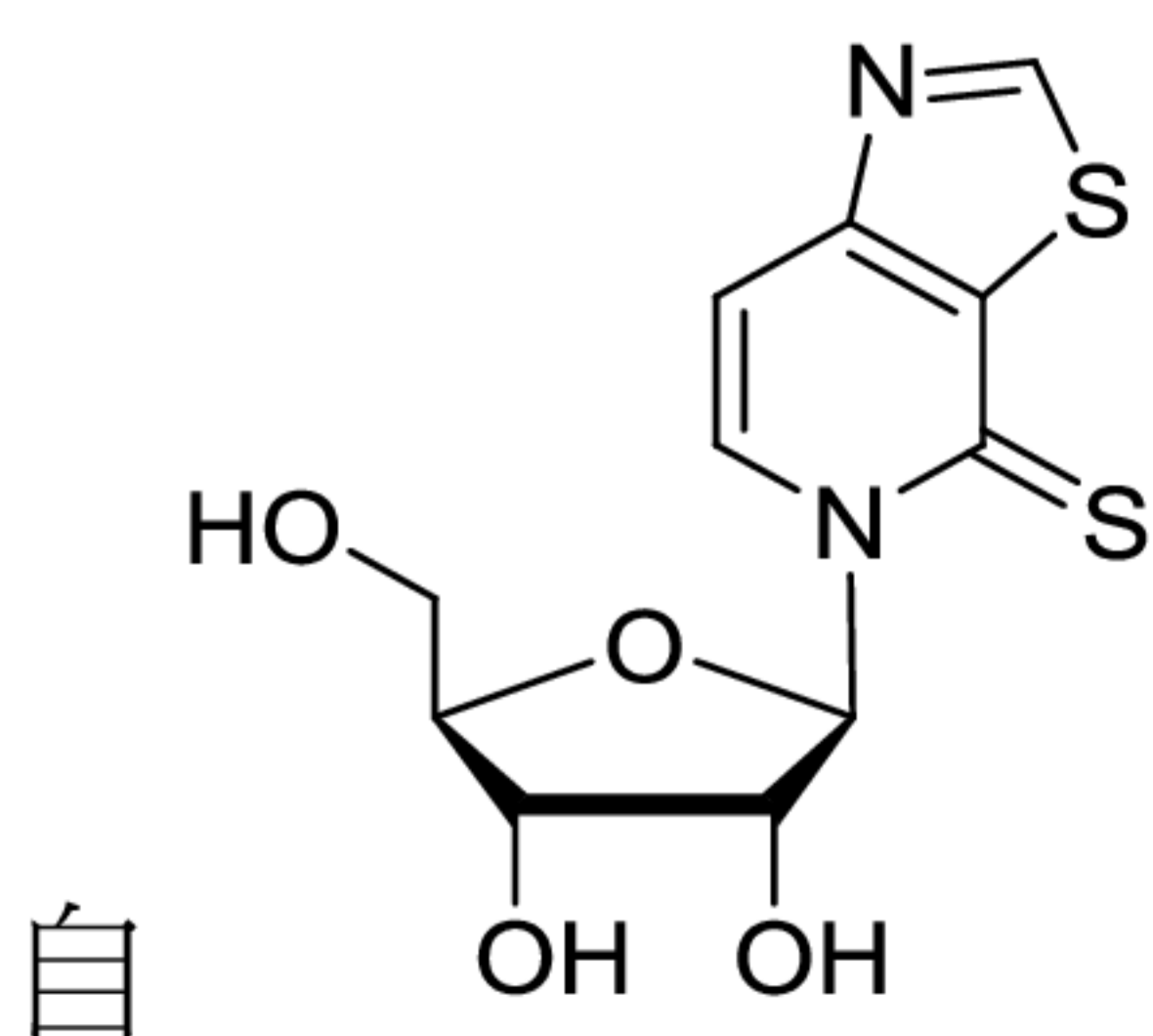


生自

之非天然核苷酸而此 tRNA 係包括衍生自

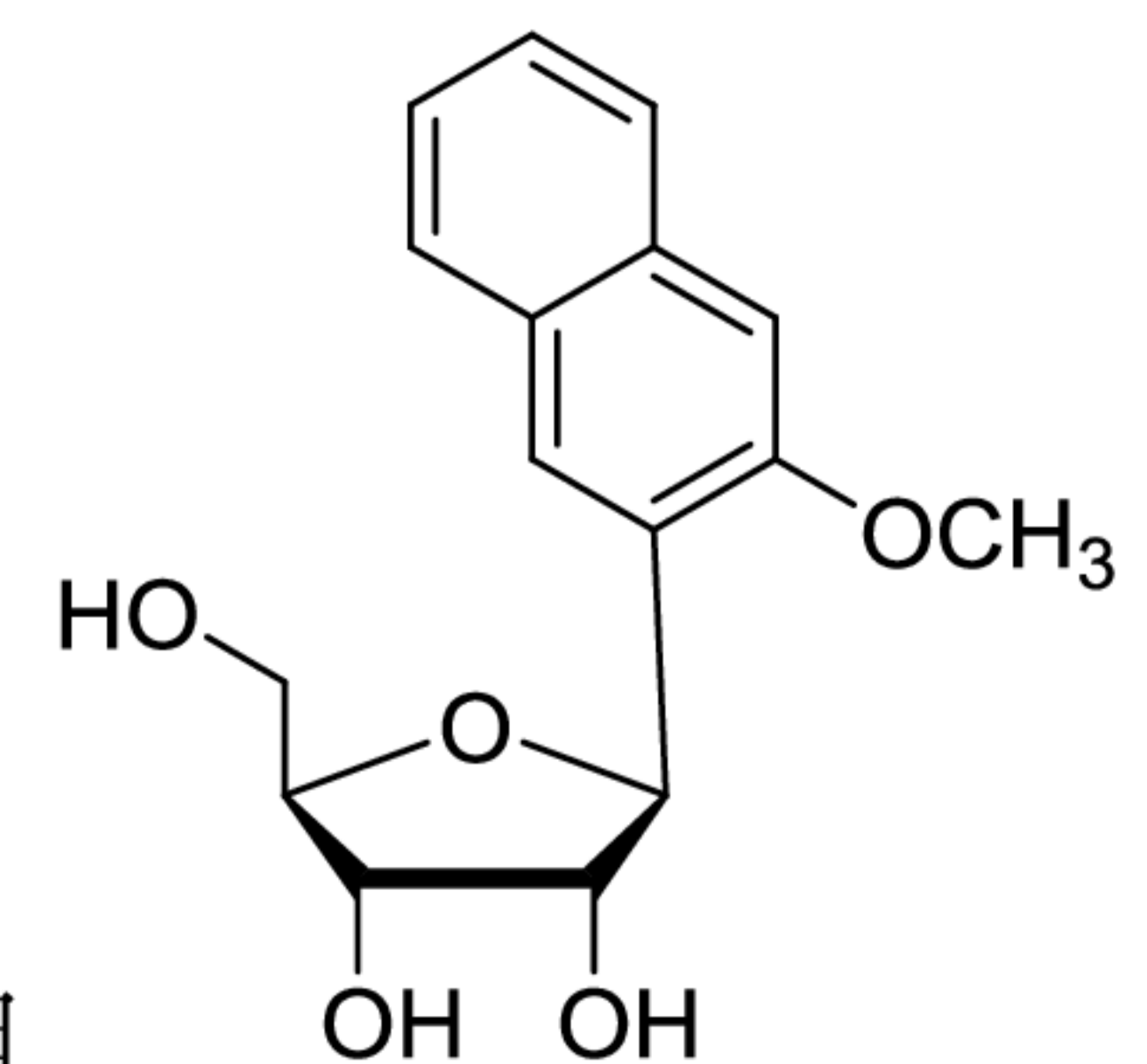


之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此 mRNA 係包括衍生



自

之非天然核苷酸而此 tRNA 係包括衍生自



之非天然核苷酸。宿主細胞係於含有適當營養素之培養基中培養並添加(a)包括一或多個非天然鹼基之去氧核糖核苷的三磷酸鹽，其為編碼包藏此密碼子之細胞激素基因的質體複製所必須，(b)用於轉錄：(i)對應細胞激素之編碼序列並含有包括一或多個非天然鹼基之密碼子的 mRNA 及(ii)含有包括一或多個非天然鹼基之反密碼子的 tRNA，所必須之包括一或多個非天然鹼基之核糖核苷的三磷酸鹽，及(c)併入到感興趣細胞激素之多肽序列的非天然胺基酸。然後將宿主細胞維養於允許感興趣蛋白表現的條件下。

**【0339】** 所產生之表現包含 AzK 的蛋白，可藉由本項技術中一般技術者已知的方法純化及然後可讓其與炔烴，例如包括一具有如文中所揭示的所欲平均分子量之 PEG 鏈的 DBCO，於本項技術中一般技術者已知的條件下反應，得到文中所述的 IL-2 接合物。其他的方法已為本項技術中一般技術者所知，例如該等揭示於 Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644-647; WO 2015157555; WO 2015021432; WO 2016115168; WO 2017106767; WO 2017223528; WO 2019014262; WO 2019014267; WO 2019028419; 和 WO2019/028425 中之方法，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

**【0340】** 所產生之表現包括一或多種非天然胺基酸例如，AzK 的蛋白可藉由本項技術中一般技術者已知的方法純化及然後可讓其與炔烴，例如包括一具有如文中所揭示的所欲平均分子量之 PEG 鏈的 DBCO，於本項技術中一般技術者已知的條件下反應，得到文中所述的 IL-2 接合物。其他的方法已為本項技術中一般技術者所知，例如該等揭示於 Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644-647; WO 2015157555; WO 2015021432; WO 2016115168; WO 2017106767; WO 2017223528; WO 2019014262; WO 2019014267; WO 2019028419; 和 WO2019/028425 之方法，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

**【0341】** 另一種選擇，包括非天然胺基酸之細胞激素(例如，IL-2)多肽係藉由將包括 tRNA 和胺基醯基 tRNA 合成酶和包括感興趣之核酸結構的文中所述的核酸結構以一或多個框架內正交(停止)密碼子導入宿主細胞中所製備。此宿主細胞係在含有適當營養素之培養基中培養，添加(a)包括一或多個非天

然鹼基之去氧核糖核苷的三磷酸鹽，其為編碼包藏此新穎密碼子和反密碼子之細胞激素基因的質體複製所必須，(b)用於轉錄對應(i)含有此密碼子之細胞激素序列及(ii)含有此反密碼子之正交 tRNA 的 mRNA 所需之氧核糖核苷的三磷酸鹽，及(c)非天然胺基酸。然後將宿主細胞維養於允許感興趣蛋白表現的條件下。就回應此非天然密碼子，而將非天然胺基酸併入多肽鏈中。例如，將一或多個非天然胺基酸併入細胞激素(例如，IL-2)多肽中。另一種選擇，二或多個非天然胺基酸可在此蛋白的二或多個位置併入細胞激素(例如，IL-2)多肽。

**【0342】** 一旦併入非天然胺基酸之細胞激素(例如，IL-2)多肽在宿主細胞中產生，則可藉由各種本項技術中已知的技術，包括酵素性、化學性及/或滲透性溶解和物理性破壞，將其從其中萃取出。細胞激素(例如，IL-2)多肽可藉由本項技術中已知的標準技術來純化，例如製備性離子交換層析、疏水性層析、親和層析或本項技術之一般技術者已知的其他適合技術。

**【0343】** 適合的宿主細胞可包括細菌細胞(例如，大腸桿菌，BL21(DE3))，但最適合的宿主細胞為真核細胞，例如昆蟲細胞(例如，果蠅，如黑腹果蠅(*Drosophila melanogaster*))，酵母菌細胞，線蟲(例如秀麗隱桿線蟲(*C. elegans*))，小鼠(例如，小家鼠(*Mus musculus*))或哺乳動物細胞(例如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)或 COS 細胞、人類 293T 細胞、HeLa 細胞、NIH 3T3 細胞及小鼠紅血球性白血病(MEL)細胞)或人類細胞或其他真核細胞。其他適合的宿主細胞已為熟習本項技術者所熟知。適合地，此宿主細胞為哺乳動物細胞-例如人類細胞或昆蟲細胞。在某些具體實例中，適合的宿主細胞包括大腸桿菌。

**【0344】** 一般可用於本發明具體實例中的其他適合宿主細胞為該等在實例章節所提的宿主細胞。載體 DNA 可經由習知的轉化或轉染技術導入宿主細胞。如文中所用，術語「轉化」和「轉染」希望係指各種用於將外來核酸分子(例如，DNA)導入宿主細胞之熟知的技術，其包括磷酸鈣或氯化鈣共沉澱，DEAE-右璇糖酐-媒介的轉染、脂質轉染(lipofection)或電穿孔。用於轉化或轉染宿主細胞之適合的方法已為本項技術所熟知。

**【0345】** 當製造細胞株時，其一般較佳的係製備穩定的細胞株。例如就穩定轉染哺乳動物細胞，已知依照所用的表現載體和轉染技術，僅有小部分

的細胞可將外來 DNA 整合至其基因體中。為了鑑別和選擇這些整合體，一般可將一編碼可選擇標記(例如，對抗生素的抗藥性)的基因與感興趣基因導入宿主細胞中。較佳的可選擇標記包括該等賦予抗藥性之標記，例如 G418、潮黴素(hygromycin)或甲胺喋呤(methotrexate)。可將編碼可選擇標記的核酸分子在相同的載體上導入宿主細胞或可在分開的載體上導入。以導入的核酸分子穩定轉染的細胞可藉由藥物選擇來鑑別(例如，具有併入此可選擇標記基因之細胞將存活，而其他的細胞則死亡)。

**【0346】** 在一具體實例中，文中所述的結構係整合至宿主細胞的基因體中。一穩定整合的優點為達到個別細胞或選植株之間的一致性。另外的優點為可進行最佳生產者之選擇。因此，所欲的係製造出穩定的細胞株。在另外的具體實例中，係將文中所述的結構轉染至一宿主細胞中。將此等結構轉染至宿主細胞的一優點為蛋白產率可最大化。在一方面，已描述了包括文中所述之核酸結構或載體的細胞。

### 另外的藥劑

**【0347】** 在某些具體實例中，文中所述的為於一有此需要的對象中治療增生性疾病或症狀之方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之文中所述的細胞激素接合物(例如，IL-2 接合物)。在某些具體實例中，文中所述的為於一有此需要的對象中治療增生性疾病或症狀之方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之文中所述的細胞激素接合物(例如，IL-2 接合物)與一或多種另外藥劑之組合。在某些具體實例中，文中所述的為於一有此需要的對象中治療增生性疾病或症狀之方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之文中所述的細胞激素接合物(例如，IL-2 接合物)與一或多個免疫檢查點抑制劑之組合。

**【0348】** 在某些具體實例中，一或多種另外的藥劑係包括一或多個選自 PD-1 抑制劑之免疫檢查點抑制劑。在某些具體實例中，一或多種另外的藥劑係包括一或多個 PD-1 抑制劑。在某些具體實例中，一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗、納武單抗、西普利單抗、派姆單抗(lambrolizumab)、AMP-224、信迪利單抗(sintilimab)、特瑞普利單抗(toripalimab)、卡瑞利珠單抗(camrelizumab)、替雷利珠單抗(tislelizumab)、dostarlimab(GSK)、PDR001

(Novartis)、MGA012 (Macrogenics/Incyte)、GLS-010 (Arcus/Wuxi)、AGEN2024 (Agenus)、西妥昔單抗(cetrelimab)(Janssen)、ABBV-181 (Abbvie)、AMG-404 (Amgen)、BI-754091 (Boehringer Ingelheim)、CC-90006 (Celgene)、JTX-4014 (Jounce)、PF-06801591 (Pfizer)及傑諾單抗(genolimzumab)(Apollomics/Genor BioPharma)。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為西普利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為派姆單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為 MP-224。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為信迪利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為特瑞普利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為卡瑞利珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為替雷利珠單抗。

**【0349】** 在某些具體實例中，此一或多種另外的藥劑係包括選自 PD-L1 抑制劑之免疫檢查點抑制劑。在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑係選自阿替珠單抗(atezolizumab)、阿維魯單抗(avelumab)及度伐魯單抗(durvalumab)、ASC22 (Alphamab/Ascletis)、CX-072 (Cytomx)、CS1001 (Cstone)、科西貝利單抗(cosibelimab)(Checkpoint Therapeutics)、INCB86550 (Incyte)及 TG-1501(TG Therapeutics)。在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑為阿替珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑為一阿維魯單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑為度伐魯單抗。在某些具體實例中，此一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 CTLA-4 抑制劑。在某些具體實例中，此一或多個 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗(tremelimumab)、伊匹單抗(ipilimumab)及 AGEN-1884 (Agenus)。在某些具體實例中，此一或多個 CTLA-4 抑制劑為替西木單抗。在某些具體實例中，此一或多種 CTLA-4 抑制劑為伊匹單抗。

**【0350】** 在某些具體實例中，此一或多種另外的藥劑係包括選自 CTLA-4 抑制劑之免疫檢查點抑制劑。在某些具體實例中，此 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗和伊匹單抗。在某些具體實例中，此 CTLA-4 抑制劑為替西木單抗。在某些具體實例中，此 CTLA-4 抑制劑為伊匹單抗。

## 治療方法

【0351】 文中所述的為於一有此需要的對象中治療癌症之方法，該方法係包括投予該對象一有效量之：(a)如文中所述的 IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑。在某些具體實例中，文中所述的為於一有此需要的對象中治療癌症之方法，該方法係包括投予該對象一有效量之：(a)如文中所述的 IL-2 接合物，及(b)一或多個免疫檢查點抑制劑。

### 癌症類型

【0352】 文中所述的為於一對象中治療癌症之方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一有效量之文中所述的 IL-2 接合物。在某些文中所述的治療癌症方法之具體實例中，該對象中的癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)；頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、經典何杰金氏淋巴瘤(cHL)、原發性縱膈腔大 B 細胞淋巴瘤(PMBCL)、泌尿道上皮細胞癌、微小衛星體的不穩定性癌、微小衛星體的穩定性癌症、胃癌、子宮頸癌、肝細胞癌(HCC)、默克細胞癌(MCC)、黑色素瘤、小細胞肺癌(SCLC)、食道癌、食道鱗狀細胞癌(ESCC)、膠質母細胞瘤、間皮瘤、乳癌、三陰性乳癌、前列腺癌、去勢抗性前列腺癌、轉移性去勢抗性前列腺癌、或具有 DNA 損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢抗性前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低度突變負荷之腫瘤、皮膚鱗狀細胞癌(CSCC)、鱗狀細胞皮膚癌(SCSC)、低至無表現 PD-L1 之腫瘤、在其原發解剖起源位置以外全身性傳播至肝臟及 CNS 之腫瘤及瀰漫性大 B-細胞淋巴瘤。

【0353】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中的癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、泌尿道上皮細胞癌、黑色素瘤、肝細胞癌(HCC)、默克細胞癌(MCC)及頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)。在一具體實例中，此癌症為腎細胞癌(RCC)。在一具體實例中，此癌症為非小細胞肺癌(NSCLC)。在一具體實例中，此癌症為泌尿道上皮細胞癌。在一具體實例中，此癌症為黑色素瘤。在一具體實例中，此癌症為默克細胞癌(MCC)。在一具體實例中，此癌症為頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)。

【0354】 在某些具體實例中係提供文中所述的方法，其中此一或多種另外的藥劑係包括一或多個免疫檢查點抑制劑。



【0355】 在某些具體實例中，此一或多個免疫檢查點抑制劑係由下列組成之群中選出：PD-1 抑制劑、PD-L1 抑制劑、PD-L2 抑制劑、CTLA-4 抑制劑、OX40 促效劑和 4-1BB 促效劑。

【0356】 在某些具體實例中，此一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-1 抑制劑。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗、納武單抗、西普利單抗、派姆單抗(lambrolizumab)、AMP-224、信迪利單抗(sintilimab)、特瑞普利單抗(toripalimab)、卡瑞利珠單抗(camrelizumab)、替雷利珠單抗(tislelizumab)、dostarlimab(GSK)、PDR001(Novartis)、MGA012(Macrogenics/Incyte)、GLS-010 (Arcus/Wuxi)、AGEN2024 (Agenus)、西妥昔單抗(Janssen)、ABBV-181 (Abbvie)、AMG-404(Amgen)、BI-754091(Boehringer Ingelheim)、CC-90006 (Celgene)、JTX-4014(Jounce)、PF-06801591(Pfizer)及傑諾單抗(Apollomics/Genor BioPharma)。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為西普利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為派姆單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為一 MP-224。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為信迪利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為特瑞普利單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為卡瑞利珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-1 抑制劑為替雷利珠單抗。

【0357】 在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑係選自阿替珠單抗(atezolizumab)、阿維魯單抗(avelumab)及度伐魯單抗(durvalumab)、ASC22 (Alphamab/Ascletis)、CX-072 (Cytomx)、CS1001 (Cstone)、科西貝利單抗(Checkpoint Therapeutics)、INCB86550 (Incyte)及 TG-1501 (TG Therapeutics)。在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑為阿替珠單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑為阿維魯單抗。在某些具體實例中，此一或多個 PD-L1 抑制劑為度伐魯單抗。在某些具體實例中，此一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 CTLA-4 抑制劑。在某些具體實例中，此一或多個 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗、伊匹單抗及 AGEN-1884 (Agenus)。在

某些具體實例中，此一或多個 CTLA-4 抑制劑為替西木單抗。在某些具體實例中，此一或多個 CTLA-4 抑制劑為伊匹單抗。

【0358】 在某些具體實例中，此一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 CTLA-4 抑制劑。在某些具體實例中，此 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗和伊匹單抗。在某些具體實例中，此 CTLA-4 抑制劑為替西木單抗。在某些具體實例中，此 CTLA-4 抑制劑為伊匹單抗。

【0359】 在某些具體實例中，此癌症為實體腫瘤之形式。在某些具體實例中，此癌症為液體腫瘤之形式。

【0360】 在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係在投予該對象一或多種另外的藥劑之前，投予該對象。在某些具體實例中，此一或多種另外的藥劑係在投予該對象 IL-2 接合物之前，投予該對象。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物和此一或多種另外的藥劑係同時投予該對象。

【0361】 在某些具體實例中，此方法進一步包括除了一或多個免疫檢查點抑制劑之外，亦投予該對象一治療上有效量之一或多個血管內皮細胞生長因子(VEGF)路徑或哺乳動物雷帕黴素標靶(mammalian target of rapamycin)(mTOR)抑制劑。在某些具體實例中，係投予此對象一或多個 VEGF 路徑抑制劑。在某些具體實例中，此一或多個 VEGF 路徑抑制劑係由下列組成之群中選出：血管內皮細胞生長因子受體(VEGFR)酪胺酸激酶抑制劑(TKI)和抗-VEGF 單株抗體。在某些具體實例中，此一或多個 VEGF 路徑抑制劑係選自一或多個 VEGFR TKI。在某些具體實例中，此一或多個 VEGFR TKI 係由下列組成之群中選出：卡博替尼(cabozantinib)、阿昔替尼(axitinib)、帕唑帕尼(pazopanib)、索拉非尼(sunitinib)或舒尼替尼(sorafenib)。在某些具體實例中，此一或多個 VEGFR TKI 為卡博替尼。在某些具體實例中，此一或多個 VEGFR TKI 為阿昔替尼。在某些具體實例中，此一或多個 VEGFR TKI 為帕唑帕尼。在某些具體實例中，此一或多個 VEGFR TKI 為舒尼替尼。在某些具體實例中，其中此一或多個 VEGFR TKI 為索拉非尼。在某些具體實例中，此一或多個 VEGF 路徑抑制劑係選自一或多個抗-VEGF 單株抗體。在某些具體實例中，此一或多個抗-VEGF 單株抗體為貝伐珠單抗(bevacizumab)。

【0362】 在某些具體實例中，此一或多 mTOR 係制劑係由下列組成之群中選出：雷帕黴素(rapamycin)、依維莫司(everolimus)、替西羅莫司(temsirolimus)、ridaforolimus 及 deforolimus。在某些具體實例中，此一或多 mTOR 抑制劑為雷帕黴素。在某些具體實例中，此一或多 mTOR 抑制劑為依維莫司。在某些具體實例中，此一或多 mTOR 抑制劑為替西羅莫司。在某些具體實例中，此一或多 mTOR 抑制劑為 ridaforolimus。在某些具體實例中，此一或多 mTOR 抑制劑為 deforolimus。在某些具體實例中，該對象中的癌症為腎細胞癌(RCC)。

【0363】 在某些具體實例中，此方法進一步包括除了一或多個免疫檢查點抑制劑之外，亦投予該對象一治療上有效量之一或多個聚-ADP 核糖聚合酶(PARP)抑制劑。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑係由下列組成之群中選出：奧拉帕利(olaparib)、尼拉帕尼(niraparib)、魯卡帕尼(rucaparib)、他拉唑帕尼(talazoparib)、維利帕尼(veliparib)、CEP-9722 及 E7016。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑為奧拉帕利。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑為尼拉帕尼。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑為魯卡帕尼。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑為他拉唑帕尼。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑為維利帕尼。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑為 CEP-9722。在某些具體實例中，此 PARP 抑制劑為 E7016。

【0364】 在某些具體實例中，此方法進一步包括除了一或多個免疫檢查點抑制劑之外，亦投予該對象一治療上有效量之非類固醇抗雄性素化合物(NSAA)。在某些具體實例中，此 NSAA 為氟他胺(flutamide)、尼魯他胺(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、托米洛胺(topilutamide)、阿帕魯胺(apalutamide)或恩雜魯胺(enzalutamide)。在某些具體實例中，此 NSAA 為氟他胺。在某些具體實例中，此 NSAA 為尼魯他胺。在某些具體實例中，此 NSAA 為比卡魯胺。在某些具體實例中，此 NSAA 為托米洛胺。在某些具體實例中，此 NSAA 為阿帕魯胺。在某些具體實例中，此 NSAA 為恩雜魯胺。

【0365】 在某些具體實例中，此方法進一步包括除了一或多個免疫檢查點抑制劑之外，亦投予該對象一治療上有效量之一或多個聚-ADP 核糖聚合酶

(PARP)抑制劑和一非類固醇抗雄性素化合物(NSAA)，其中該 PARP 抑制劑和 NSAA 可獨立地選自該等上述之藥劑。

【0366】 在某些具體實例中，此一或多種另外的藥劑，除了一或多個免疫檢查點抑制劑之外，進一步係包括一或多個化療劑。在某些具體實例中，此一或多個化療劑係包括一或多種以鉑為基底的化療劑。在某些具體實例中，此一或多個化療劑係包括卡鉑和培美曲塞(pemetrexed)。在某些具體實例中，此一或多個化療劑係包括卡鉑和 nab-紫杉醇(nab-paclitaxel)。在某些具體實例中，此一或多個化療劑係包括卡鉑和多西紫杉醇(docetaxel)。在某些具體實例中，該對象中的癌症為非小細胞肺癌(NSCLC)。

【0367】 在某些具體實例中，此一或多種另外的藥劑為一或多個化療劑。在某些具體實例中，此一或多個化療劑係包括一或多個以鉑為基底的化療劑。在某些具體實例中，該對象在投予 IL-2 接合物和一或多種另外的藥劑之前，經檢測人類乳突病毒(HPV)為陽性。在某些具體實例中，該對象中的癌症為頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)。在某些具體實例中，此方法進一步包括該對象經檢測人類乳突病毒(HPV)為陽性(HPV+)，接著投予此 IL-2 接合物和一或多種另外的藥劑。

投予

【0368】 在某些具體實例中，在投予此 IL-2 接合物和一或多種另外的藥劑之後，該對象係經歷一藉由實體腫瘤反應評估標準(iRECIST)所測量之反應。

【0369】 在某些具體實例中，此反應為一完全反應、部分反應或穩定的疾病。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係藉由靜脈內、皮下、肌肉內、腦內、鼻內、動脈內、皮內、眼內、骨內輸注、腹膜內或鞘內給藥，投予該對象。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係藉由靜脈內、皮下或肌肉內給藥，投予一對象。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係藉由靜脈內給藥，投予一對象。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係藉由皮下給藥，投予一對象。在某些具體實例中，此 IL-2 接合物係藉由肌肉內給藥，投予一對象。

【0370】 在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每週一次，每二週一次，每三週一次，每 4 週一次，每 5 週一次，每 6 週一次，每 7 週一次，

每 8 週一次，每 9 週一次，每 10 週一次，每 11 週一次，每 12 週一次，每 13 週一次，每 14 週一次，每 15 週一次，每 16 週一次，每 17 週一次，每 18 週一次，每 19 週一次，每 20 週一次，每 21 週一次，每 22 週一次，每 23 週一次，每 24 週一次，每 25 週一次，每 26 週一次，每 27 週一次或每 28 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每二週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每三週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 4 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 5 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 6 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 7 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 8 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 9 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 10 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 11 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 12 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 13 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 14 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 15 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 16 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 17 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 18 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 19 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 20 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 21 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 22 週一次投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 23 週一次

投予一有此需要的對象。在某些具體實例中，一有效量之 IL-2 接合物係每 24 週一次投予一有此需要的對象。

**【0371】** 在某些具體實例中，對應此量之特定藥物的量係依照例如特定的化合物、疾病嚴重度、需要治療之患者或宿主的特質(例如，體重)之因素而變，但儘管如此例行上係以本項技術中已知的方法，根據該案例特定的相關情況來決定，其包括，例如，所投予的特定藥劑、給藥途徑及所治療的對象或宿主。在某些情況下，所欲的劑量方便地係以單一劑量存在，或為同時(或於一段短時間內)或以適當間隔給藥的分開劑量，例如每天二、三、四或更多個的亞劑量。

**【0372】** 在某些具體實例中，此等方法係包括將 IL-2 接合物以下列範圍內的劑量投予一有此需要的對象：從每公斤之該對象體重 1  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至約每公斤之該對象體重 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 2  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 4  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 6  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 8  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 10  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 12  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 14  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 16  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 18  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 20  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 22  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 24  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 26  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 28  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重



接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 180  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，或從每公斤之該對象體重約 190  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物至每公斤之該對象體重約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物。前述範圍僅為建議性，因為就個別治療療法而言變量大且這些建議值之可觀的偏差並非不常見。此等劑量係依照許多變數而變，不限於所用的化合物活性、所治療的疾病或症狀、給藥模式、個別對象之需求、所治療之疾病或症狀的嚴重度及執業醫師的判斷。在某些具體實例中，此等療法之毒性和治療效用係藉由標準醫藥程序以細胞培養或實驗動物來測定，其包括，但不限於測定 LD50(50%群族之致死劑量)和 ED50 (50%群族之治療上有效劑量)。毒性和治療效用之間的劑量比率為治療指數且係以 LD50 和 ED50 之間的比率來表示。展現高治療指數的化合物為較佳的。使用從細胞培養所得到的數據調配一範圍內的劑量供用於人類。此等化合物的劑量較佳地係在包括具有最小毒性之 ED50 的循環濃度範圍內。依照所用的劑型和所用的給藥途徑，劑量係在此範圍內變化。

**【0373】** 在某些具體實例中，此等方法係包括將 IL-2 接合物以下列劑量投予一有此需要的對象：每公斤之該對象體重約 1  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物或每公斤之該對象體重約 2  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 4  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 6  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 8  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 10  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 12  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 14  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 16  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 18  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 20  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 22  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 24  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 26  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 28  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 30  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 32  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 34  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 36  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 38  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 40  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 42  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 44  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，



每公斤之該對象體重約 46  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 48  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 50  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 55  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 60  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 65  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 70  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 75  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 80  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 85  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 90  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 95  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 100  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 110  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 120  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 130  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 140  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 150  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 160  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 170  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 180  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物，每公斤之該對象體重約 190  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物或約 200  $\mu\text{g}$  的 IL-2 接合物。前述範圍僅為建議性，因為就個別治療療法而言變量大且這些建議值之可觀的偏差並非不常見。此等劑量係依照許多變數而變，不限於所用的化合物活性、所治療的疾病或症狀、給藥模式、個別對象之需求、所治療之疾病或症狀的嚴重度及執業醫師的判斷。在某些具體實例中，此等療法之毒性和治療效用係藉由標準醫藥程序以細胞培養或實驗動物來測定，其包括，但不限於測定 LD50(50%群族之致死劑量)和 ED50(50%群族之治療上有效劑量)。毒性和治療效用之間的劑量比率為治療指數且係以 LD50 和 ED50 之間的比率來表示。展現高治療指數的化合物為較佳的。使用從細胞培養所得到的數據調配一範圍內的劑量供用於人類。此等化合物的劑量較佳地係在包括具有最小毒性之 ED50 的循環濃度範圍內。依照所用的劑型和所用的給藥途徑，劑量係在此範圍內變化。

**【0374】** 在某些具體實例中，另外的藥劑可以一劑量並使用經測定該另外的藥劑為安全及有效之劑量療法來給藥。例如，帕博利珠單抗可根據文中所述的方法以每 3 週約 200 mg 之劑量投予一有此需要的對象。在另外的實例中，納武單抗可根據文中所述的方法以每 2 週約 240 mg 或每 4 週約 480 mg 之劑量投予一有此需要的對象。在另外的實例中，西普利單抗可根據文中所

述的方法以每3週約350 mg劑量的靜脈內輸液於30分鐘期間投予一有此需要的對象。在另外的實例中，阿替珠單抗可根據文中所述的方法以每2週840 mg，每3週1200 mg或每4週1680 mg之劑量投予一對象。在另外的實例中，阿維魯單抗可根據文中所述的方法以之每2週800 mg之劑量投予一對象。在另外的實例中，度伐魯單抗可根據文中所述的方法以每2週每公斤之該對象體重10 mg之劑量投予一對象。在另外的實例中，依匹單抗可根據文中所述的方法以每3週每公斤之該對象體重約3 mg之劑量於90分鐘期間總計4個劑量，或每公斤之該對象體重約10 mg於90分鐘期間總計4個劑量，接著每公斤之該對象體重10 mg進行至高3年，投予一對象供治療黑色素瘤。對於晚期腎細胞癌，依匹單抗可根據文中所述的方法以每公斤之該對象體重1 mg之劑量於30分鐘期間給藥。

**【0375】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不需要有可取得的重症照護設施或熟習心肺或重症加護醫療之專家。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不需要有可取得的重症照護設施或熟習心肺或重症加護醫療之專家。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不需要有可取得的重症照護設施。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不需要有可取得的熟習心肺或重症加護醫療之專家。

#### 投予效果

**【0376】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不會在該對象中造成血管滲漏症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不會在該對象中造成2級、3級或4級血管滲漏症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不會在該對象中造成2級血管滲漏症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不會在該對象中造成3級血管滲漏症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的IL-2接合物不會在該對象中造成4級血管滲漏症候群。

【0377】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成血管緊張性喪失。

【0378】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成血漿蛋白外滲和體液進入血管外空隙。

【0379】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成低血壓和降低器官灌注。

【0380】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成嗜中性白血球功能障礙。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成趨化性降低。

【0381】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物與該對象中播散性感染風險增加無關。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，此播散性感染為敗血症或細菌性心內膜炎。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，此播散性感染為敗血症。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，此播散性感染為細菌性心內膜炎。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象在投予 IL-2 接合物之前係進行先前存在的細菌性感染之治療。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象在投予 IL-2 接合物之前係以選自苯唑青黴素(oxacillin)、萘夫西林(nafcillin)、環丙沙星(ciprofloxacin)及萬古黴素(vancomycin)之抗細菌劑治療。

【0382】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會使該對象中先前存在的或初期表現的自體免疫疾病或發炎病症惡化。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會使該對象中先前存在的或初期表現的自體免疫疾病惡化。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在使該對象中先前存在的或初期表現的發炎病症惡化。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症係選自克隆氏症、硬皮病、甲狀腺炎、發炎性關節炎、糖尿病、眼-延髓

重肌無力症、急進性 IgA 腎小球腎炎、膽囊炎、腦血管炎、史蒂芬強森症候群(Stevens-Johnson syndrome)和大皰性類天皰瘡。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為克隆氏症。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為硬皮病。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為甲狀腺炎。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為發炎性關節炎。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為糖尿病。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為眼-延髓重肌無力症。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為急進性 IgA 腎小球腎炎。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為膽囊炎。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為腦血管炎。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為史蒂芬強森症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為大皰性類天皰瘡。

**【0383】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成精神狀態改變、說話困難、皮質盲(cortical blindness)、四肢或步態共濟失調、幻覺、激動、感覺遲鈍或昏迷。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成痙攣。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於具有已知痙攣病症之對象不會有禁忌。

**【0384】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成毛細血管滲透症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 2 級、3 級或 4 級的毛細血管滲透症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 2 級的毛細血管滲透症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例

中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 3 級或的毛細血管滲透症候群。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 4 級的毛細血管滲透症候群。

**【0385】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在該對象中造成平均動脈血壓下降。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在該對象中造成低血壓。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在使對象的收縮壓低於 90 mm Hg 或與基線收縮壓相比下降 20 mm Hg。

**【0386】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在該對象中造成貧血。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在該對象中造成腎功能或肝功能障礙。

**【0387】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在該對象中造成嗜酸性白血球增多。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  500 個。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  500 個至每  $\mu\text{L}$  1500 個。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  1500 個至每  $\mu\text{L}$  5000 個。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  5000 個。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在進行精神性藥物之療法的對象不會有禁忌。

【0388】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在進行腎毒性、骨髓毒性、心毒性或肝毒性藥物之療法的對象不會有禁忌。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在進行胺基糖苷、細胞毒性化療、多柔比星(doxorubicin)、甲胺喋呤或天門冬醯胺酸酶之療法的對象不會有禁忌。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在接受含有抗腫瘤劑之組合療法的對象不會有禁忌。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，此抗腫瘤劑係選自達卡巴仁(dacarbazine)、順鉑(cis-platinum)、泰莫西芬(tamoxifen)和干擾素- $\alpha$ 。

【0389】 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在該對象中造成一或多件 4 級不良事件。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該一或多件 4 級不良事件係選自體溫過低；休克；心跳過慢；室性期外收縮；心肌缺氧；昏厥；出血；心房節律不整；靜脈炎；第二型房室傳導阻滯；心內膜炎；心包膜積水；外周性壞疽；栓塞；冠狀動脈疾病；口腔炎；噁心和嘔吐；肝功能檢測異常；胃腸道出血；吐血；血痢；腸胃病；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血液尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；呼吸性酸中毒；嗜睡；激動；神經病變；偏執反應；抽搐；大發作抽搐；譫妄；氣喘、肺水腫；過度換氣；缺氧；咳血；換氣不足；氣胸；瞳孔散大；瞳孔病症；腎功能異常；腎衰竭；和急性腎小管壞死。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予一群對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在大於 1% 之該對象中造成一或多件 4 級不良事件。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，該一或多種 4 級不良事件係選自體溫過低；休克；心跳過慢；室性期外收縮；心肌缺氧；昏厥；出血；心房節律不整；靜脈炎；第二型房室傳導阻滯；心內膜炎；心包膜積水；外周性壞疽；栓塞；冠狀動脈疾病；口腔炎；噁心和嘔吐；肝功能檢測異常；胃腸道出血；吐血；血痢；腸胃病；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血液尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；

呼吸性酸中毒；嗜睡；激動；神經病變；偏執反應；抽搐；大發作抽搐；譫妄；氣喘、肺水腫；過度換氣；缺氧；咳血；換氣不足；氣胸；瞳孔散大；瞳孔病症；腎功能異常；腎衰竭；和急性腎小管壞死。

**【0390】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予一群對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在大於 1% 之該對象中造成一或多件不良事件，其中該一或多件不良事件係選自十二指腸潰瘍；腸壞死；心肌炎；室上性心搏過速；視神經炎後續發的永久性或暫時性失明；暫時性腦缺血；腦膜炎；腦水腫；心包膜炎；過敏性間質性腎炎；和氣管食道瘻管。

**【0391】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予一群對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該對象後，不會在大於 1% 之該對象中造成一或多件不良事件，其中該一或多件不良事件係選自惡性高熱；心臟停搏；心肌梗塞；肺動脈栓塞；中風；腸穿孔；肝或腎衰竭；嚴重憂鬱導致自殺；肺水腫；呼吸停止；呼吸衰竭。

**【0392】** 在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象 IL-2 接合物，在無增加該對象中週邊 CD4+ 調節 T 細胞下，增加了該對象中週邊 CD8+ T 和 NK 細胞之數目。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象 IL-2 接合物，在無增加該對象中週邊嗜酸性白血球數目下，增加了該對象中週邊 CD8+ T 和 NK 細胞之數目。在文中所述的治療癌症方法之某些具體實例中，投予該對象 IL-2 接合物，在無增加該對象中腫瘤內 CD4+ 調節 T 細胞數目下，增加了該對象中腫瘤內 CD8+ T 和 NK 細胞之數目。

### **醫藥組成物和調配物**

**【0393】** 文中所述的為包括一有效量之文中所述的 IL-2 接合物和一或多種醫藥上可接受賦形劑之醫藥組成物。

**【0394】** 在某些具體實例中，包括文中所述的細胞激素接合物(例如，IL-2 接合物)之醫藥組成物和調配物係藉由多種給藥途徑投予一對象，其係包括，但不限於非經腸、口服、頰內、直腸、舌下或經皮給藥途徑。在某些情況下，非經腸給藥係包括靜脈內、皮下、肌肉內、腦內、鼻內、動脈內、關節內、皮內、眼內、骨內輸注、腹膜內或鞘內給藥。在某些情況下，此醫藥

組成物係經調配供局部給藥。在其他的情形下，此醫藥組成物係經調配供全身給藥。在某些具體實例中，文中所述的醫藥組成物和調配物係藉由靜脈內、皮下和肌肉內給藥來投予。在某些具體實例中，文中所述的醫藥組成物和調配物係藉由靜脈內給藥投予一對象。在某些具體實例中，文中所述的醫藥組成物和調配物係藉由給藥投予一對象。在某些具體實例中，文中所述的醫藥組成物和調配物係藉由肌肉內給藥投予一對象。

【0395】 在某些具體實例中，此醫藥調配物係包括，但不限水性液體分散液、自乳化分散液、固體溶液、脂質體分散液、氣霧、固體劑型、散劑、立即釋放調配物、控制釋放調配物、快速融化調配物、錠劑、膠囊、藥片、延遲釋放調配物、延長釋放調配物、脈衝式釋放調配物、多顆粒調配物(例如，奈粒子調配物)及混合的立即和控制釋放調配物。

【0396】 在某些具體實例中，醫藥調配物係包括以與文中所揭示的組成物之相容性及所欲的劑型之釋放樣態性質為基礎所選擇之載劑或載劑物質。例示的載劑物質包括，例如，黏合劑、懸浮劑、崩解劑、填充劑、界面活性劑、增溶劑、安定劑、潤滑劑、濕潤劑、稀釋劑及諸如此類。醫藥上相容的載劑物質包括，但不限阿拉伯膠、明膠、膠體二氧化矽、甘油磷酸鈣、乳酸鈣、麥芽糊精、甘油、矽酸鎂、聚乙烯吡咯酮(PVP)、膽固醇、膽固醇酯、酪蛋白鈉、大豆卵磷脂、牛磺膽酸、磷脂醯膽鹼、氯化鈉、磷酸三鈣、磷酸氫二鉀、纖維素和纖維素接合物、糖類、硬脂醯乳醯乳酸鈉、鹿角菜膠、單甘油酯、二甘油酯、預明膠化澱粉及諸如此類。參見，例如，*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Nineteenth Ed (Easton, Pa. : Mack Publishing Company, 1995), Hoover, John E., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975, Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980 及 *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999)，其各自之揭示文係以引用的方式併入本文中。

【0397】 在某些情況下，此醫藥組成物係調配成免疫脂質體，其係包括多數個直接或間接與脂質體的脂質雙層鍵結之 IL-2 接合物。例示的脂質包括，



但不限於脂肪酸；磷脂；固醇類，例如膽固醇；鞘脂，例如神經鞘磷脂(sphingomyelin)；鞘糖脂(glycosphingolipid)，例如神經節甘脂(ganglioside)、紅細胞糖苷脂(globocide)及腦脂糖苷(cerebroside)；界面活性劑胺類，例如硬脂基、油基及亞麻基(linoleyl)胺。在某些情形下，此脂質係包括陽離子脂質。在某些情形下，此脂質係包括磷脂。例示的磷脂包括，但不限，磷脂酸(phosphatidic acid)(「PA」)、磷脂醯膽鹼(phosphatidylcholine)(「PC」)、磷脂醯甘油(phosphatidylglycerol)(「PG」)、磷脂醯乙醇胺(phosphatidylethanolamine)(「PE」)、磷脂醯肌醇(phosphatidylinositol)(「PI」)及磷脂醯絲胺酸(phosphatidylserine)(「PS」)、神經鞘磷脂(包括腦神經鞘磷脂)、卵磷脂(lecithin)、溶血卵磷脂(lysolecithin)、溶血磷脂醯乙醇胺(lysophosphatidylethanolamine)、腦脂糖苷、二花生醯基磷脂醯膽鹼(diarachidoylphosphatidylcholine)(「DAPC」)、二癸醯基-L- $\alpha$ -磷脂醯膽鹼(「DDPC」)、二反油醯基磷脂醯膽鹼(「DEPC」)、二月桂醯基磷脂醯膽鹼(「DLPC」)、二亞麻醯基磷脂醯膽鹼、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(「DMPC」)、二油醯基磷脂醯膽鹼(「DOPC」)、二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼(「DPPC」)、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(「DSPC」)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-磷脂醯膽鹼(「POPC」)、二花生醯基磷脂醯甘油(「DAPG」)、二癸醯基-L- $\alpha$ -磷脂醯甘油(「DDPG」)、二反油醯基磷脂醯甘油(「DEPG」)、二月桂醯基磷脂醯甘油(「DLPG」)、二亞麻醯基磷脂醯甘油、二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油(「DMPG」)、二油醯基磷脂醯甘油(「DOPG」)、二棕櫚醯基磷脂醯甘油(「DPPG」)、二硬脂醯基磷脂醯甘油(「DSPG」)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-磷脂醯甘油(「POPG」)、二花生醯基磷脂醯乙醇胺(「DAPE」)、二癸醯基-L- $\alpha$ -磷脂醯乙醇胺(「DDPE」)、二反油醯基磷脂醯乙醇胺(「DEPE」)、二月桂醯基磷脂醯乙醇胺(「DLPE」)、二亞麻醯基磷脂醯乙醇胺、二肉豆蔻醯基磷脂醯乙醇胺(「DMPE」)、二油醯基磷脂醯乙醇胺(「DOPE」)、二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺(「DPPE」)、二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺(「DSPE」)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺(「POPE」)、二花生醯基磷脂醯肌醇(「DAPI」)、二癸醯基-L- $\alpha$ -磷脂醯肌醇(「DDPI」)、二反油醯基磷脂醯肌醇(「DEPI」)、二月桂醯基磷脂醯肌醇(「DLPI」)、二亞麻醯基磷脂醯肌醇、二肉豆蔻醯基磷脂醯肌醇(「DMPI」)、二油醯基磷脂醯肌醇(「DOPI」)、二棕櫚醯基磷脂醯肌醇(「DPPI」)、二硬脂醯基磷脂醯肌醇

(「DSPI」)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-磷脂醯肌醇(「POPI」)、二花生醯基磷脂醯絲胺酸(「DAPS」)、二癸醯基-L- $\alpha$ -磷脂醯絲胺酸(「DDPS」)、二反油醯基磷脂醯絲胺酸(「DEPS」)、二月桂醯基磷脂醯絲胺酸(「DLPS」)、二亞麻醯基磷脂醯絲胺酸、二肉豆蔻醯基磷脂醯絲胺酸(「DMPS」)、二油醯基磷脂醯絲胺酸(「DOPS」)、二棕櫚醯基磷脂醯絲胺酸(「DPPS」)、二硬脂醯基磷脂醯絲胺酸(「DSPS」)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-磷脂醯絲胺酸(「POPS」)、二花生醯基神經鞘磷脂、二癸醯基神經鞘磷脂、二反油醯基神經鞘磷脂、二月桂醯基神經鞘磷脂、二亞麻醯基神經鞘磷脂、二肉豆蔻醯基神經鞘磷脂、神經鞘磷脂、二油醯基神經鞘磷脂、二棕櫚醯基神經鞘磷脂、二硬脂醯基神經鞘磷脂及 1-棕櫚醯基-2-油醯基-神經鞘磷脂。

**【0398】** 在某些情況下，醫藥調配物進一步係包括 pH 調節劑或緩衝劑，其係包括酸類，例如乙酸、硼酸、檸檬酸、乳酸、磷酸和氫氟酸，鹼類，例如氫氧化鈉、磷酸鈉、硼酸鈉、檸檬酸鈉、乙酸鈉、乳酸鈉和叁-羥甲基胺基甲烷，以及緩衝劑，例如檸檬酸鹽/右旋糖、碳酸氫鈉和氯化銨。此等酸類、鹼類和緩衝劑係以將組成物之 pH 維持在一可接受範圍的需求量納入。

**【0399】** 在某些情況下，醫藥調配物係包括一或多種將組成物之滲透壓帶至一可接受範圍所需之量的鹽類。此等鹽類包括該等具有鈉、鉀或銨陽離子和氯、檸檬酸根、抗壞血酸根、硼酸根、碳酸氫根、硫酸根、硫代硫酸根或重亞硫酸根陰離子，適合的鹽類包括氯化鈉、氯化鉀、硫代硫酸鈉、硫酸氫鈉和硫酸銨。

**【0400】** 在某些具體實例中，醫藥調配物係包括，但不限糖類，如海藻糖、蔗糖、甘露糖、葡萄糖，或鹽類如磷酸鉀、檸檬酸鈉、硫酸銨及/或其他試劑，例如用於增加溶解度和活體內多肽安定性之肝素。

**【0401】** 在某些情形下，醫藥調配物進一步係包括用於溶解化合物的稀釋劑，因為其可提供更穩定的環境。溶於緩衝溶液中的鹽類(亦可提供 pH 控制和維持)在本項技術中係用作為稀釋劑，其係包括，但不限於，磷酸鹽緩衝溶液。在特定的情形下，稀釋劑係增加組成物的體積，用以幫助壓製或創造足夠的體積供均勻混合進行膠囊充填。此等化合物可包括例如，乳糖、澱粉、甘露醇、山梨醇、右旋糖、微晶纖維素例如 Avicel<sup>®</sup>、磷酸氫鈣、磷酸氫二鈣

水合物、磷酸三鈣、磷酸鈣、無水乳糖、噴霧乾燥乳糖、預明膠化澱粉、可壓縮糖例如 Di-Pac<sup>®</sup> (Amstar)、甘露醇、羥丙基甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素乙酸硬脂酸鹽、蔗糖為基底稀釋劑、糖粉、硫酸氫鈣單水合物、硫酸鈣二水合物、乳酸鈣三水合物、葡聚糖(dextrate)、水解穀類固形物、直鏈澱粉、粉狀纖維素、碳酸鈣、甘油、高嶺土、甘露醇、氯化鈉、肌醇、膨潤土及其諸如此類。在某些具體實例中，文中所述的 IL-2 接合物可用於包括組胺酸、山梨醇和聚山梨醇酯 80 之醫藥調配物或任何可提供一穩定調配物的組合中並且可投予有此需要的對象。在一具體實例中，文中所述的 IL-2 接合物可以完成的藥物產品存在適合的容器，例如小瓶中，如下：IL-2 接合物(約 2 mg 至約 10 mg)；L-組胺酸(約 0.5 mg 至約 2 mg)；L-組胺酸鹽酸鹽(約 1 mg 至約 2 mg)；山梨醇(約 20 mg 至約 80 mg)；和聚山梨醇酯 80(約 0.1 mg 至約 0.2 mg)；與一足量的注射用水，提供一適合用於所揭示方法中的液體調配物。

**【0402】** 在某些情況下，醫藥調配物係包括崩解劑用以幫助破壞或崩解物質。術語「崩解」係包括當與胃腸液接觸時溶解和分散劑型。崩解劑的實例包括澱粉，例如，天然的澱粉，如玉米澱粉或馬鈴薯澱粉，預明膠化澱粉，例如 National 1551 或 Amijel<sup>®</sup>，或甘醇酸澱粉鈉，例如 Promogel<sup>®</sup>或 Explotab<sup>®</sup>，纖維素，例如木材產物、甲基晶體纖維素，例如，Avicel<sup>®</sup>、Avicel<sup>®</sup> PH101、Avicel<sup>®</sup> PH102、Avicel<sup>®</sup> PH105、Elcema<sup>®</sup> P100、Emcocel<sup>®</sup>、Vivacel<sup>®</sup>、Ming Tia<sup>®</sup>及 Solka-Floc<sup>®</sup>、甲基纖維素、交聯羧甲基纖維素(croscarmellose)或交聯纖維素，例如交聯羧甲基纖維素鈉(Ac-Di-Sol<sup>®</sup>)、交聯羧甲基纖維素或交聯羧甲基纖維素、交聯澱粉，例如甘醇酸澱粉鈉、交聯聚合物，例如聚維酮(crospovidone)、交聯聚乙烯吡咯酮，海藻酸鹽，例如海藻酸或海藻酸之鹽，如海藻酸鈉，黏土，例如 Veegum<sup>®</sup> HV(矽酸鎂鋁)、膠，例如瓊脂、關華豆膠、刺槐豆膠、卡拉膠(Karaya)、果膠或鹿角菜膠、甘醇酸澱粉鈉、膨潤土、天然海棉、界面活性劑、樹脂例如陽離子交換樹脂，柑橘渣、月桂基硫酸鈉、月桂基硫酸鈉與澱粉之組合及諸如此類。

**【0403】** 在某些情形下，醫藥調配物係包括填充劑，例如乳糖、碳酸鈣、磷酸鈣、磷酸氫鈣、硫酸鈣、微晶纖維素、纖維素、纖維素粉末、右旋糖、

葡聚糖、右旋糖酐、澱粉、預明膠化澱粉、蔗糖、木糖醇、乳糖醇、甘露醇、山梨醇、氯化鈉、聚乙二醇及諸如此類。

**【0404】** 潤滑劑和助流劑亦視需要包括在文中所述的醫藥調配物中供防止、降低或抑制物質之黏附或磨擦。例示的潤滑劑包括，例如，硬脂酸、氫氧化鈣、硬脂醯延胡索酸鈉，碳水化合物例如礦物油或氫化植物油，例如氫化大豆油(Sterotex<sup>®</sup>)、高級脂肪酸及其鹼金屬和鹼土金屬鹽類，例如鋁鹽、鈣鹽、鎂鹽、鋅鹽、硬脂酸、硬脂酸鈉、甘油、滑石、蠟、Stearowet<sup>®</sup>、硼酸、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉、白胺酸、聚乙二醇(例如，PEG-4000)或甲氧基聚乙二醇，例如 Carbowax<sup>™</sup>、油酸鈉、苯甲酸鈉、山萆酸甘油酯、聚乙二醇、月桂基硫酸鎂或鈉、膠體氧化矽，例如 Syloid<sup>™</sup>、Cab-O-Sil<sup>®</sup>、澱粉例如玉米澱粉、矽油、界面活性劑及諸如此類。

**【0405】** 塑化劑包括用於軟化微膠化物質或薄膜塗層，使其較不具脆性之物質。適合的塑化劑包括，例如，聚乙二醇，如 PEG 300、PEG 400、PEG 600、PEG 1450、PEG 3350 和 PEG 800，硬脂酸、丙二醇、油酸、三乙基纖維素和三乙酸甘油酯。塑化劑亦可用作為分散劑或濕潤劑。

**【0406】** 增溶劑包括例如三乙酸甘油酯、三乙基檸檬酸酯、油酸乙酯、辛酸乙酯、月桂基硫酸鈉、多庫酯鈉(sodium docusate)、維生素 E TPGS、二甲基乙醯胺、N-甲基吡咯酮、N-羥乙基吡咯酮、聚乙烯吡咯酮、羥丙基甲基纖維素、羥丙基環狀糊精、乙醇、正丁醇、異丙醇、膽固醇、膽鹽、聚乙二醇 200-600、四氫呋喃聚乙二醇醚(glycofurol)、二乙二醇單乙基醚(transcutol)、丙二醇和二甲基異山梨酯及諸如此類之化合物。

**【0407】** 安定劑包括，例如任何抗氧化劑、緩衝劑、酸、防腐劑及諸如此類之化合物。例示的安定劑包括 L-精胺酸鹽酸鹽、胺丁三醇(tromethamine)、白蛋白(人類)、檸檬酸、苯甲醇、酚、磷酸氫二鈉無水合物、丙二醇、間甲酚、乙酸鋅、聚山梨醇酯-20 或 Tween<sup>®</sup> 20，或胺丁三醇(trometamol)。

**【0408】** 懸浮劑包括，例如聚乙烯吡咯酮，例如，聚乙烯吡咯酮 K12、聚乙烯吡咯酮 K17、聚乙烯吡咯酮 K25 或聚乙烯吡咯酮 K30、乙炔吡咯酮/乙炔乙酸酯共聚物(S630)、聚乙二醇，例如，此聚乙二醇可具有約 300 至約 6000 或約 3350 至約 4000 或約 7000 至約 5400 之分子量，羧甲基纖維素鈉、甲基纖

維素鈉、羥丙基甲基纖維素、羥甲基纖維素乙酸硬脂酸酯、聚山梨醇酯-80、羥乙基纖維素、海藻酸鈉、膠，例如鹿角菜膠和阿拉伯膠、瓊脂膠、黃原膠，包括黃原膠、糖類、纖維素，例如，羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉、羥丙基甲基纖維素、羥乙基纖維素、聚山梨醇酯-80、海藻酸鈉、聚乙氧基化山梨醇酐單月桂酸酯、聚乙氧基化山梨醇酐單月桂酸酯、普維酮 (povidone) 及諸如此類之化合物。

【0409】 界面活性劑包括，例如月桂基硫酸鎂或鈉、多庫酯鈉、聚山梨醇酯(Tween) 60 或 80、三乙酸甘油酯、維生素 E TPGS、山梨醇酐單月油酸酯、聚氧乙烯山梨醇酐單月油酸酯、聚山梨醇酯、伯洛沙姆(polaxomers)、膽鹽、甘油單硬脂酸酯、氧化乙烯和氧化丙烯共聚物，例如，Pluronic<sup>®</sup>(BASF)之化合物及諸如此類。另外的介面活性劑包括聚氧乙烯脂肪酸甘油酯和植物油，例如，聚氧乙烯(60)氫化蓖麻油及聚氧乙烯烷基醚和烷基苯基醚，例如，辛基酚聚醚(octoxynol)10、辛基酚聚醚 40。有時候，係包括界面活性劑用以增進物理定性或用於其他目的。

【0410】 增黏劑包括，例如，甲基纖維素、黃原膠、羧甲基纖維素、羥丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素乙酸硬脂酸酯、羥丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯、卡波姆(carbomer)、聚乙烯醇、海藻酸鹽、阿拉伯膠、幾丁聚醣及其組合物。

【0411】 濕潤劑包括，例如，油酸、單硬脂酸甘油酯、單油酸山梨醇酐酯、單月桂酸山梨醇酐酯、三乙醇胺油酸酯、聚氧乙烯單油酸山梨醇酐酯、聚氧乙烯單月桂酸山梨醇酐酯、多庫酸酯鈉、油酸鈉、月桂基硫酸鈉、多庫酸酯鈉、三乙酸甘油酯、聚山梨醇酯 80、維生素 E TPGS、鉍鹽及諸如此類之化合物。

【0412】 在某些情況下，一包括 IL-2 接合物(例如該等式(I-XVII))和一免疫檢查點抑制劑之醫藥組成物係以包括二種藥物之調配物來給藥。在某些情況下，IL-2 接合物與免疫檢查點抑制劑之重量百分比或反之亦然係介於 10:1 至 1:10。在某些情況下，的 IL-2 接合物與免疫檢查點抑制劑之重量百分比或反之亦然係介於 7:1 至 1:2。在某些情況下，IL-2 接合物與免疫檢查點抑制劑之重量百分比或反之亦然係介於 5:1 至 1:5。在某些情況下，IL-2 接合

物與免疫檢查點抑制劑之重量百分比或反之亦然係介於 3:1 至 1:3。在某些情況下，IL-2 接合物與免疫檢查點抑制劑之重量百分比或反之亦然為約 10:1 或約 9:1，約 8:1，約 7:1，約 6:1，約 5:1，約 4:1，約 3:1，約 2:1 或約 1:1。在某些情況下，IL-2 接合物與免疫檢查點抑制劑之重量百分比或反之亦然為 10:1 至 1:1，7:1 至 2:1，5:1 至 1:1，或 3:1 至 1:1。

**【0413】** 在特定的具體實例中，免疫檢查點抑制劑(例如 PD-1 抑制劑)和文中所述的 IL-2 接合物(例如該等式(I-XVII))之組合係以純化合物投予。在另外的具體實例中，免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物之組合物係與醫藥上適合或可接受載劑(在文中亦稱為醫藥上適合(或可接受)賦形劑，生理上適合(或可接受)賦形劑，或生理上適合(或可接受)載劑)組合，而該載劑係以所選的給藥途徑及，例如 *Remington : The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro, 21<sup>st</sup> Ed. Mack Pub. Co., Easton, PA (2005) 中所述的標準醫藥施行為基準所選擇，該揭示係以引用的方式併入本文中)。在某些具體實例中，免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物係以個別的組成物投予。在某些具體實例中，免疫檢查點抑制劑及/或文中所述的 IL-2 接合物之個別的組成物係與適合(或可接受)賦形劑組合。在某些具體實例中，免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物係以單一、組合的組成物投予。

**【0414】** 文中所提供的為包括 IL-2 接合物文中所述的及免疫檢查點抑制劑與一或多種醫藥可接受載劑之醫藥組成物。若該載劑與組成物的其他成份為相容的且對接受者(亦即該對象或病患)為無害的，則該載劑(或賦形劑)為可接受或適合的。在特定的具體實例中，免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物為實質上純的，其中其係含有低於約 5%，或低於約 1%，或低於約 0.1% 的其他有機小分子，例如在合成方法的一或多個步驟中所產生的未反應中間物或合成副產物。在某些情況下，此醫藥組成物係包括一免疫檢查點抑制劑和一文中所述的 IL-2 接合物及一或多種醫藥上可接受賦形劑。在某些情況下，包括免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物或其組合之醫藥組成物係包括(以非限定實例而言)賦形劑，例如 0.9%氯化鈉注射 USP、無水乙醇、*dl*- $\alpha$ 生育醇、無水檸檬酸、聚山梨醇酯 80、聚乙二醇 400、丙二醇、苯甲醇、檸檬酸鈉、亞硫酸鈉、聚氧乙烯蓖麻油(cremophor)EL、白蛋白或其任何組合。

在某些情況下，此醫藥組成物係包括奈粒子。在某些情況下，此醫藥組成物係包括常用於可注射組成物中的其他賦形劑。在某些情況下，此醫藥組成物係包括一顯影劑用以幫助可視化此醫藥組成物之遞送。在某些情況下，此醫藥組成物係包括液體、溶液或凝膠。在某些情況下，包括免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物或其組合之醫藥組成物為可注射的。在某些情況下，此醫藥組成物係包括溶解免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物或其組合之賦形劑。在另外的具體實例中，包括免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物之醫藥組成物係以非經腸給藥的劑型來提供，其係包括一或多種醫藥上可接受賦形劑或載劑。在某些情況下，包括免疫檢查點抑制劑和文中所述的 IL-2 接合物或其組合之醫藥組成物為可注射的。當醫藥組成物調配成供靜脈內、皮膚或皮下注射時，活性成份為無熱原且具有適合的 pH、等張性及穩定性之非經腸可接受水性溶液的形式。熟習本項技術之相關技術者使用，例如等張媒劑，例如氯化鈉注射液、林格氏(Ringer's)注射液或乳酸化林格氏注射液，能充分製備適合的溶液。在某些具體實例中，係包括防腐劑、增溶劑、賦形劑、緩衝劑、抗氧化劑及/或其他添加劑。

### 製造套組/製品

**【0415】** 在特定的具體實例中，文中所揭示的為與一或多種文中所述的方法和組成物一起使用之套組和製品。此等套組係包括分隔用以接收一或多種容器，例如小瓶、試管及諸如此類之載體、包裝或容器，各容器係包括其中一種用於文中所述之方法中的分開元件。適合的容器包括，例如瓶子、小瓶及試管。在一具體實例中，此等容器係由各種物質，例如玻璃或塑膠所形成。

**【0416】** 套組典型地係包括列出內容物之標籤及/或使用說明書帶有使用說明之包裝插頁。典型的亦包括一組說明書。

**【0417】** 在一具體實例中，標籤係在容器上或與容器相結合。在一具體實例中，當形成標籤的字母、數字或其他字元係連附、模塑或蝕刻在容器本身時，此標籤係在容器上，而當標籤係存在一托住此容器之儲藏器或載具中時，則標籤係與容器相結合，例如包裝插頁。在一具體實例中，標籤係用於

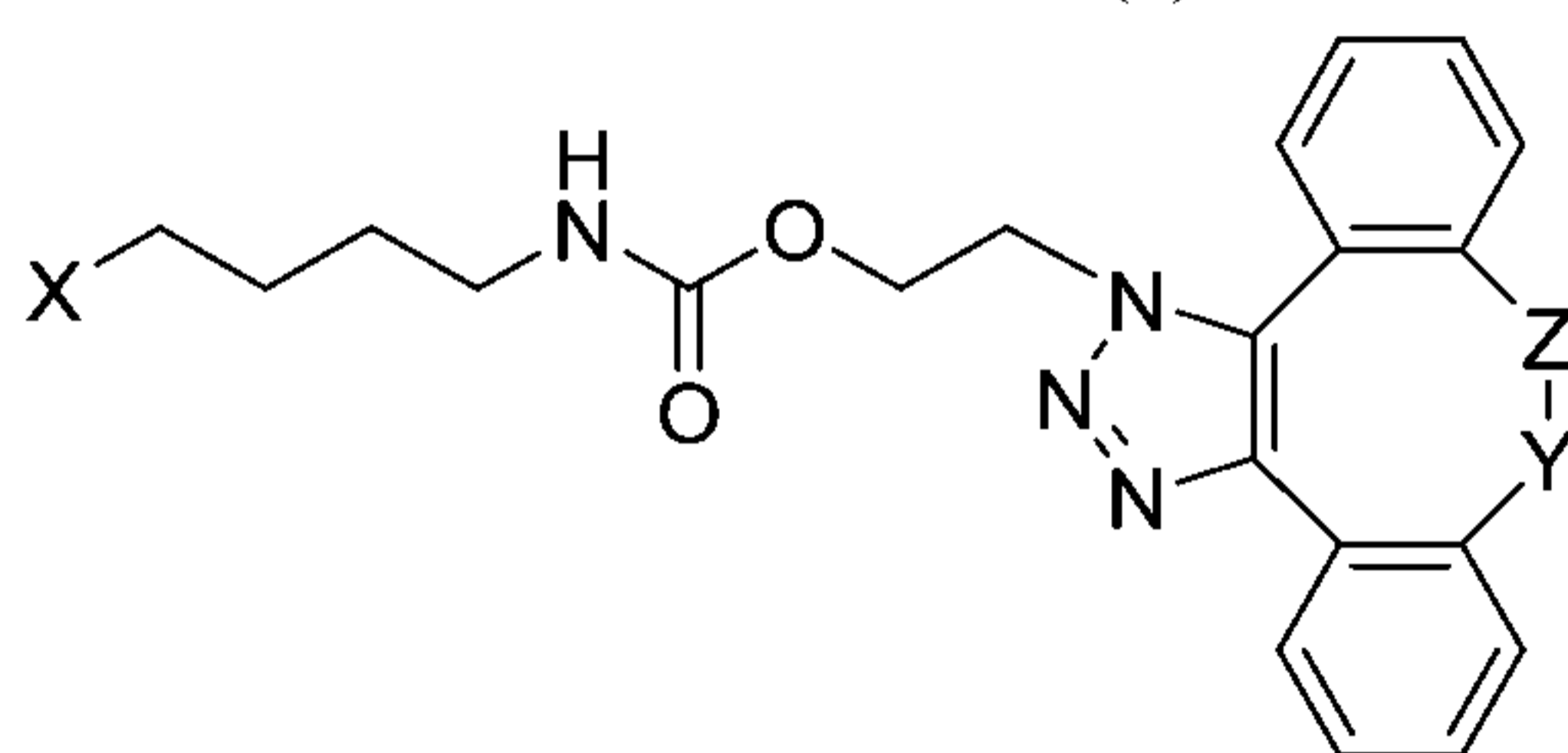
指出使用特定治療應用之內容。此標籤亦指出，例如在文中所述的方法中，使用內容之指示。

**【0418】** 在特定的具體實例中，此醫藥組成物係以含有一或多個包含文中所提供的化合物之單位劑型的包裝或分配器裝置來呈現。此包裝，例如含有金屬或塑膠箔片，例如泡罩(b blister)包裝。在一具體實例中，此包裝或分配器裝置係伴隨一用於給藥之說明書。在一具體實例中，此包裝或分配器裝置亦伴隨與容器結合的注意事項，其形式由管理醫藥品的製造、使用或銷售之政府機關訂定，該注意事項係反映機關核准的藥物形式係用於人類用藥或獸藥給藥。此注意事項，例如，係標示由美國食品和藥物管理局核准的標籤或已核准的產品插頁。在一具體實例中，亦製備調配在相容的醫藥載劑中含有一文中所提供的化合物之組成物，放置在適合容器並標示供治療適應症。

### 例示的具體實例

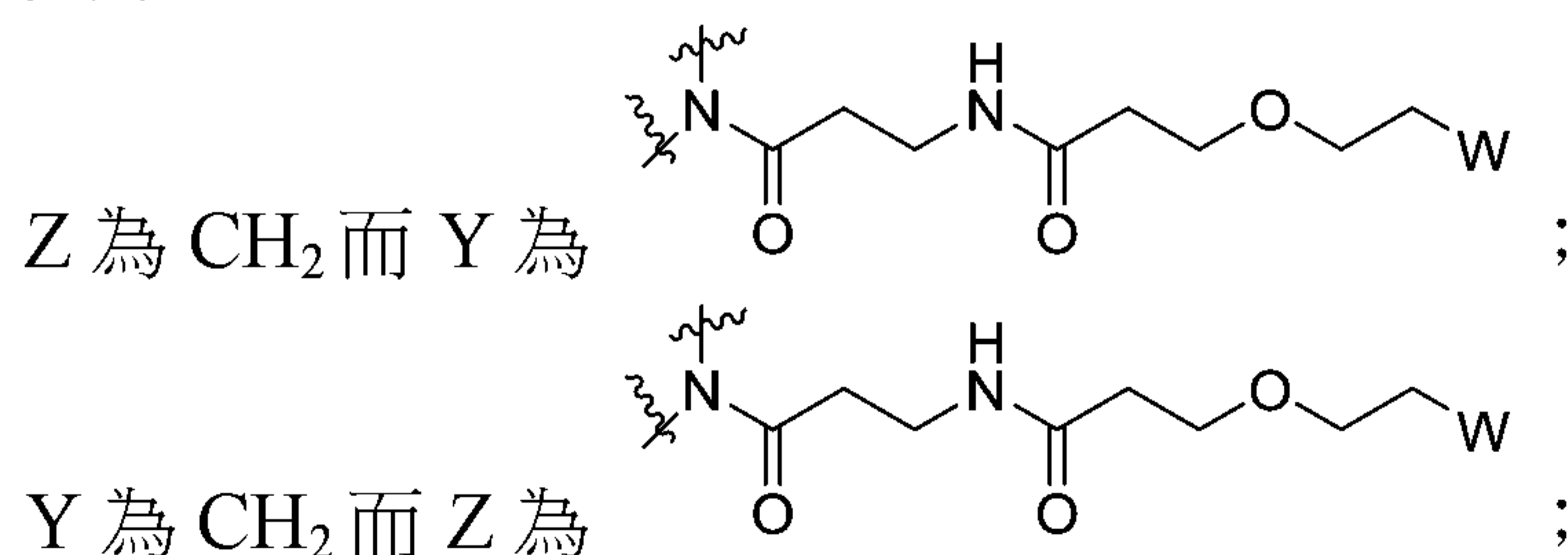
**【0419】** 本揭示文進一步係藉由下列具體實例來揭示。各具體實例的特點當適當和切實可行時，與任何其他具體實例為可組合的。

**【0420】** 具體實例 1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(I)之結構置換：

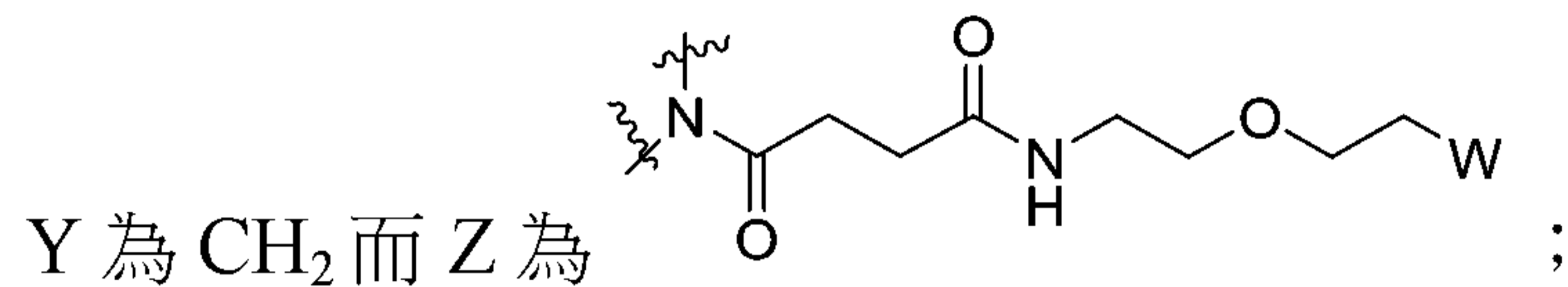
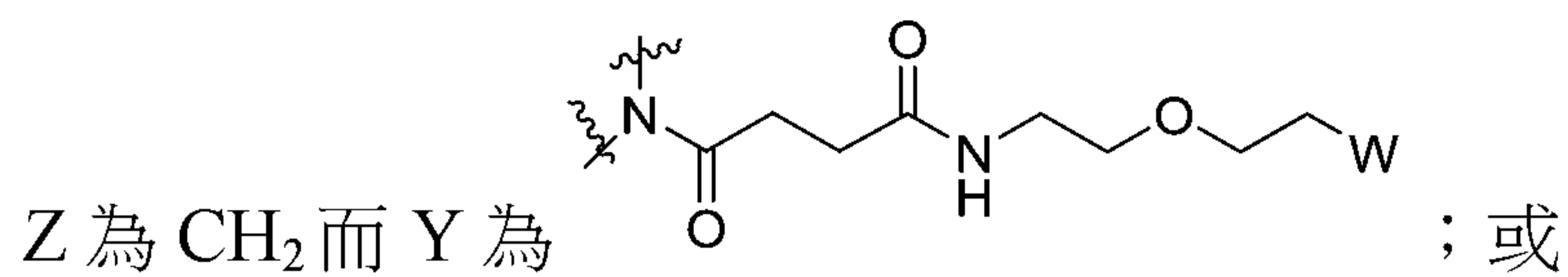


式(I)；

其中：

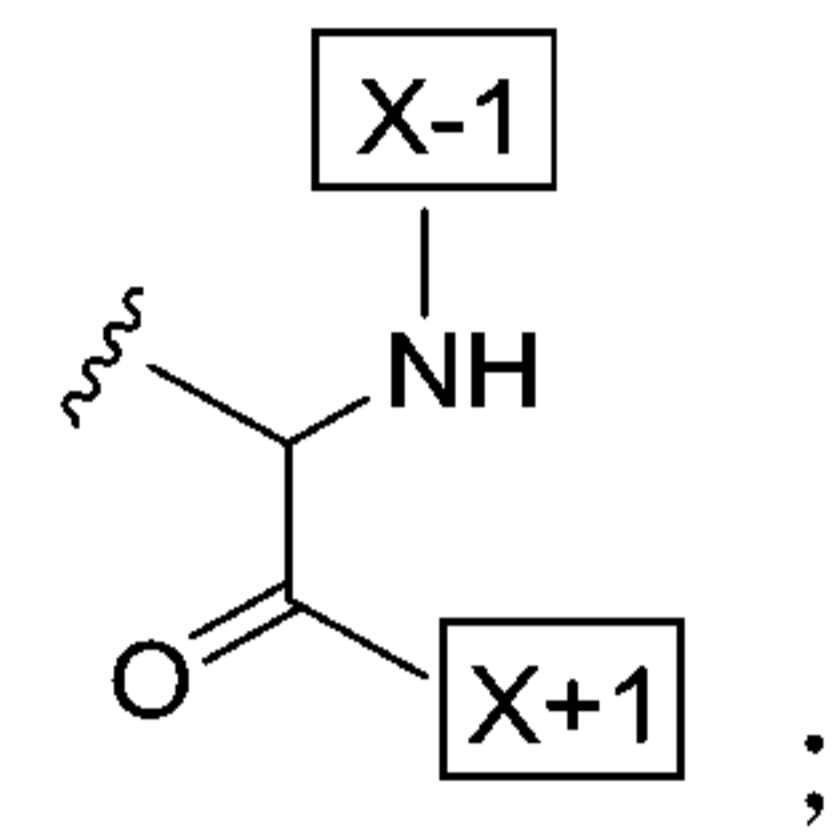






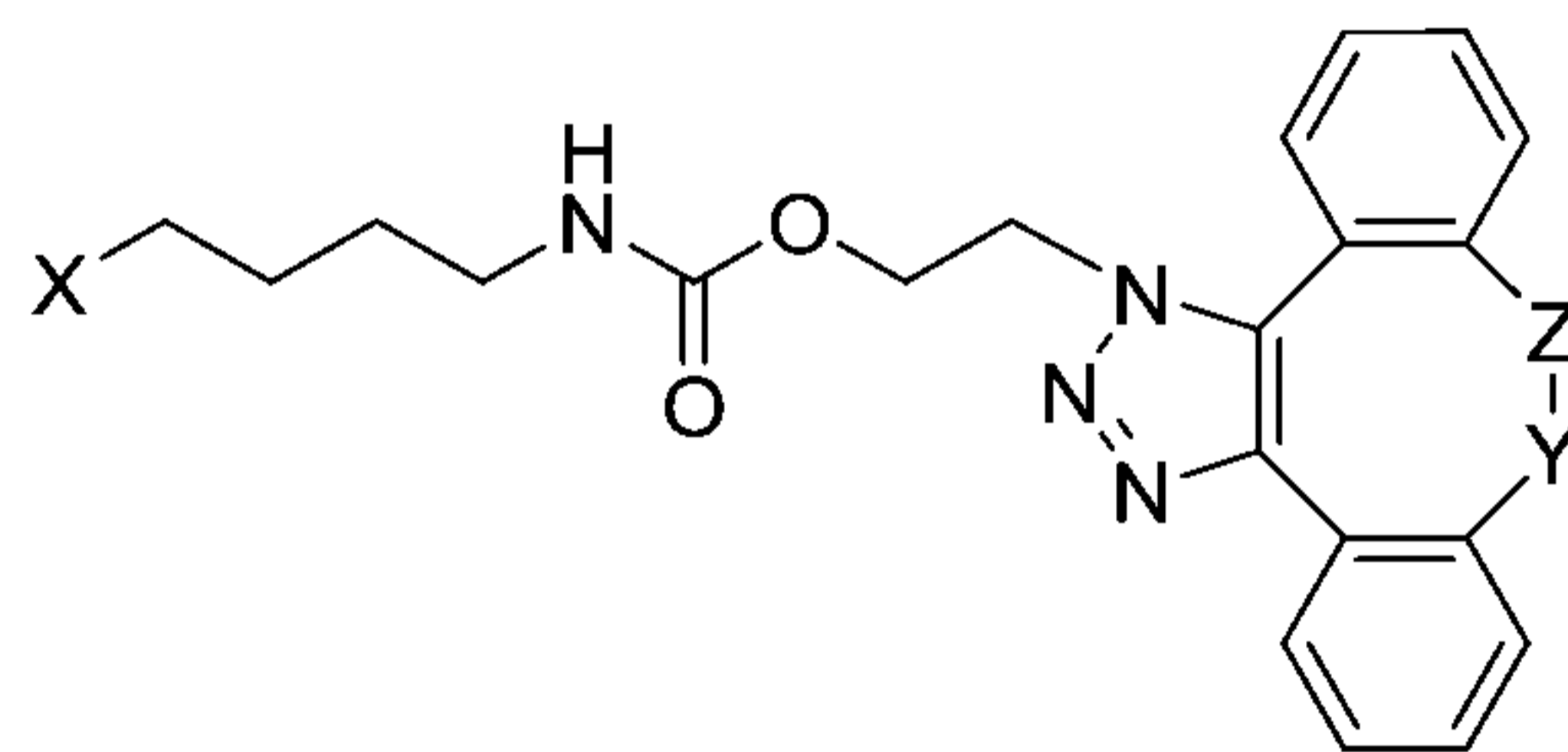
W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



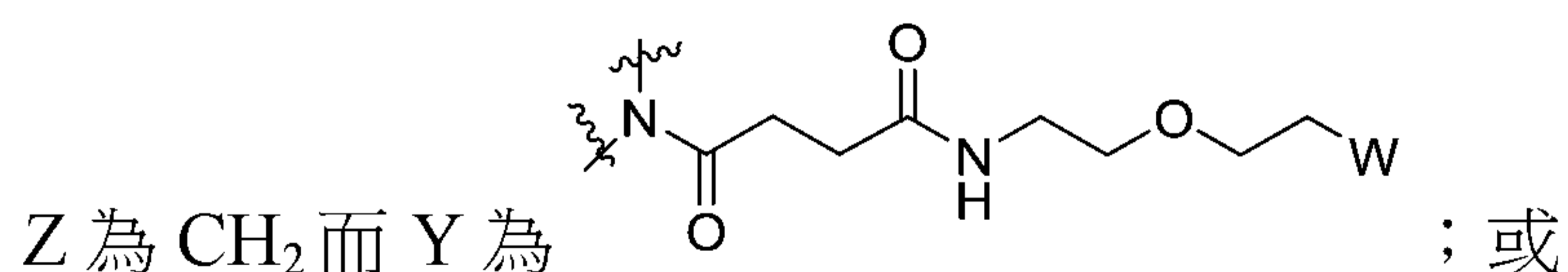
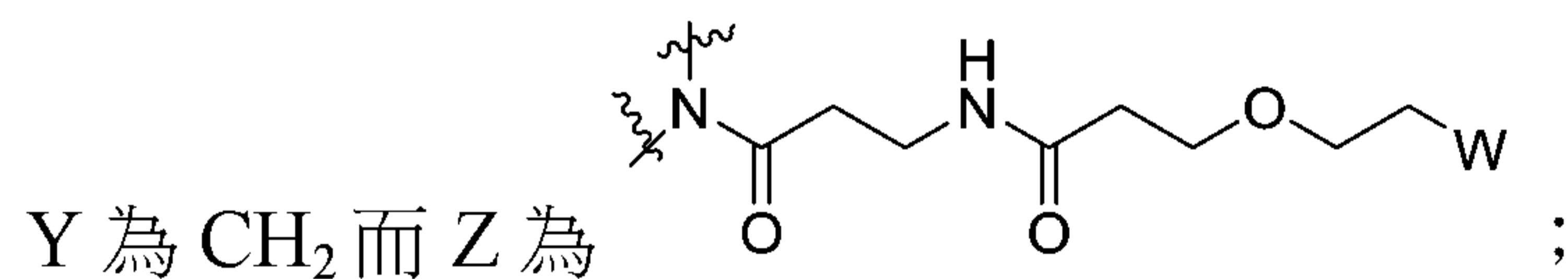
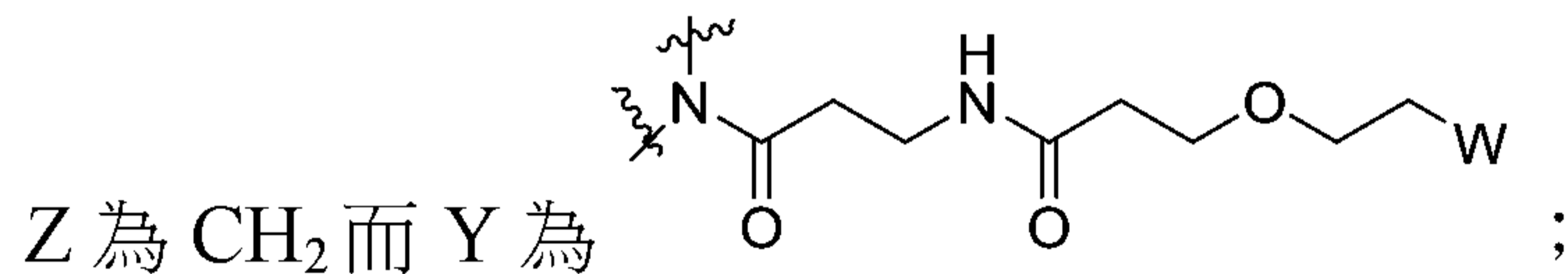
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

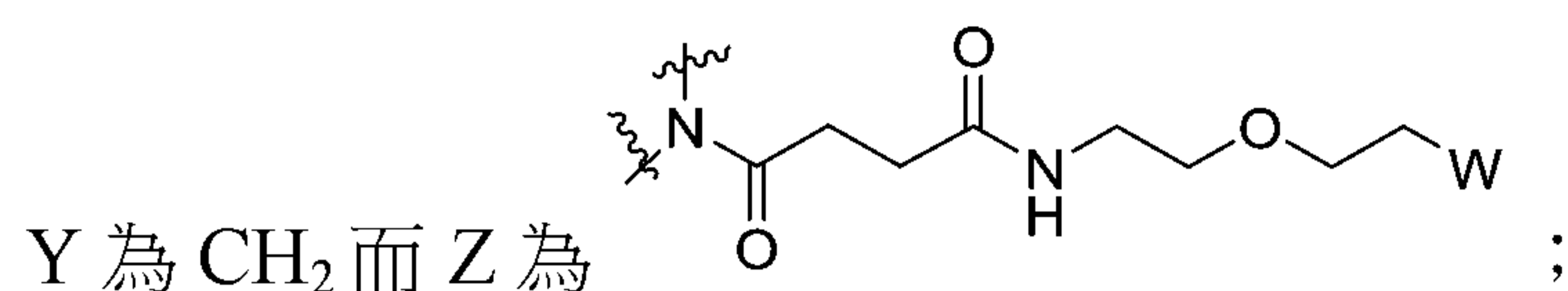
**【0421】** 具體實例 1.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(I)之結構置換：



式(I)；

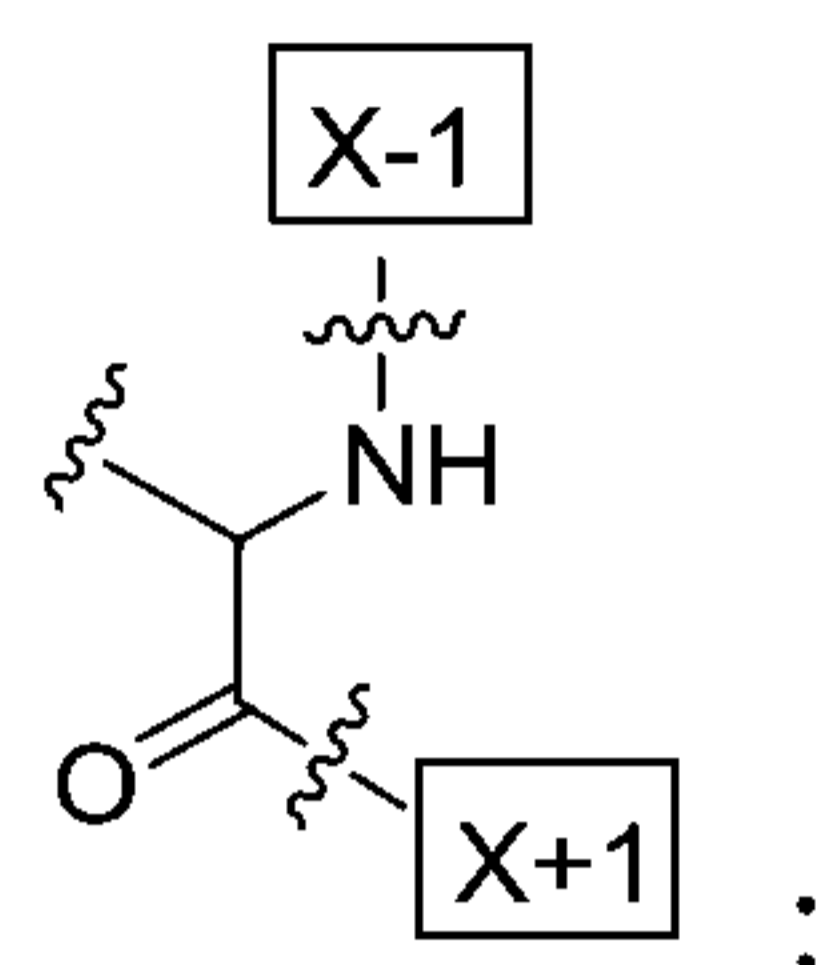
其中：





W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 及 60kDa；及

X 具有下列結構：

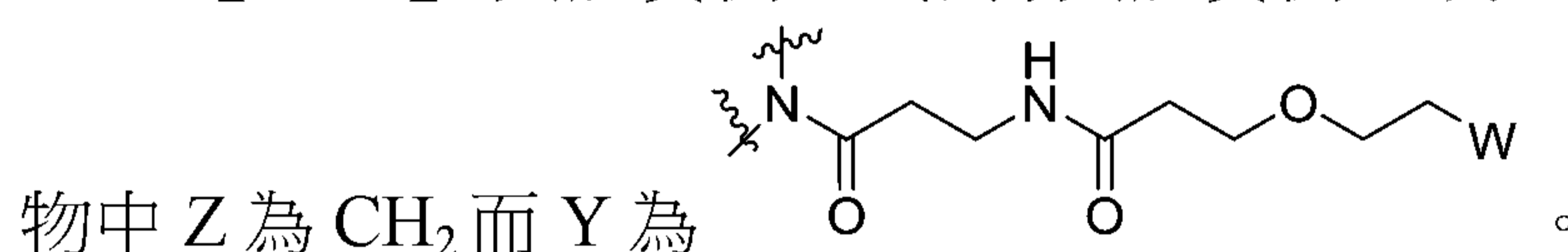


X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

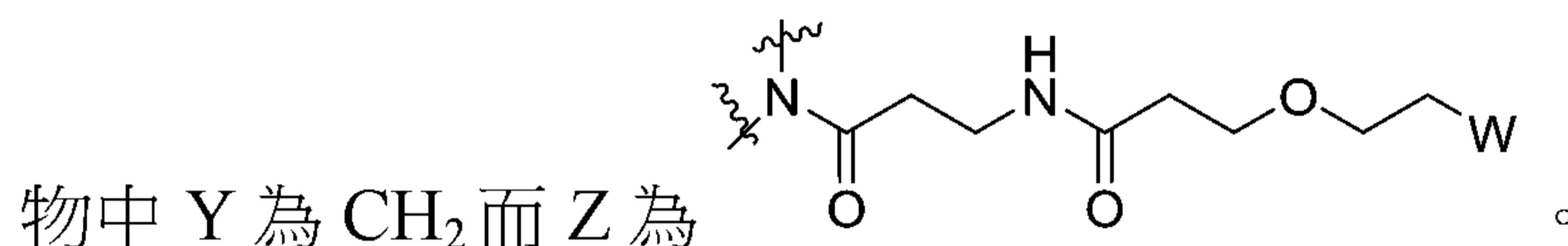
X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

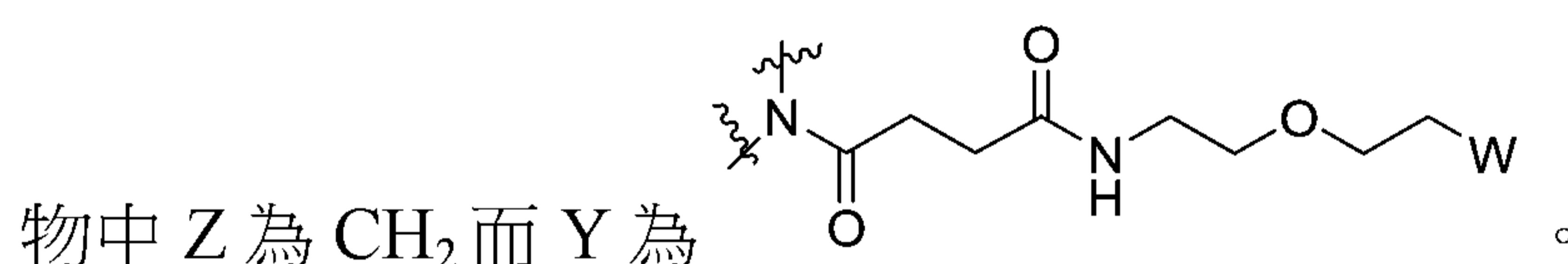
【0422】 具體實例 2. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法，其中在 IL-2 接合



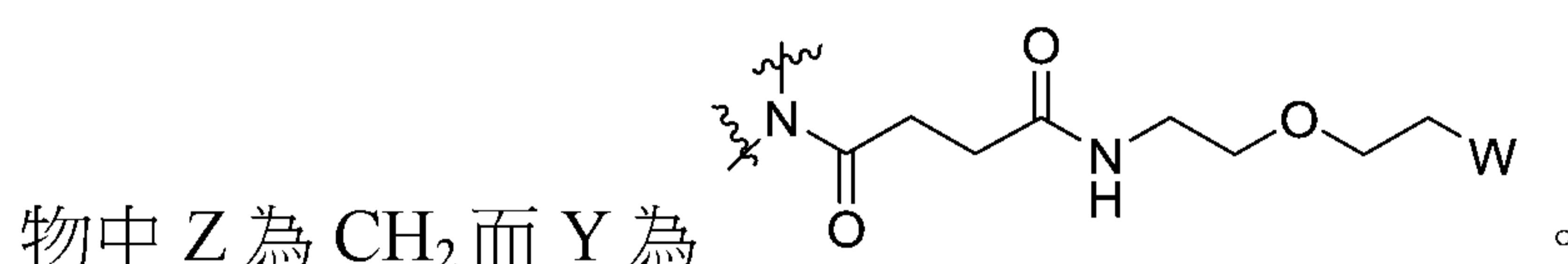
【0423】 具體實例 3. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法，其中在 IL-2 接合



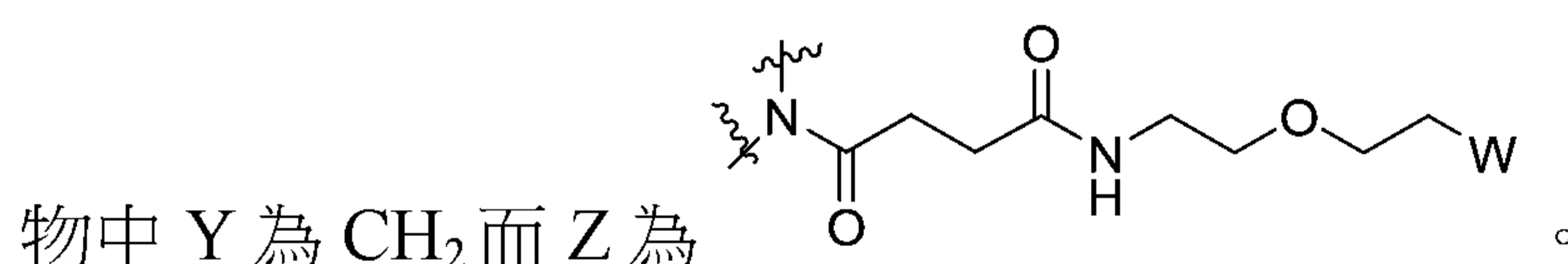
【0424】 具體實例 4. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法，其中在 IL-2 接合



【0425】 具體實例 5. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法，其中在 IL-2 接合



【0426】 具體實例 6. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法，其中在 IL-2 接合



【0427】 具體實例 7. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有選自下列之平均分子量：5 kDa、10kDa、20 kDa 和 30kDa。

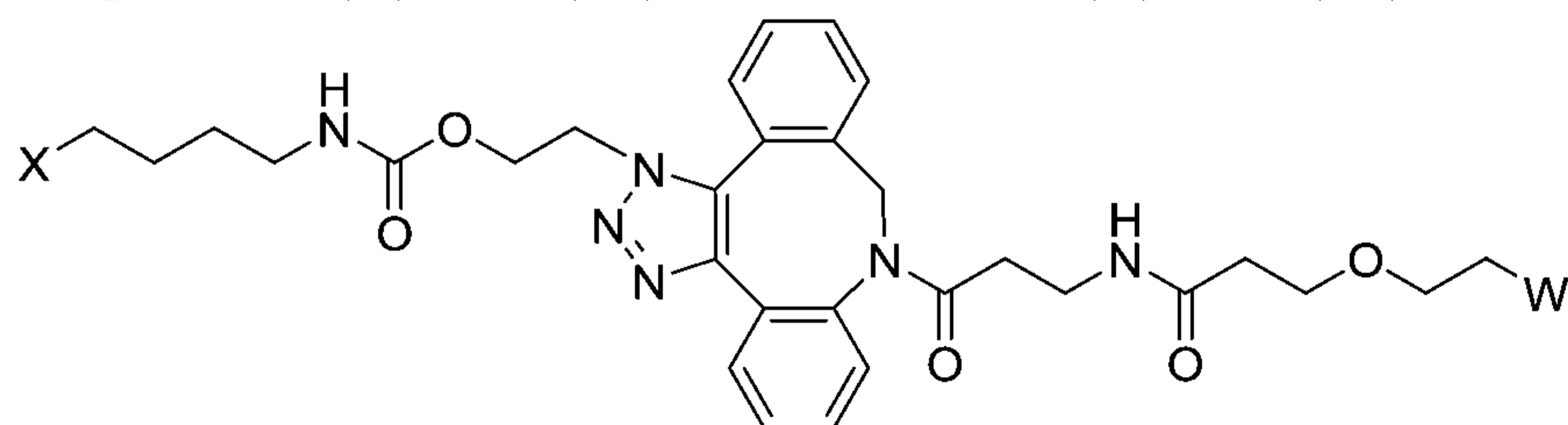
【0428】 具體實例 8. 之方法根據具體實例 1 或 1.1, 其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 10kDa、20kDa 或 30kDa 之平均分子量, 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0429】 具體實例 9. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法, 其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 30kDa 之平均分子量。

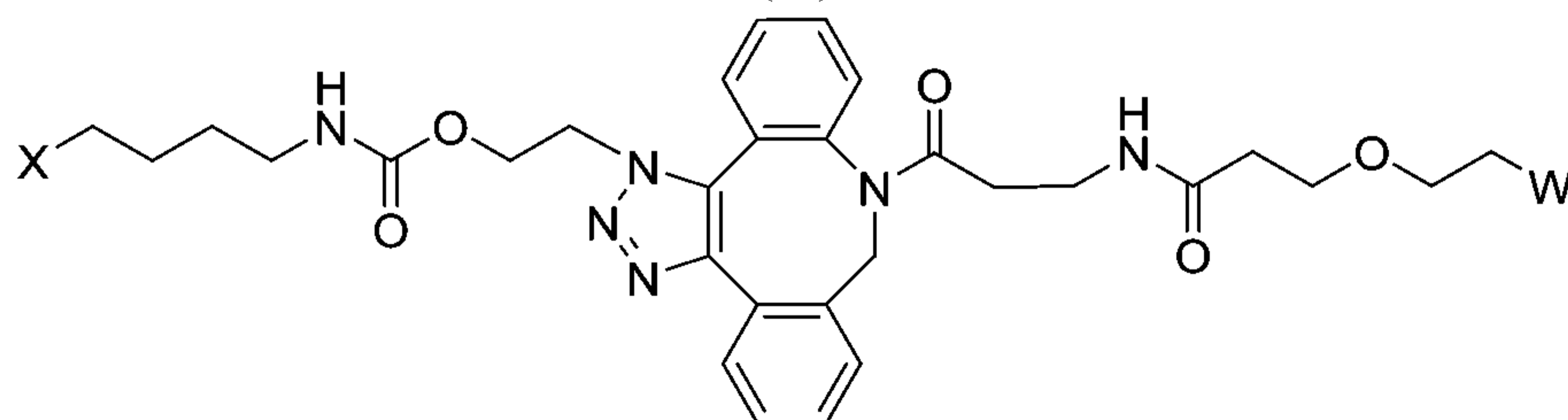
【0430】 具體實例 10. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法, 其中在 IL-2 接合物中, 在 IL-2 接合物之胺基酸序列中, 式(I)結構的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。

【0431】 具體實例 11. 根據具體實例 1 或 1.1 之方法, 其中在 IL-2 接合物中, 在 IL-2 接合物之胺基酸序列中, 式(I)結構的位置係選自 F41、E61 及 P64。

【0432】 具體實例 12. 一種於一對象中治療癌症的方法, 該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物, 及(b)一或多種另外的藥劑, 其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS:15-19 之胺基酸序列, 其中[AzK\_PEG]具有式(II)或式(III)之結構, 或式(II)和式(III)之混合物:



式(II);

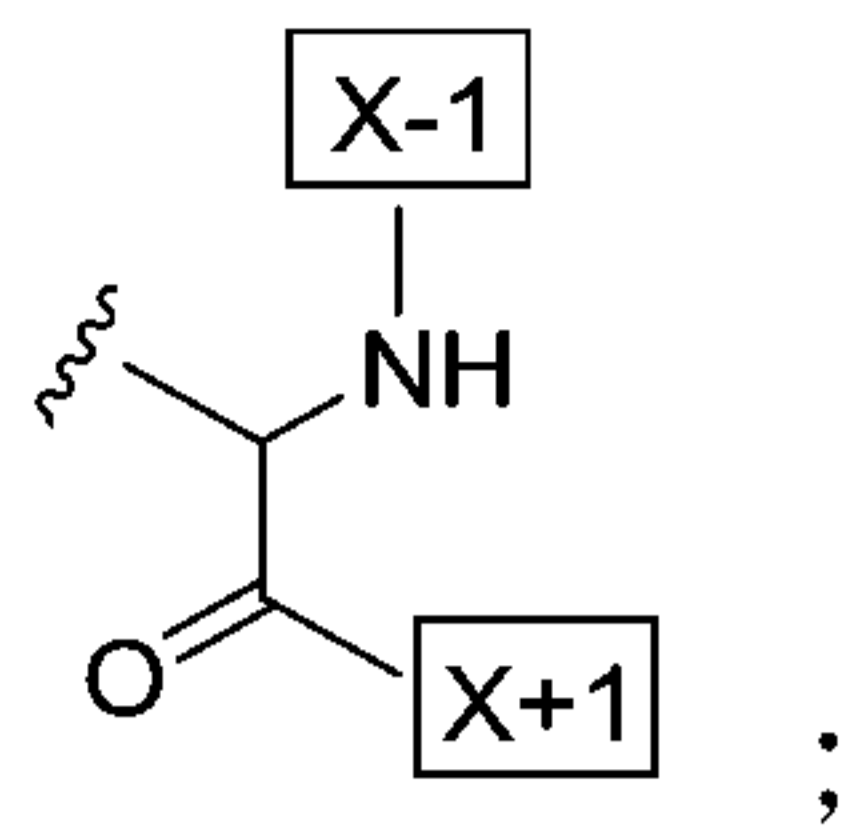


式(III);

其中:

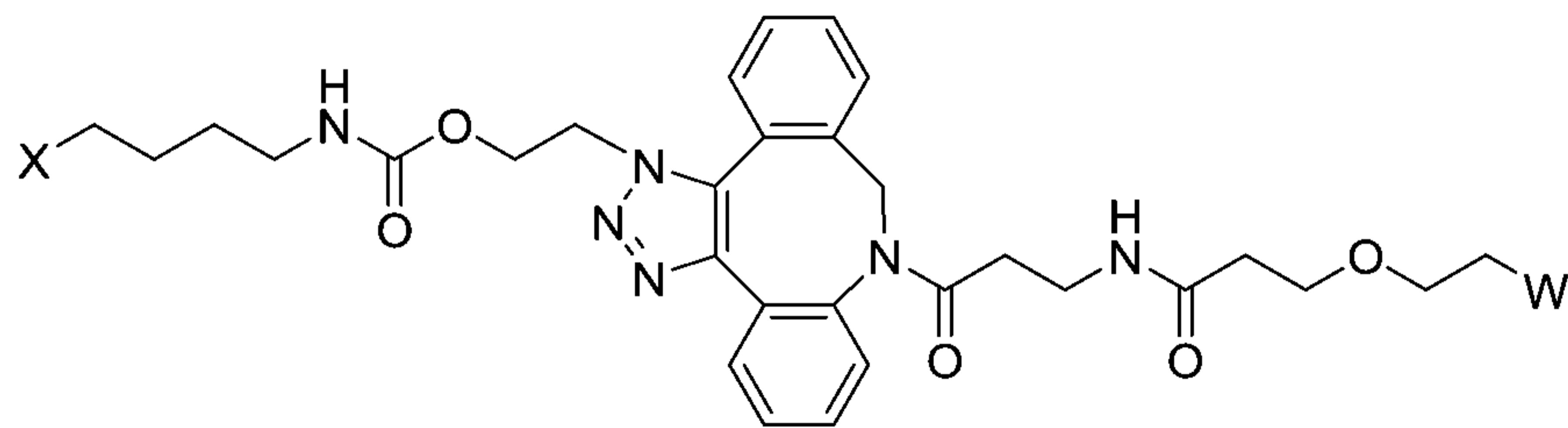
W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團: 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa; 及

X 具有下列結構:

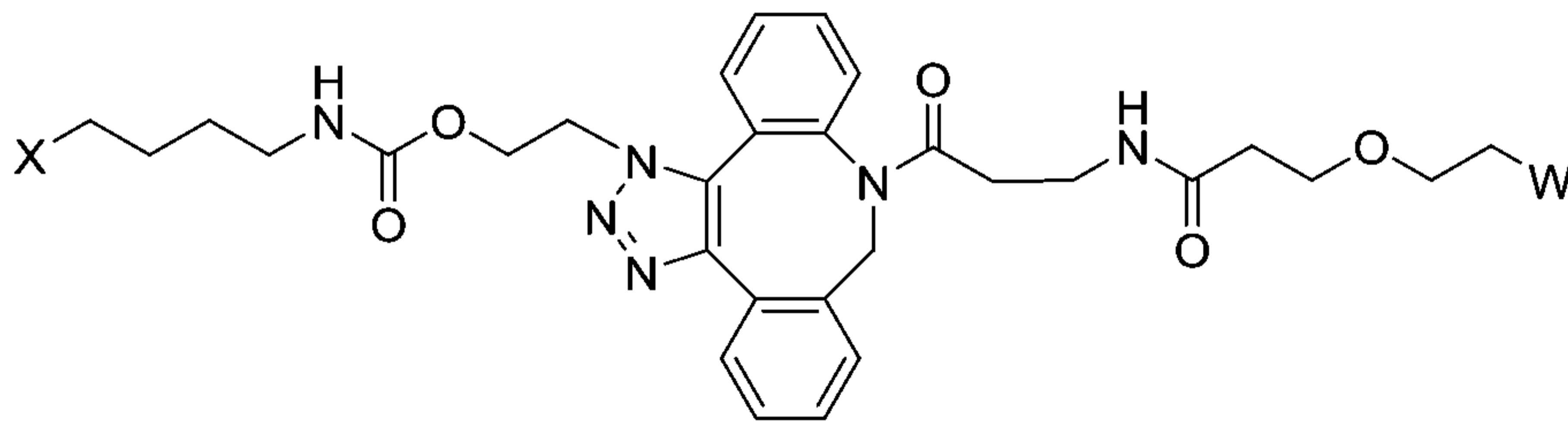


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0433】 具體實例 12.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：15-19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]具有式(II)或式(III)之結構，或式(II)和式(III)之混合物：



式(II)；

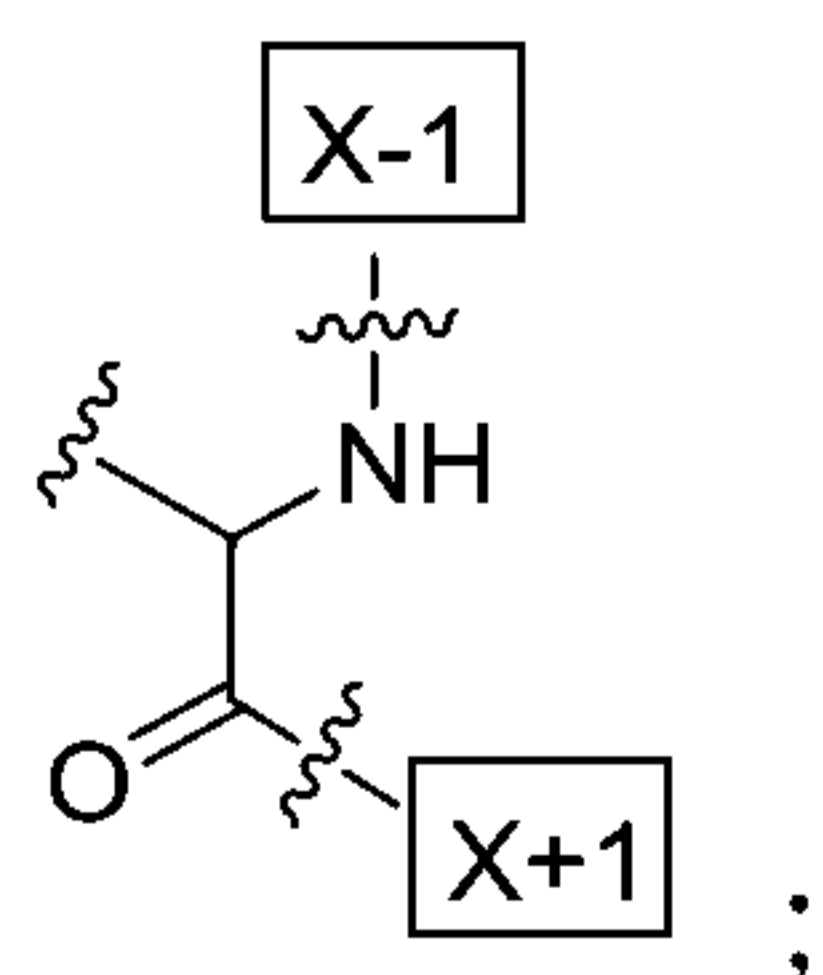


式(III)；

其中：

W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



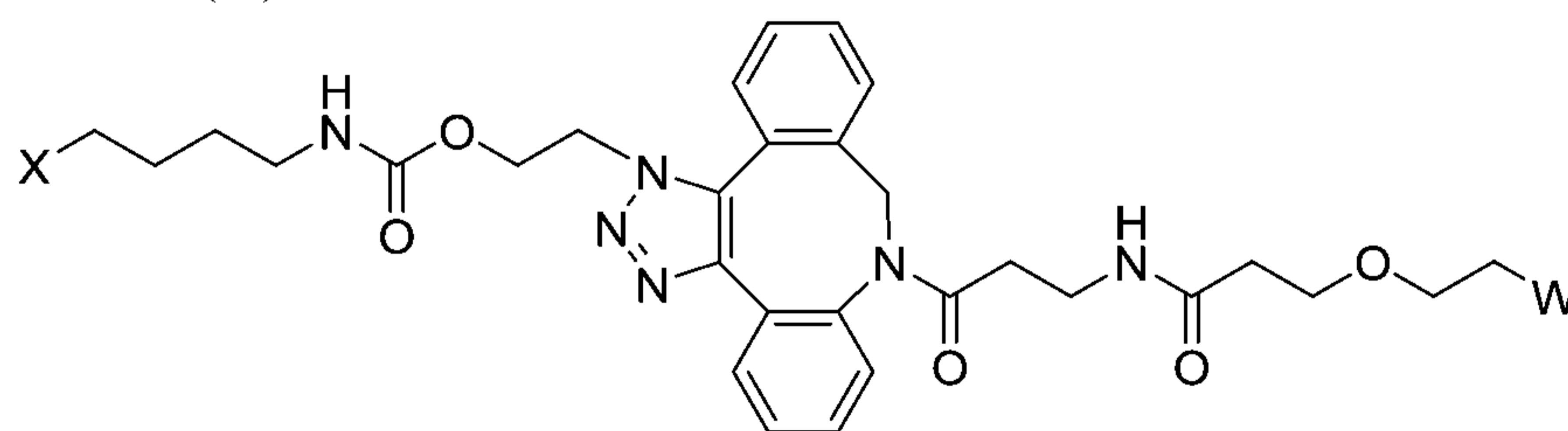
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0434】 具體實例 13. 根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 [AzK\_PEG] 為式(II)和式(III)之混合物。

【0435】 具體實例 14. 根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 [AzK\_PEG] 具有式(II)之結構：



式(II)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0436】 具體實例 15. 根據具體實例 14 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列。

【0437】 具體實例 16. 之方法根據具體實例 15 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0438】 具體實例 17. 根據具體實例 16 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0439】 具體實例 18. 之方法根據具體實例 17 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0440】 具體實例 19. 之方法根據具體實例 17 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0441】 具體實例 20. 之方法根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：16 之胺基酸序列。

【0442】 具體實例 21. 之方法根據具體實例 20，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0443】 具體實例 22. 之方法根據具體實例 21 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0444】 具體實例 23. 之方法根據具體實例 22 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0445】 具體實例 24. 之方法根據具體實例 22 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0446】 具體實例 25. 之方法根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：17 之胺基酸序列。

【0447】 具體實例 26. 之方法根據具體實例 25 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0448】 具體實例 27. 之方法根據具體實例 26 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0449】 具體實例 28. 之方法根據具體實例 27 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0450】 具體實例 29. 之方法根據具體實例 27 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0451】 具體實例 30. 之方法根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列。

【0452】 具體實例 31. 之方法根據具體實例 30 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0453】 具體實例 32. 之方法根據具體實例 31 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0454】 具體實例 33. 之方法根據具體實例 32 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0455】 具體實例 34. 之方法根據具體實例 32 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0456】 具體實例 35. 之方法根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：19 之胺基酸序列。

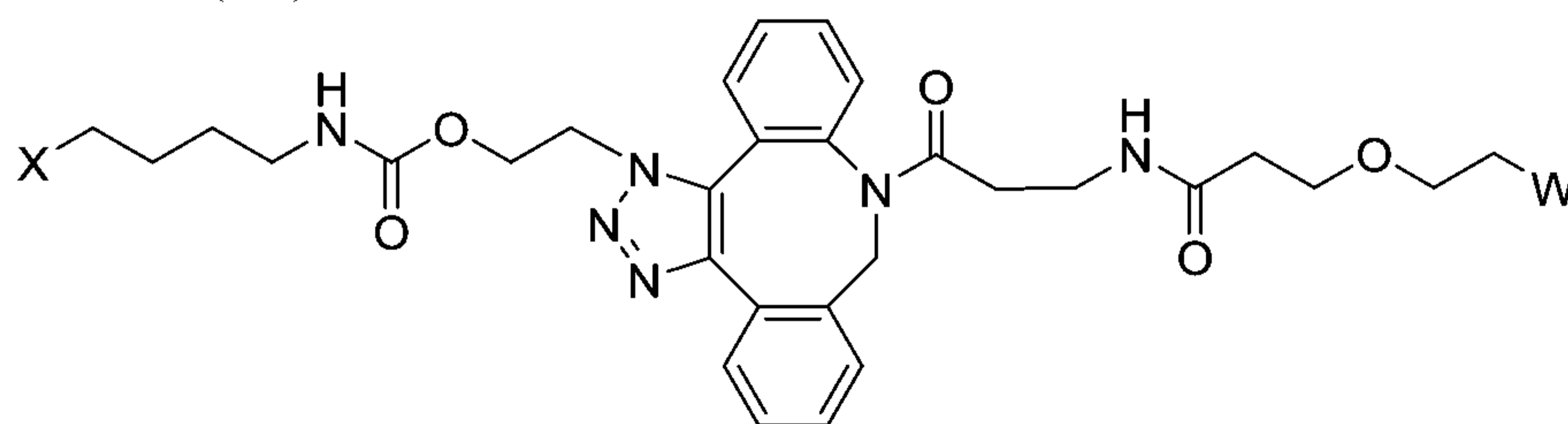
【0457】 具體實例 36. 之方法根據具體實例 35 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0458】 具體實例 37. 之方法根據具體實例 36 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0459】 具體實例 38. 之方法根據具體實例 37 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0460】 具體實例 39. 之方法根據具體實例 37 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0461】 具體實例 40. 之方法根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 [AzK\_PEG] 具有式(III)之結構



式(III)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0462】 具體實例 41. 根據具體實例 40 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列。

【0463】 具體實例 42. 根據具體實例 41 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 及 30kDa.

【0464】 具體實例 43. 根據具體實例 42 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0465】 具體實例 44. 根據具體實例 43 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0466】 具體實例 45. 根據具體實例 43 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0467】 具體實例 46. 根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：16 之胺基酸序列。

【0468】 具體實例 47. 根據具體實例 46 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0469】 具體實例 48. 根據具體實例 47 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0470】 具體實例 49. 根據具體實例 48 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0471】 具體實例 50. 根據具體實例 48 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0472】 具體實例 51. 根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：17 之胺基酸序列。

【0473】 具體實例 52. 根據具體實例 51 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0474】 具體實例 53. 根據具體實例 52 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0475】 具體實例 54. 根據具體實例 53 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0476】 具體實例 55. 根據具體實例 53 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0477】 具體實例 56. 根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列。

【0478】 具體實例 57. 根據具體實例 56 根據，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 及 30kDa。

【0479】 具體實例 58. 根據具體實例 57，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0480】 具體實例 59. 根據具體實例 58，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0481】 具體實例 60. 根據 claim 具體實例 58，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0482】 具體實例 61. 根據具體實例 12 或 12.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：19 之胺基酸序列。



【0483】 具體實例 62. 根據具體實例 61 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0484】 具體實例 63. 根據具體實例 62 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0485】 具體實例 64. 根據具體實例 63 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0486】 具體實例 65. 根據具體實例 63 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0487】 具體實例 66. 根據具體實例 1 至 65 中任一例之方法，其中 W 為直鏈或支鏈 PEG 基團。

【0488】 具體實例 67. 根據具體實例 1 至 65 中任一例之方法，其中 W 為直鏈 PEG 基團。

【0489】 具體實例 68. 根據具體實例 1 至 65 中任一例之方法，其中 W 為支鏈 PEG 基團。

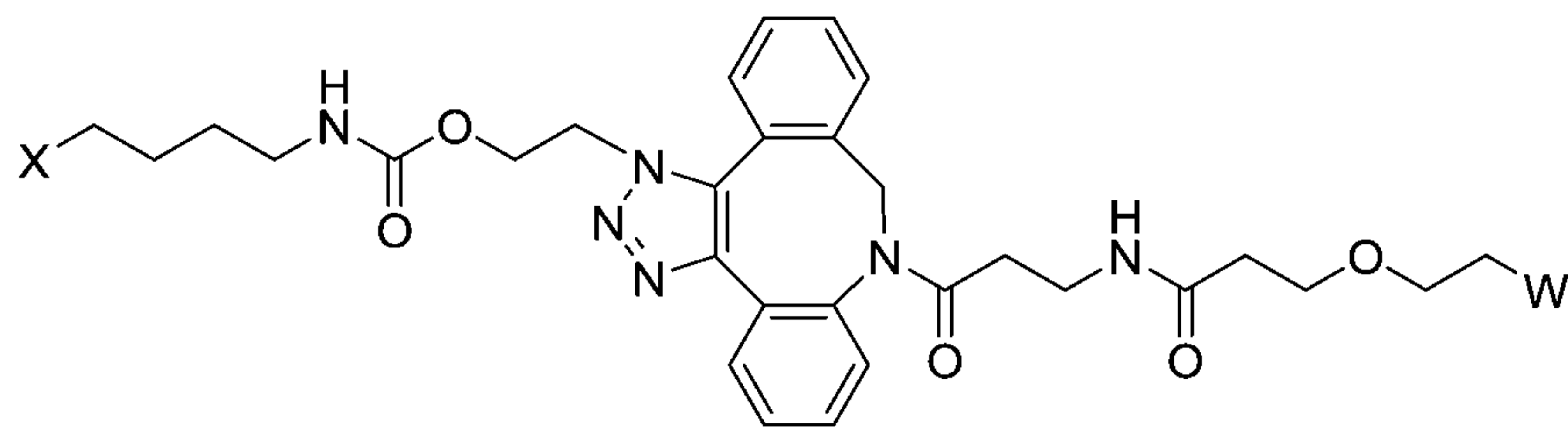
【0490】 具體實例 69. 根據具體實例 1 至 65 中任一例之方法，其中 W 為甲氧基 PEG 基團。

【0491】 具體實例 70. 根據具體實例 69 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈或支鏈。

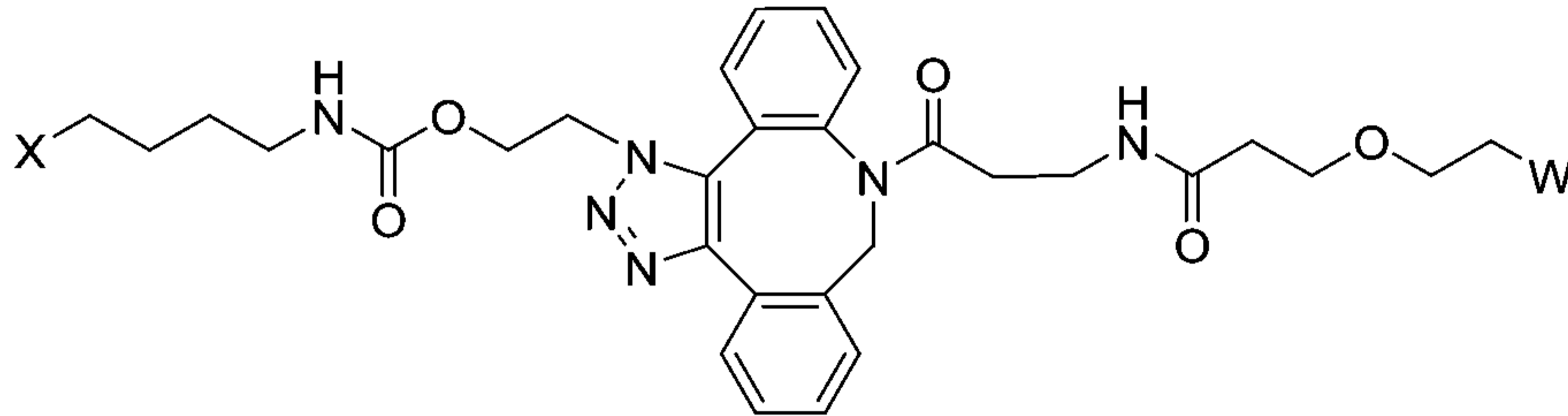
【0492】 具體實例 71. 根據具體實例 70 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈。

【0493】 具體實例 72. 根據具體實例 70 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為支鏈。

【0494】 具體實例 73. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS:20-24 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG5kD]具有式(II)或式(III)之結構，或式(II)和式(III)之混合物：



式(II)；

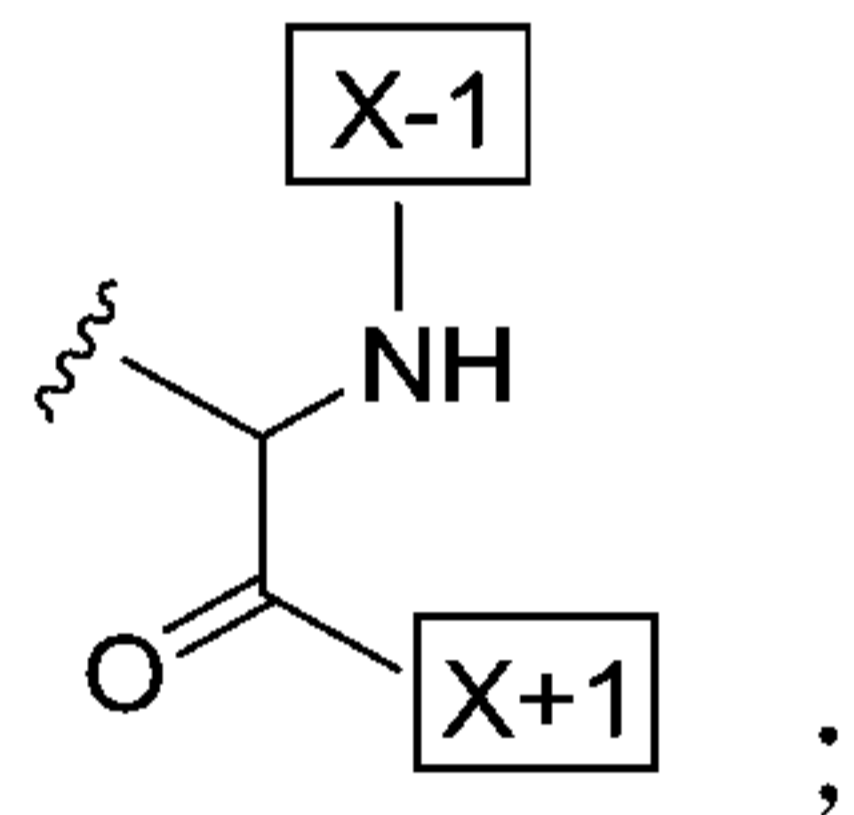


式(III)；

其中：

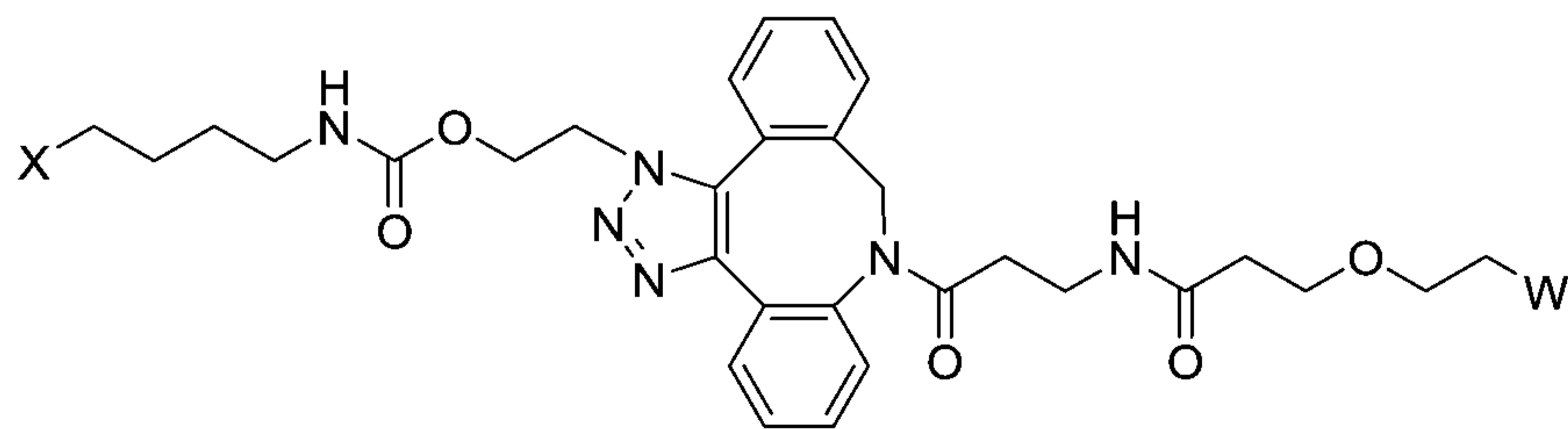
W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：

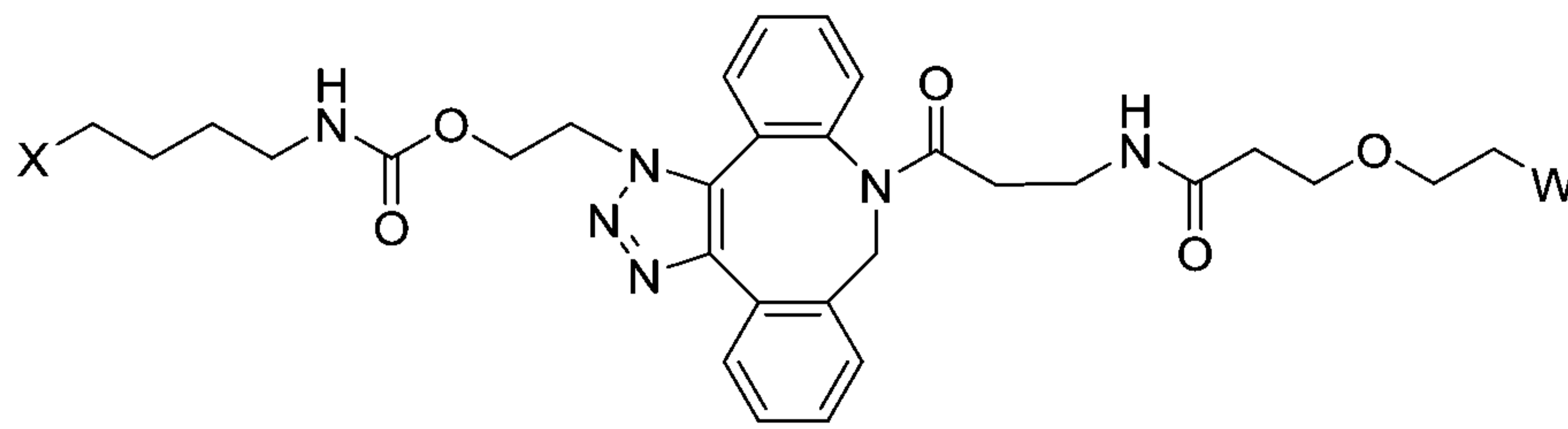


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0495】** 具體實例 73.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：20-24 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG5kD]具有式(II)或式(III)之結構，或式(II)和式(III)之混合物。：



式(II)；

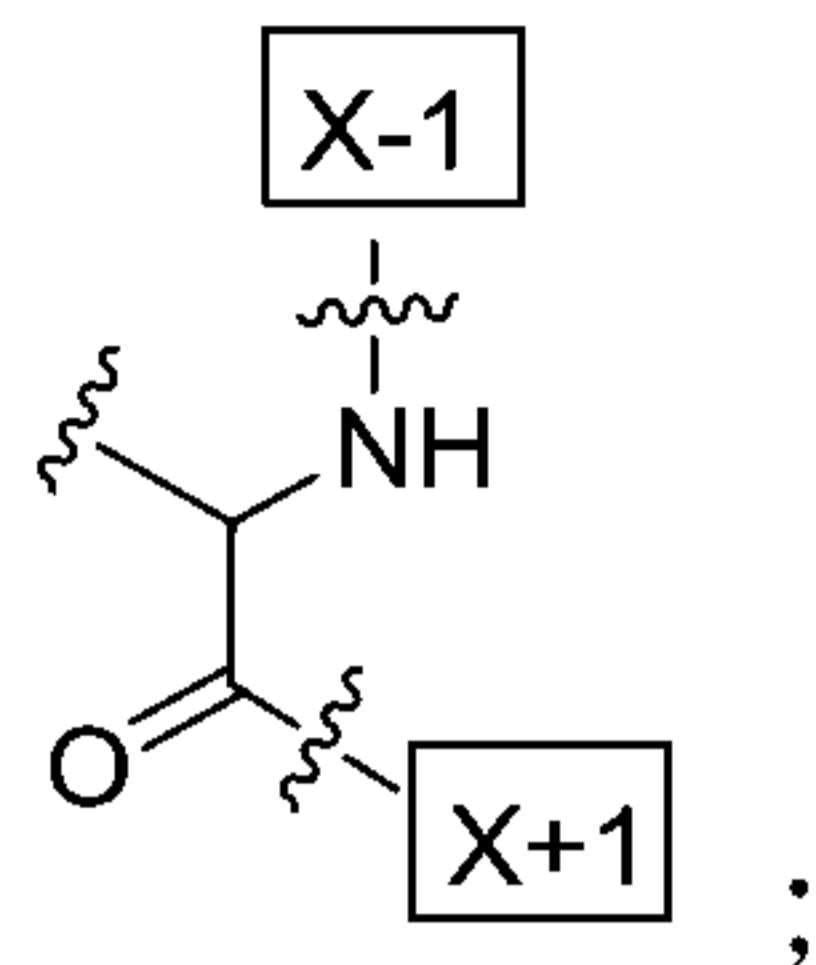


式(III)；

其中：

W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0496】 具體實例 74. 根據具體實例 73 或 73.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列。

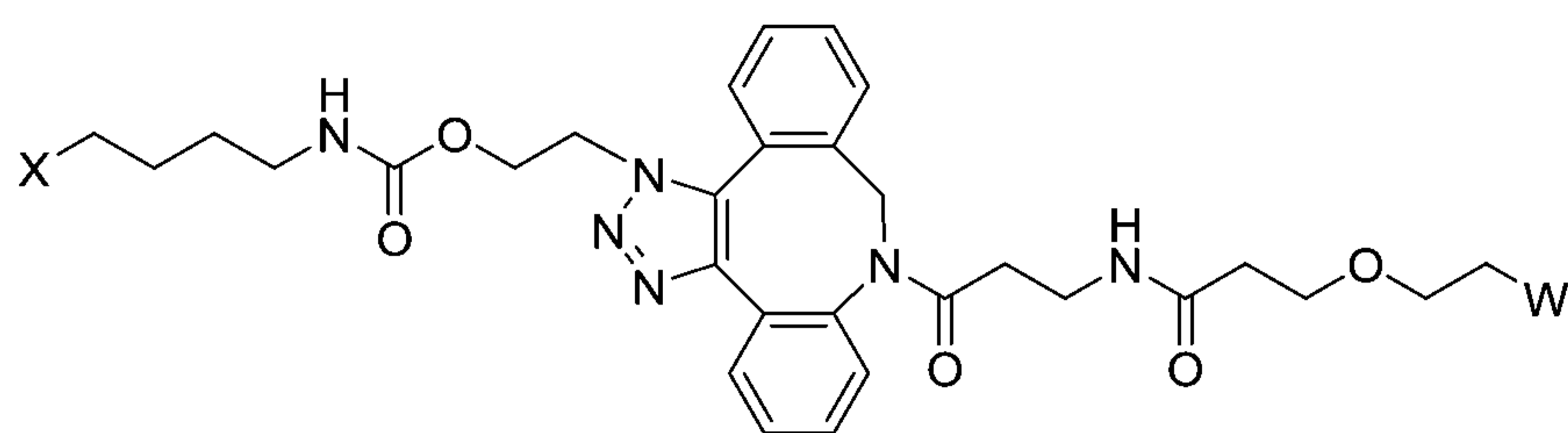
【0497】 具體實例 75. 根據具體實例 73 或 73.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：21 之胺基酸序列。

【0498】 具體實例 76. 根據具體實例 73 或 73.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列。

【0499】 具體實例 77. 根據具體實例 73 或 73.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列。

【0500】 具體實例 78. 根據具體實例 73 或 73.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：24 之胺基酸序列。

【0501】 具體實例 79. 根據具體實例 73 或 73.1 之方法，其中該 [AzK\_PEG5kD] 具有式(II)之結構



式(II)；

【0502】 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0503】 具體實例 80. 根據具體實例 79 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 20 之胺基酸序列。

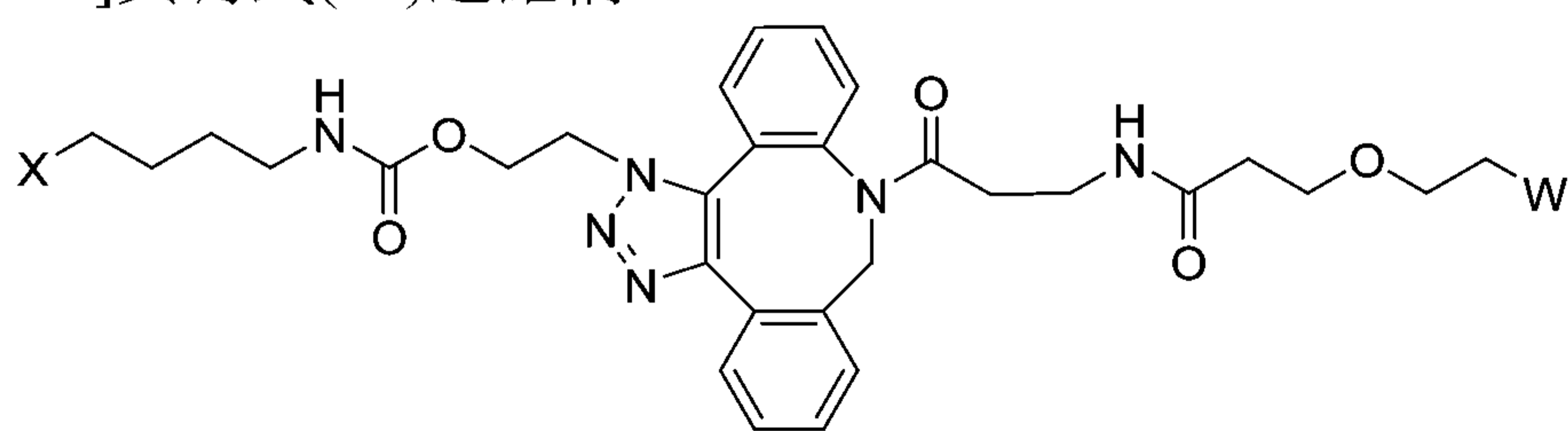
【0504】 具體實例 81. 根據具體實例 79 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 21 之胺基酸序列。

【0505】 具體實例 82. 根據具體實例 79 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 22 之胺基酸序列。

【0506】 具體實例 83. 根據具體實例 79 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 23 之胺基酸序列。

【0507】 具體實例 84. 根據具體實例 79 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 24 之胺基酸序列。

【0508】 具體實例 85. 根據具體實例 73 或 73.1 之方法, 其中該 [AzK\_PEG5kD] 具有式(III)之結構



式(III)；

【0509】 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0510】 具體實例 86. 根據具體實例 85 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 20 之胺基酸序列。

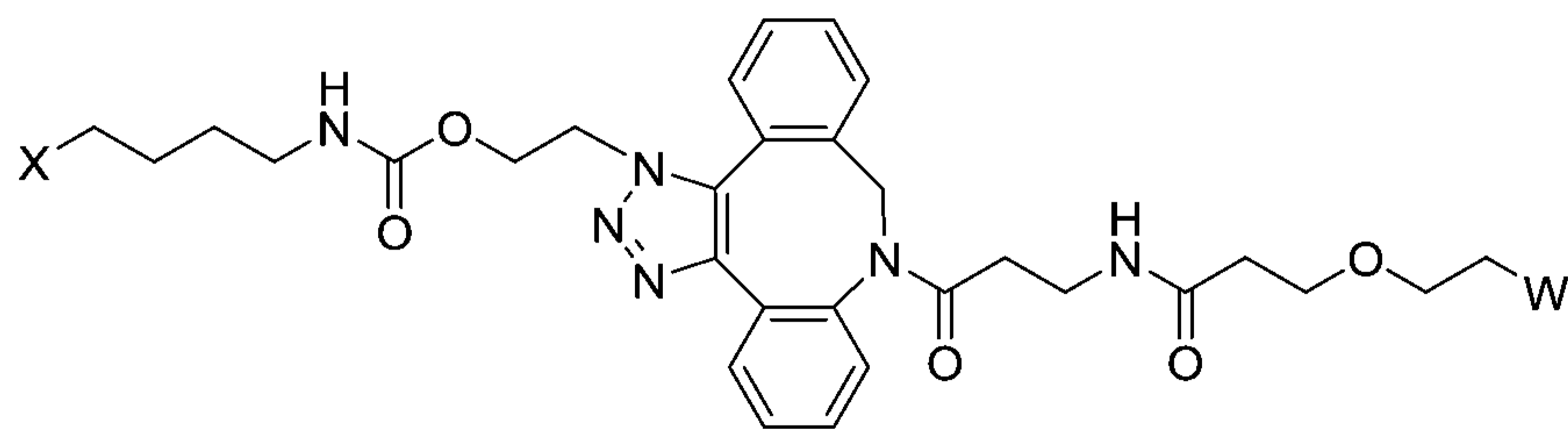
【0511】 具體實例 87. 根據具體實例 85 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 21 之胺基酸序列。

【0512】 具體實例 88. 根據具體實例 85 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 22 之胺基酸序列。

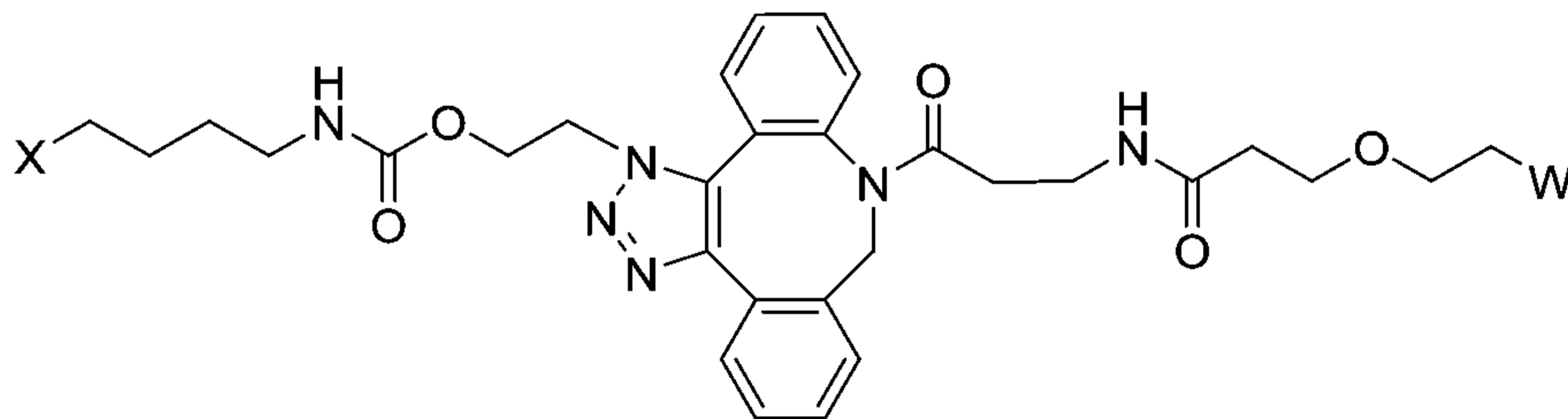
【0513】 具體實例 89. 根據具體實例 85 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 23 之胺基酸序列。

【0514】 具體實例 90. 根據具體實例 85 之方法, 其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO : 24 之胺基酸序列。

【0515】 具體實例 91. 一種於一對象中治療癌症的方法, 該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物, 及(b)一或多種另外的藥劑, 其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS : 25-29 之胺基酸序列, 其中[AzK\_PEG30kD]具有式(II)或式(III)之結構, 或為式(II)和式(III)結構之混合物:



式(II);

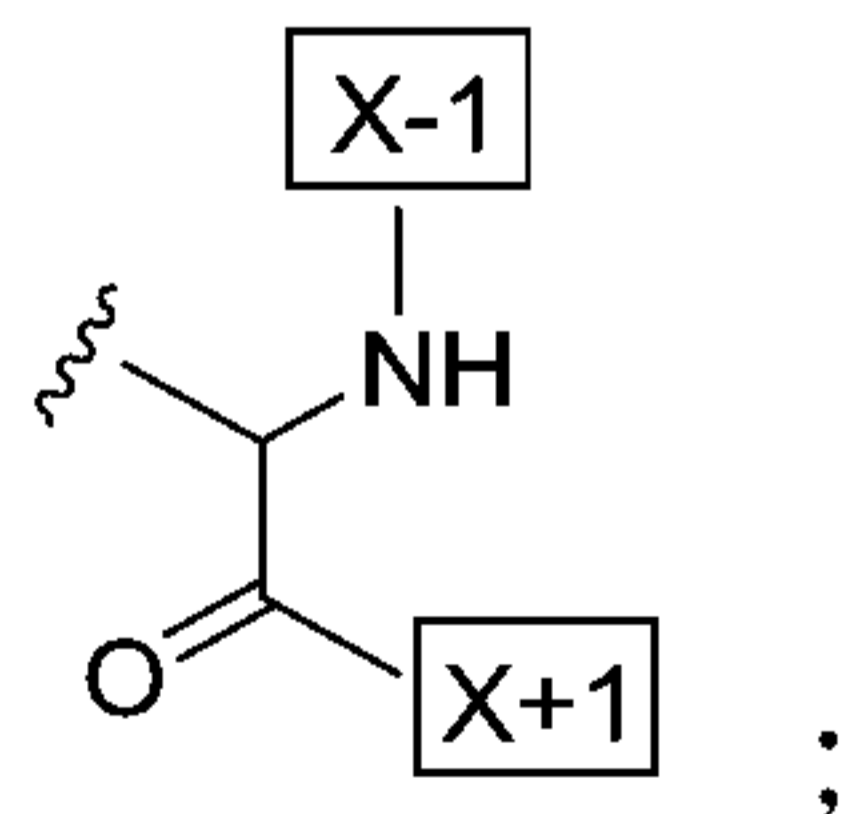


式(III);

其中:

W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團; 及

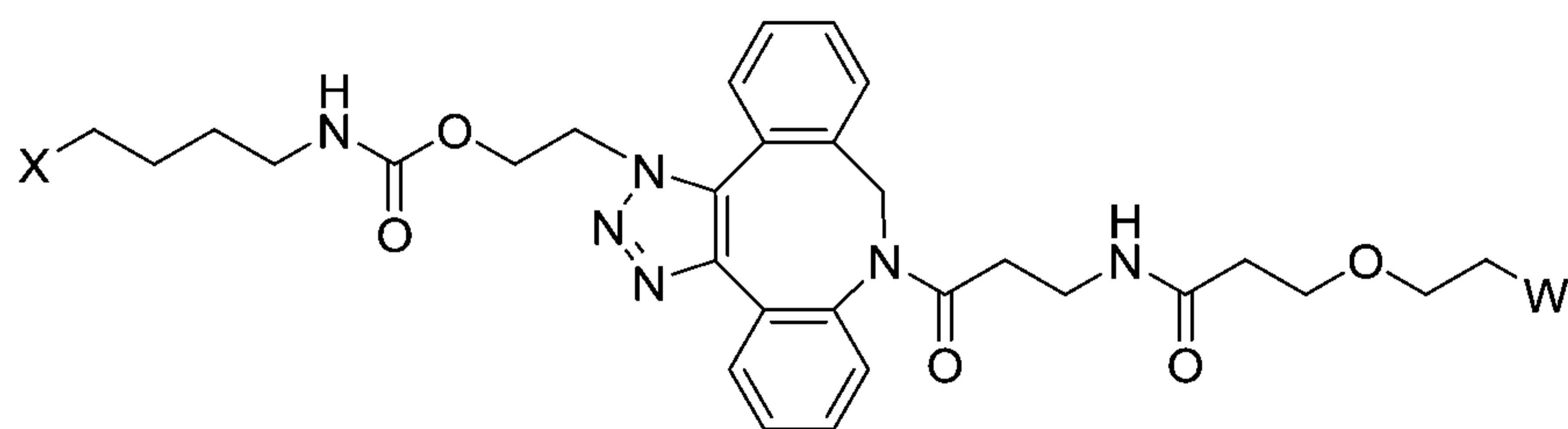
X 具有下列結構:



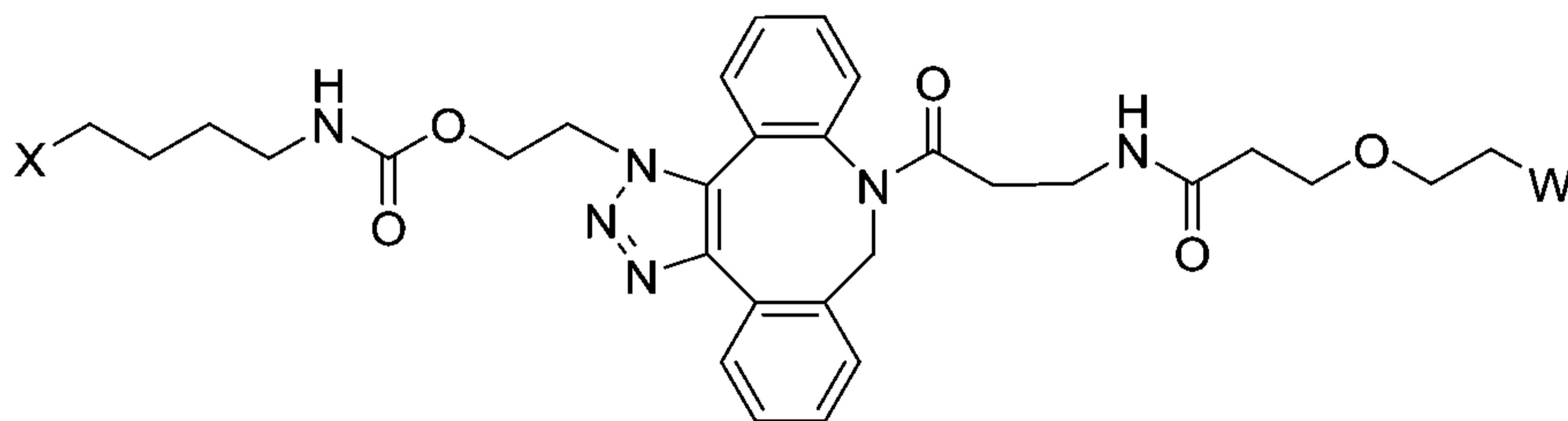
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0516】 具體實例 91.1. 一種於一對象中治療癌症的方法, 該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物, 及(b)一或多種另外的藥劑, 其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS : 25-29 之胺基酸

序列，其中[AzK\_PEG30kD]具有式(II)或式(III)之結構，或為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

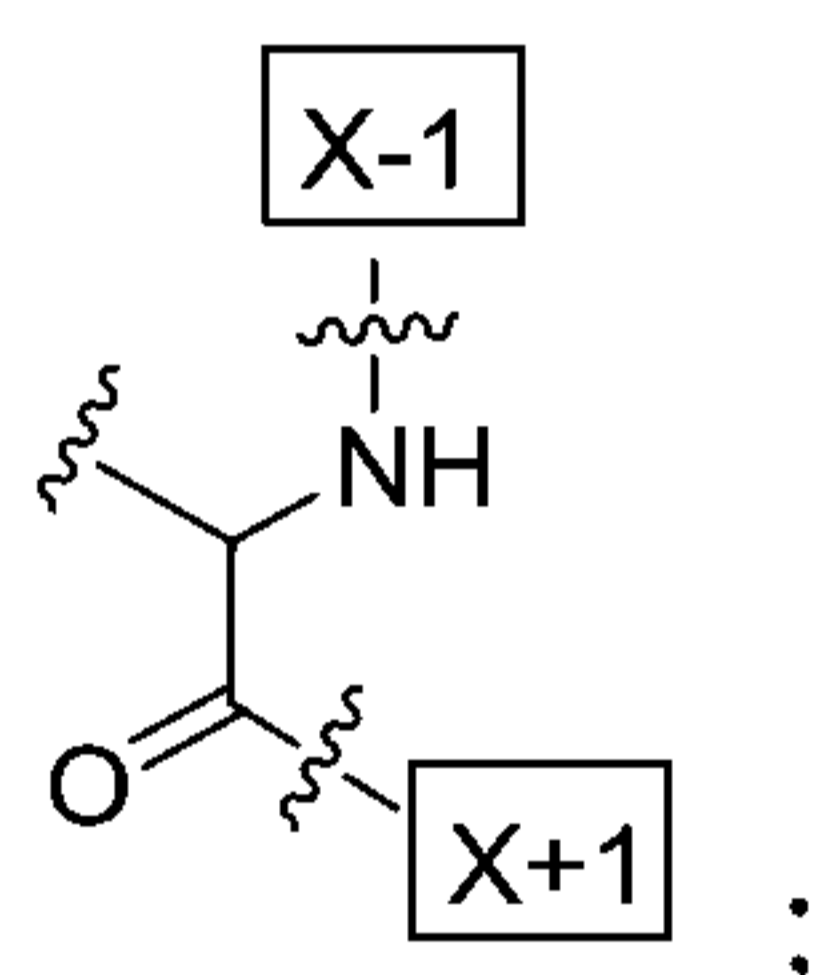


式(III)；

其中：

W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0517】 具體實例 92. 根據具體實例 91 或 91.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。

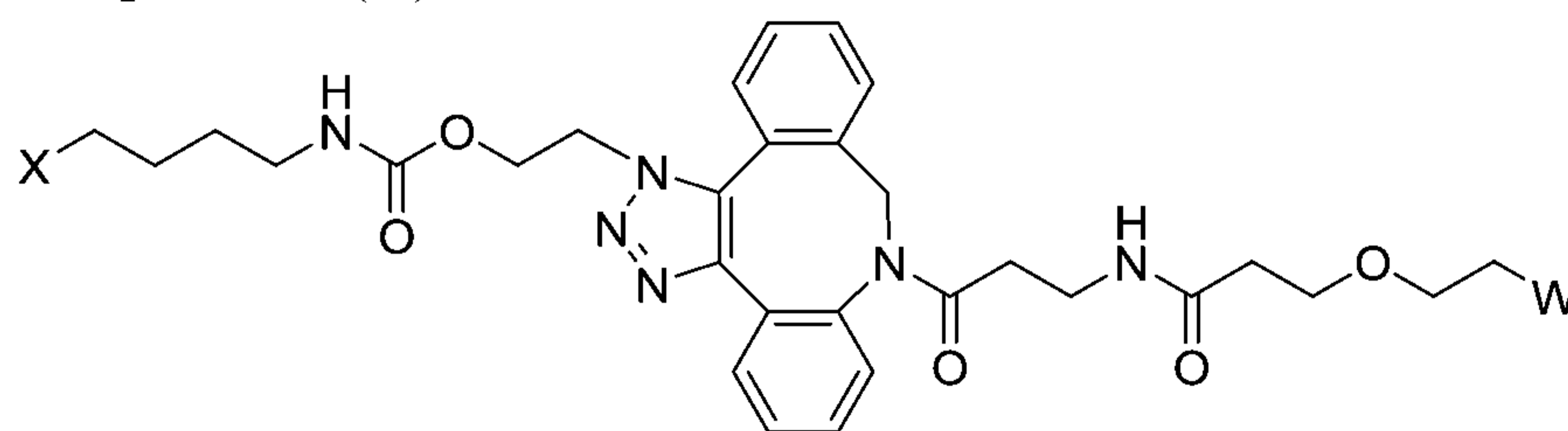
【0518】 具體實例 93. 根據具體實例 91 或 91.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列。

【0519】 具體實例 94. 根據具體實例 91 或 91.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列。

【0520】 具體實例 95. 根據具體實例 91 或 91.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。

【0521】 具體實例 96. 根據具體實例 91 或 91.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列。

【0522】 具體實例 97. 根據具體實例 91 或 91.1 之方法，其中該 [AzK\_PEG30kD] 具有式(II)之結構：



式(II)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0523】 具體實例 98. 根據具體實例 97 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。

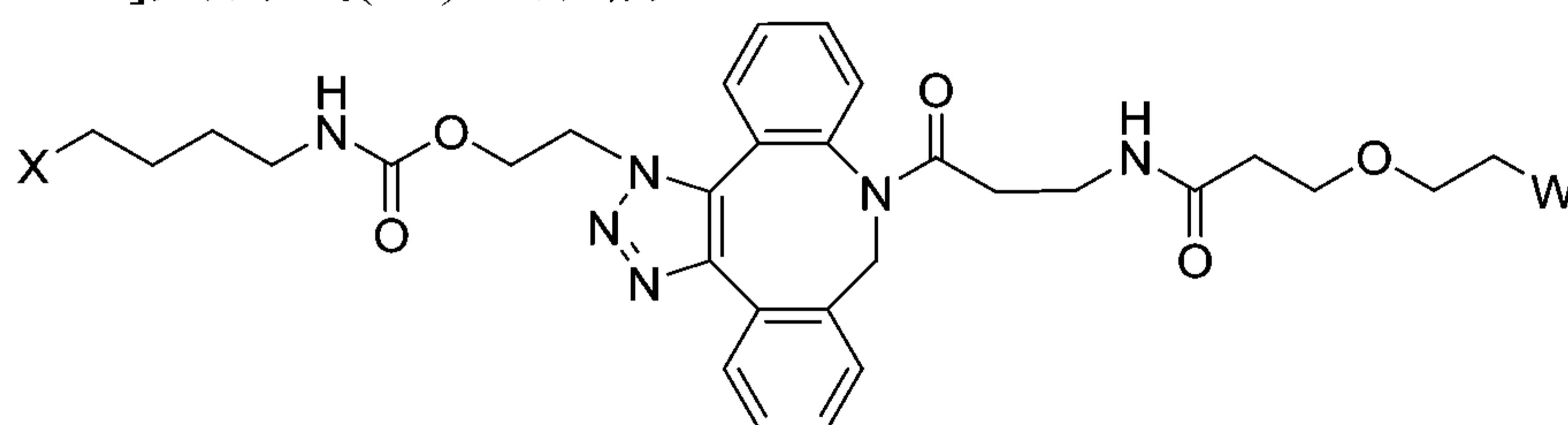
【0524】 具體實例 99. 根據具體實例 97 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列。

【0525】 具體實例 100. 根據具體實例 97 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列。

【0526】 具體實例 101. 根據具體實例 97 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。

【0527】 具體實例 102. 根據具體實例 97 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列。

【0528】 具體實例 103. 根據具體實例 91 或 91.1 之方法，其中該 [AzK\_PEG30kD] 具有式(III)之結構



式(III)；

【0529】 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0530】 具體實例 104. 根據具體實例 103 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。

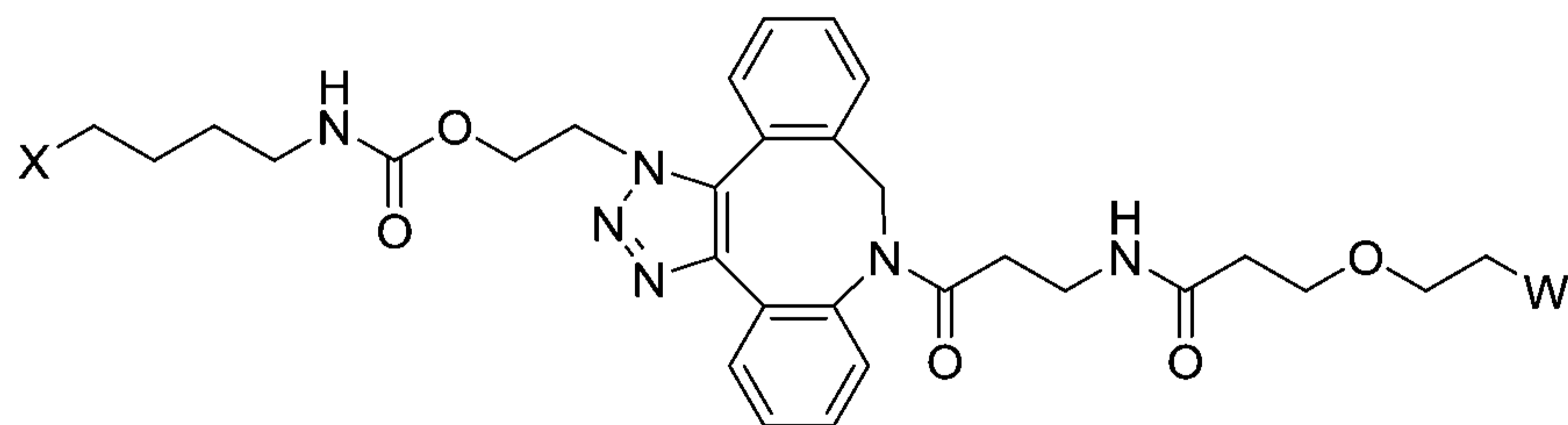
【0531】 具體實例 105. 根據具體實例 103 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列。

【0532】 具體實例 106. 根據具體實例 103 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列。

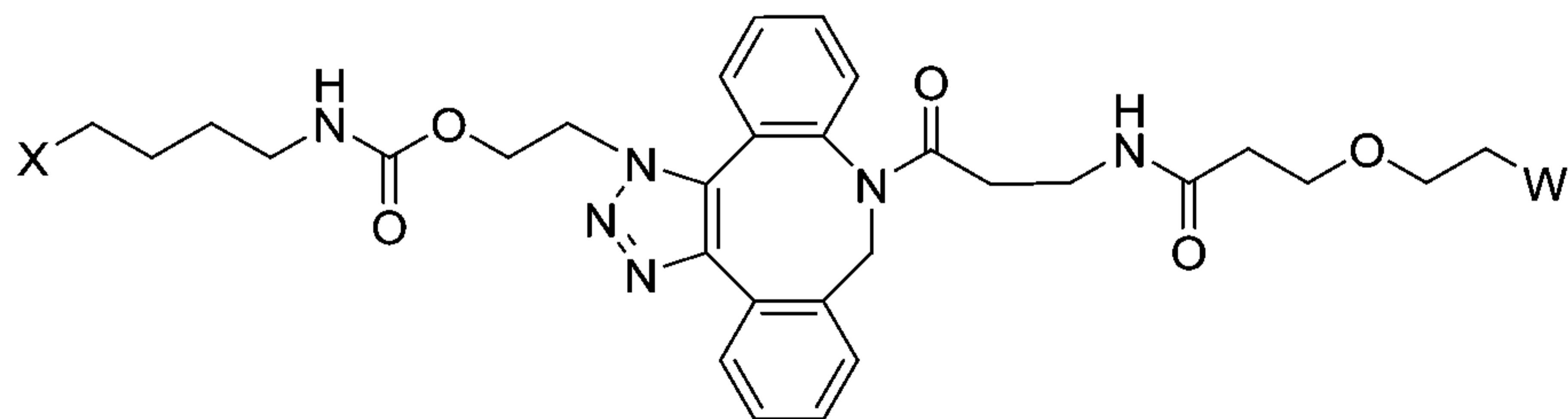
【0533】 具體實例 107. 根據具體實例 103 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。

【0534】 具體實例 108. 根據具體實例 103 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列。

【0535】 具體實例 109. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：15-19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

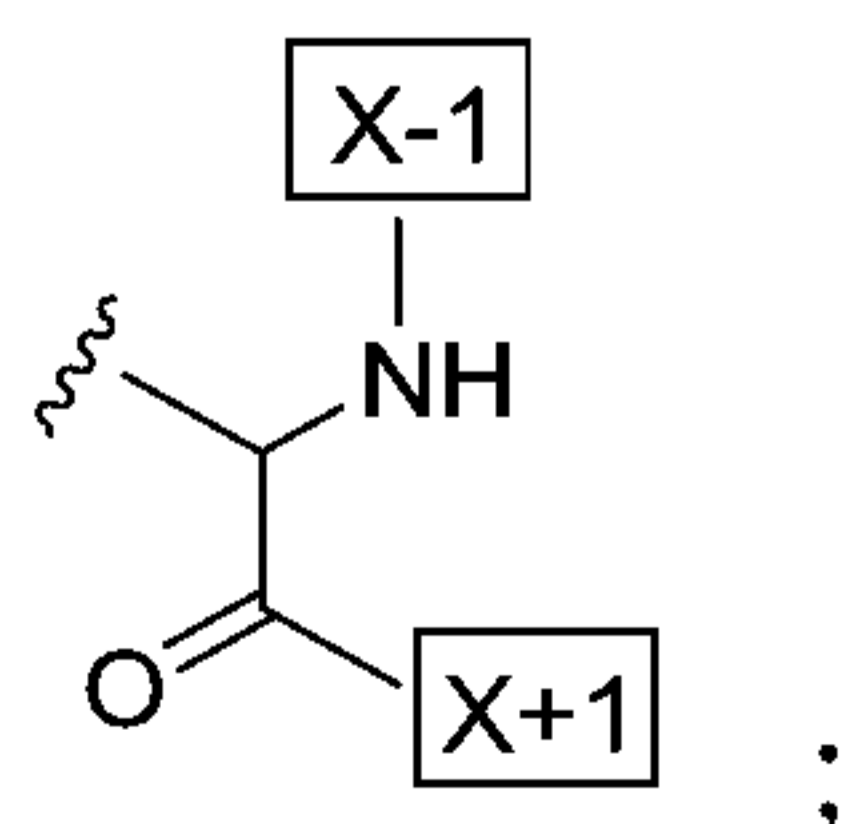


式(III)；

其中：

W 為一具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

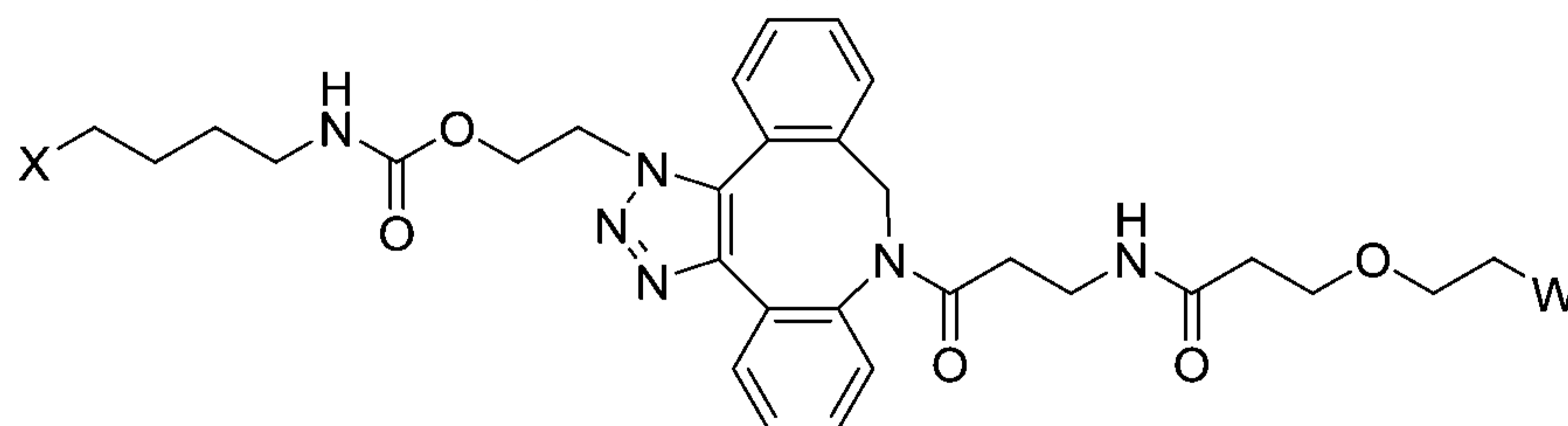
X 具有下列結構：



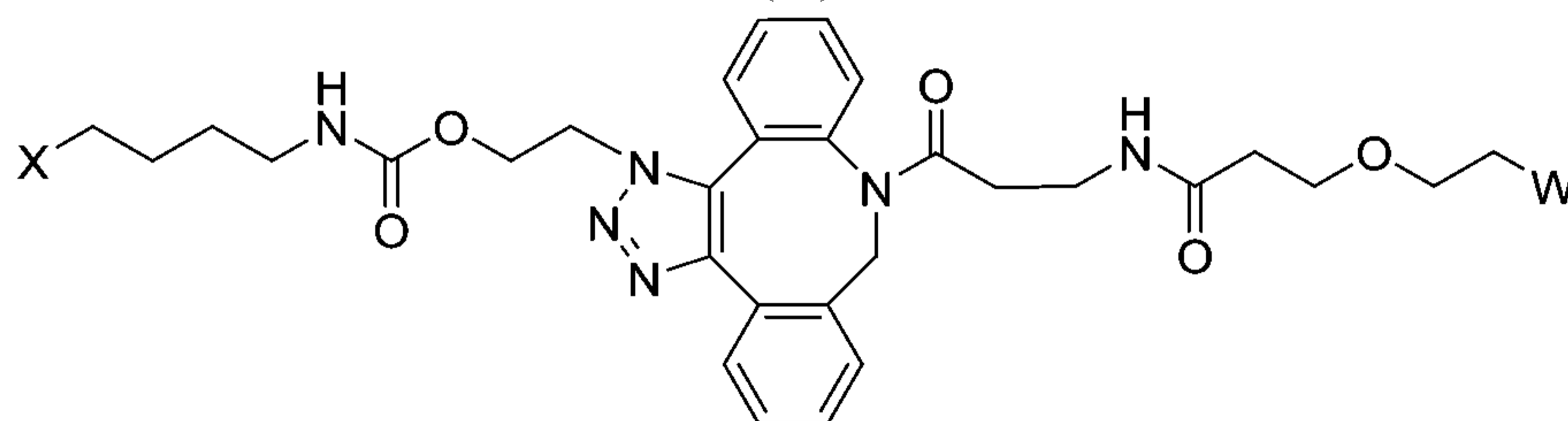


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0536】** 具體實例 109.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：15-19 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG]為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

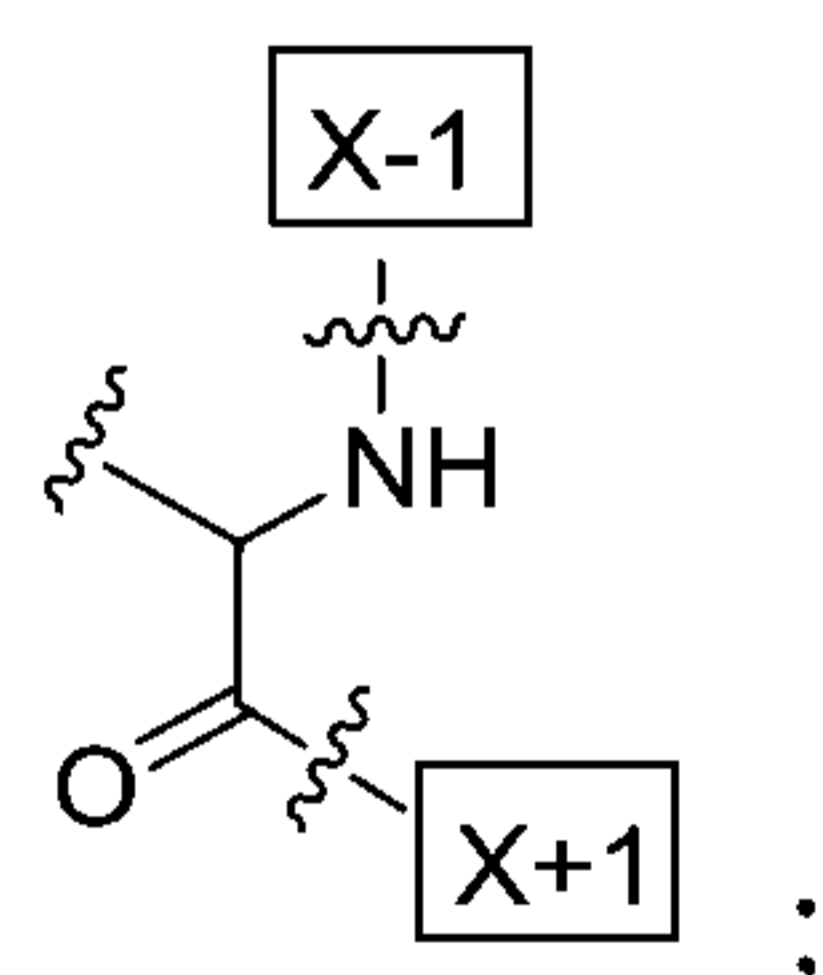


式(III)；

其中：

W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0537】** 具體實例 110. 根據具體實例 109 或 109.1 之方法，其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG]的總量，為約 1：1.

【0538】 具體實例 111. 根據具體實例 109 或 109.1 之方法，其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG]的總量，係大於 1：1。

【0539】 具體實例 112. 根據具體實例 109 或 109.1 之方法，其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG]的總量，係低於 1：1。

【0540】 具體實例 113. 根據具體實例 109 至 112 中任一例之方法，其中 W 為直鏈或支鏈 PEG 基團。

【0541】 具體實例 114. 根據具體實例 109 至 112 中任一例之方法，其中 W 為直鏈 PEG 基團。

【0542】 具體實例 115. 根據具體實例 109 至 112 中任一例之方法，其中 W 為支鏈 PEG 基團。

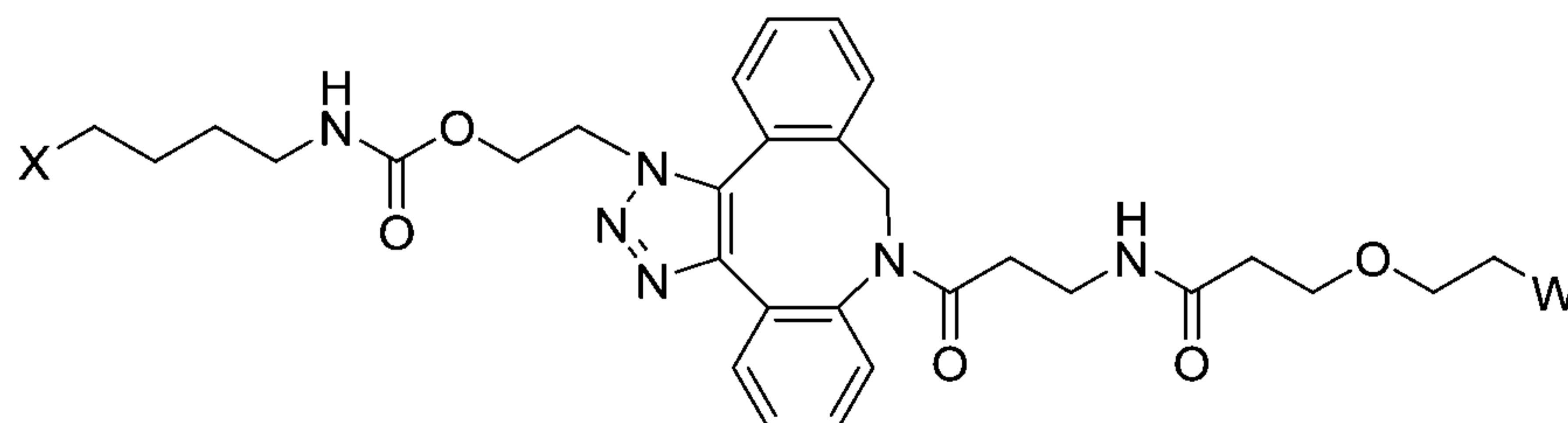
【0543】 具體實例 116. 根據具體實例 109 至 112 中任一例之方法，其中 W 為甲氧基 PEG 基團。

【0544】 具體實例 117. 根據具體實例 116 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈或支鏈。

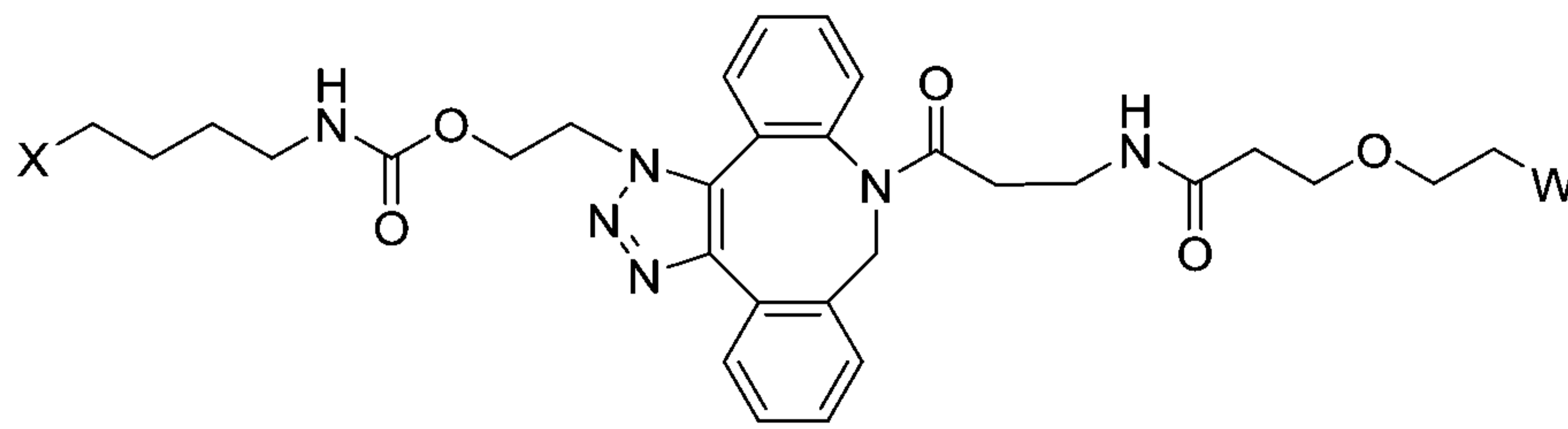
【0545】 具體實例 118. 根據具體實例 117 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈。

【0546】 具體實例 119. 根據具體實例 117 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為支鏈。

【0547】 具體實例 120. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：20 至 24 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG5kD]為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

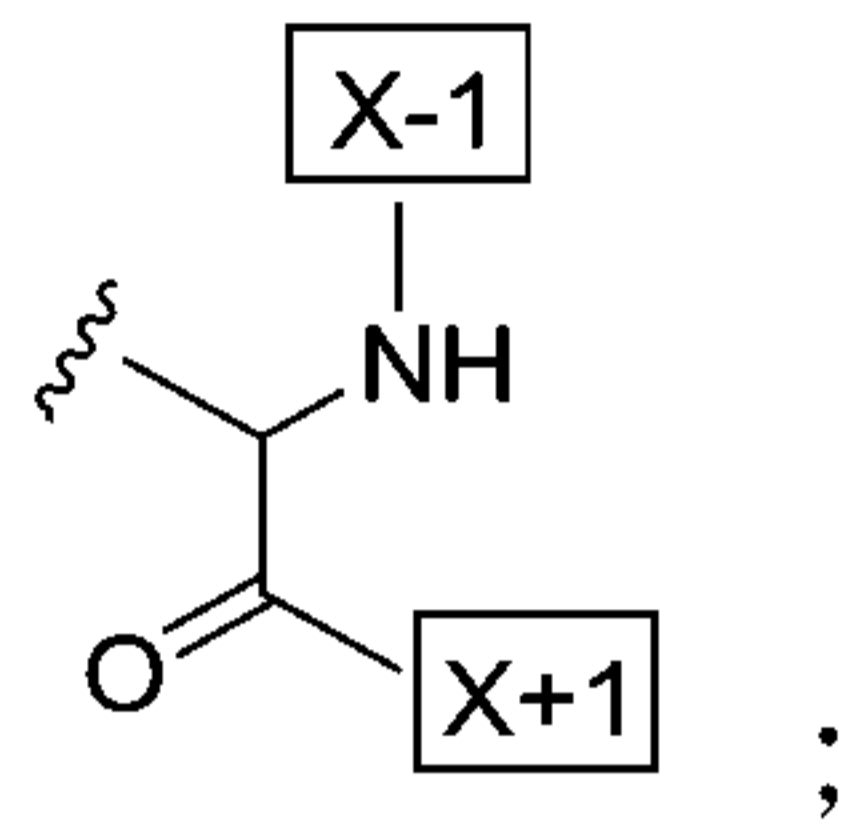


式(III)；

其中：

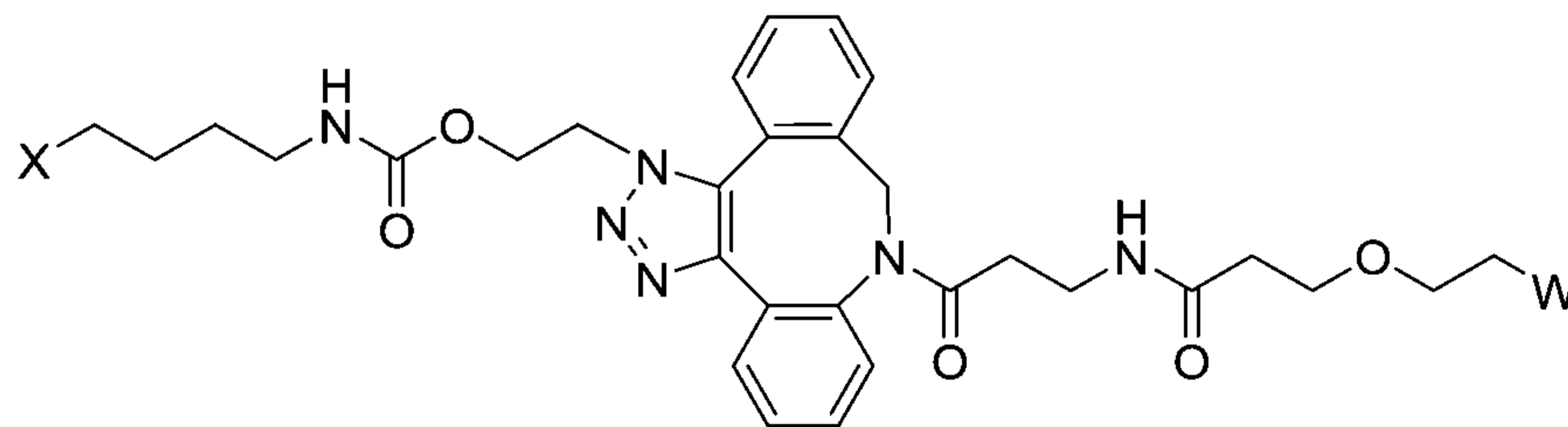
W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：

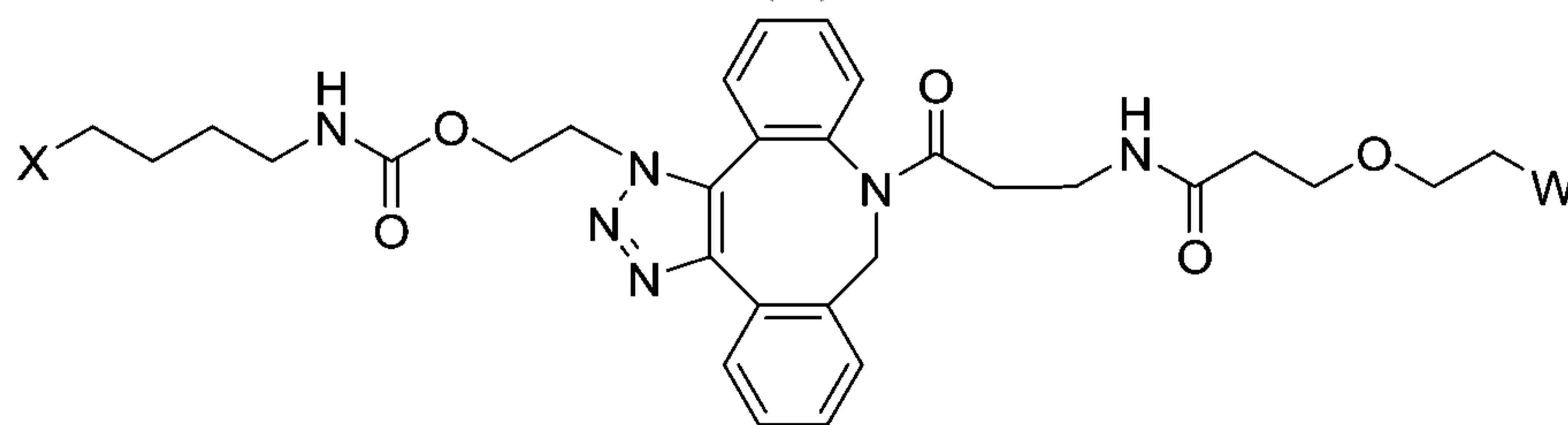


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0548】** 具體實例 120.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：20 至 24 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG5kD]為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

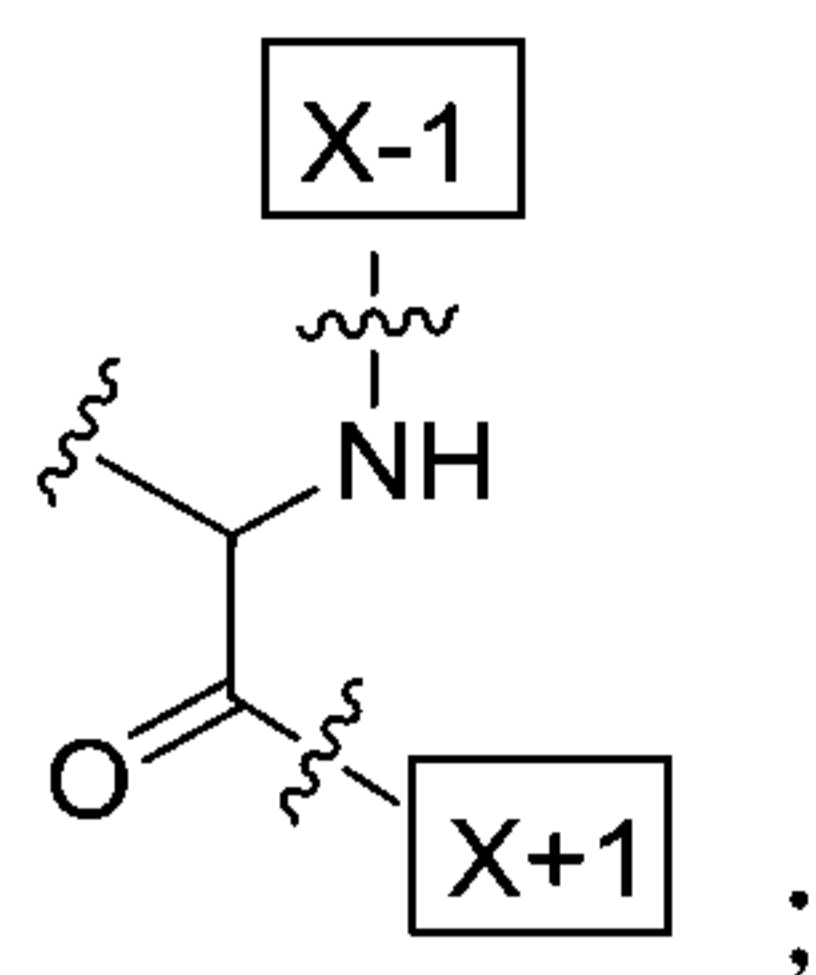


式(III)；

其中：

W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

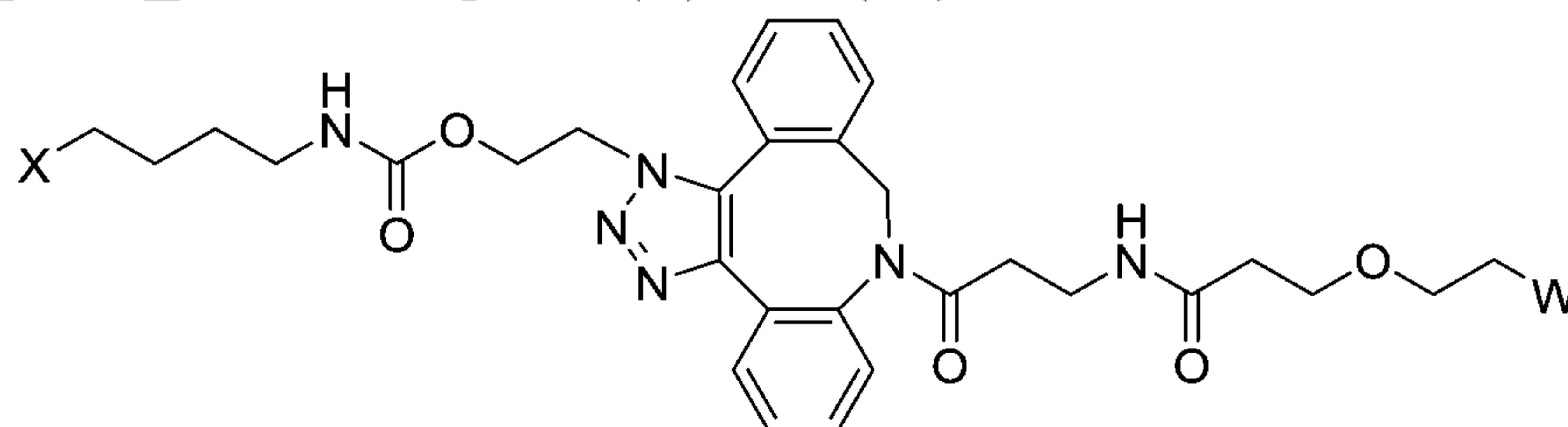
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0549】** 具體實例 121. 根據具體實例 120 或 120.1 之方法，其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG5kD]的總量，為約 1：1

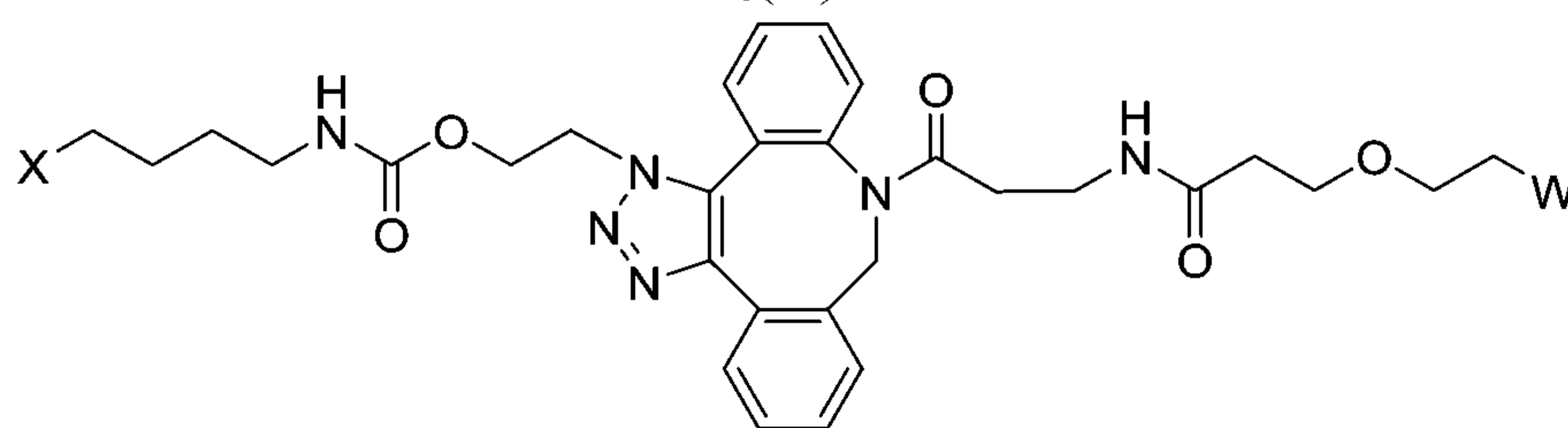
**【0550】** 具體實例 122. 根據具體實例 120 或 120.1 之方法，其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG5kD]的總量，係大於 1：1。

**【0551】** 具體實例 123. 根據具體實例 120 或 120.1 之方法，其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG5kD]的總量，係低於 1：1。

**【0552】** 具體實例 124. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：25-29 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG30kD]為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

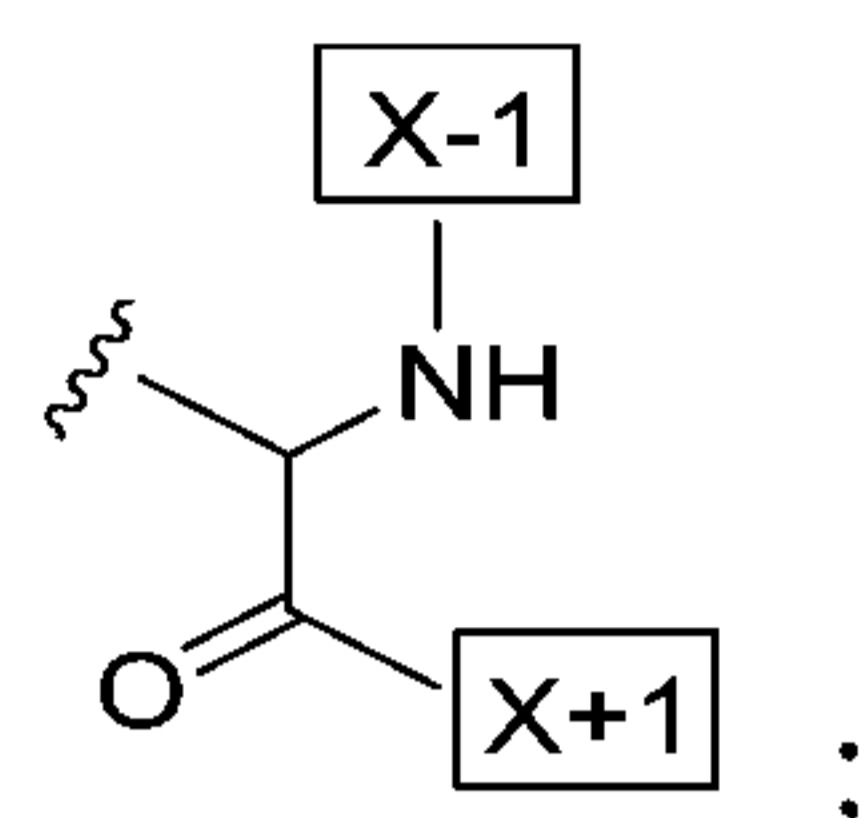


式(III)；

其中：

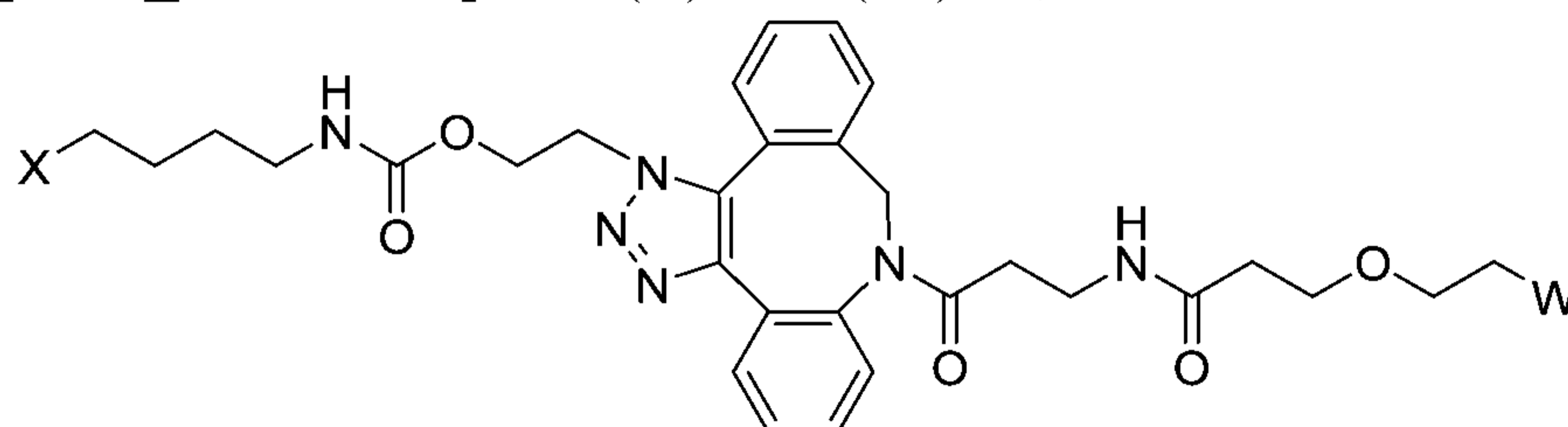
W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：

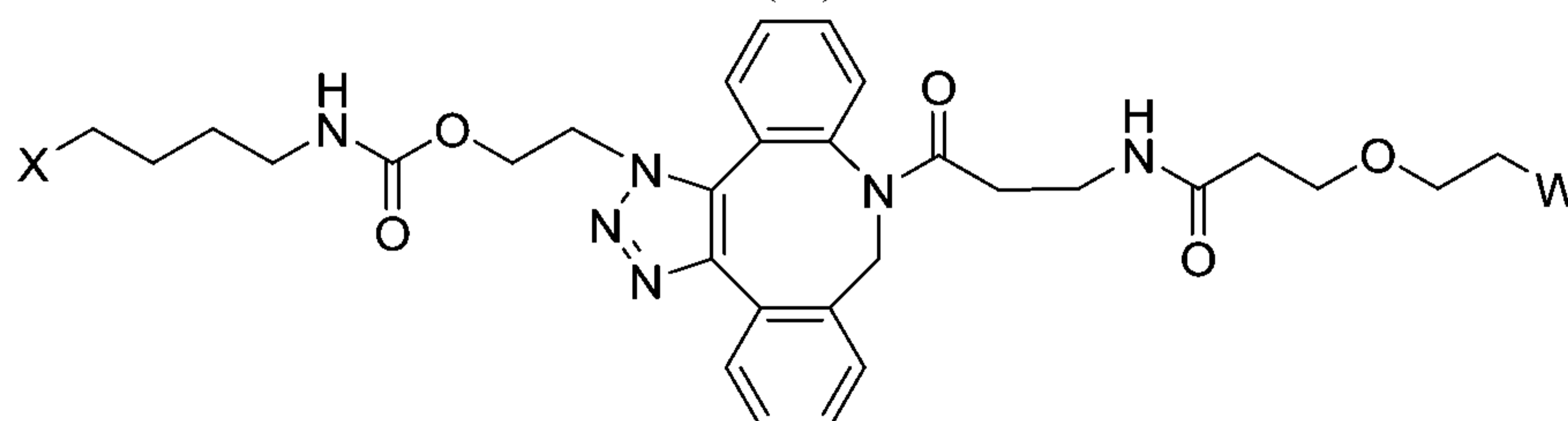


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0553】** 具體實例 124.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：25-29 之胺基酸序列，其中[AzK\_PEG30kD]為式(II)和式(III)結構之混合物：



式(II)；

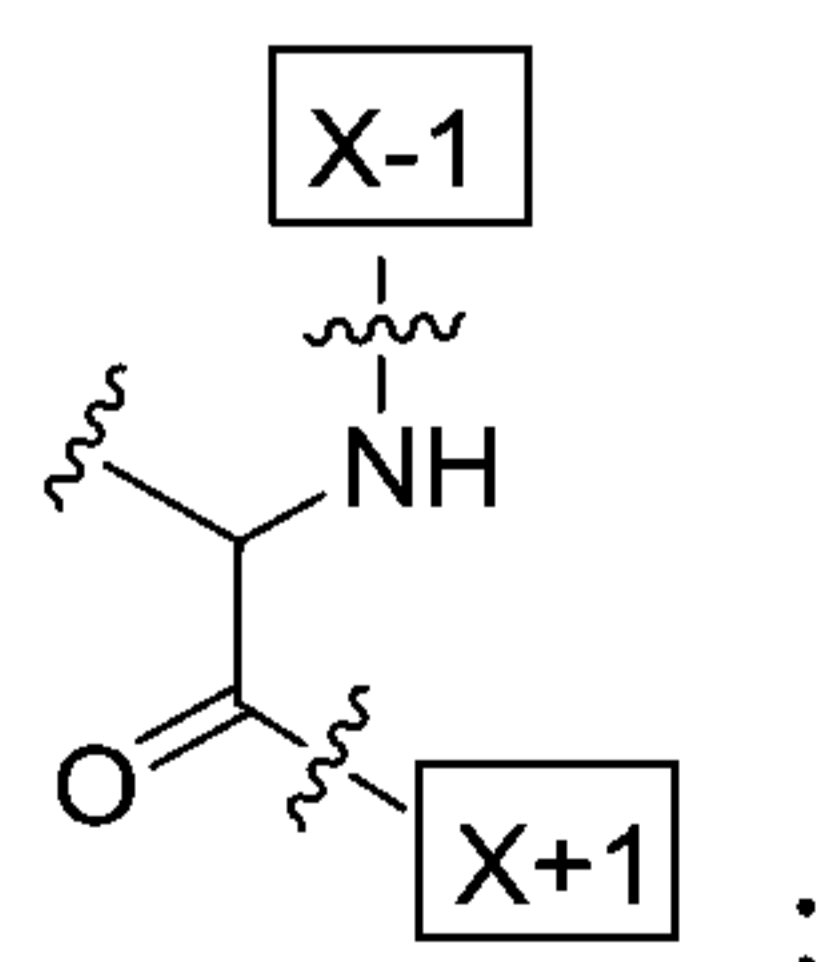


式(III)；

其中：

W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

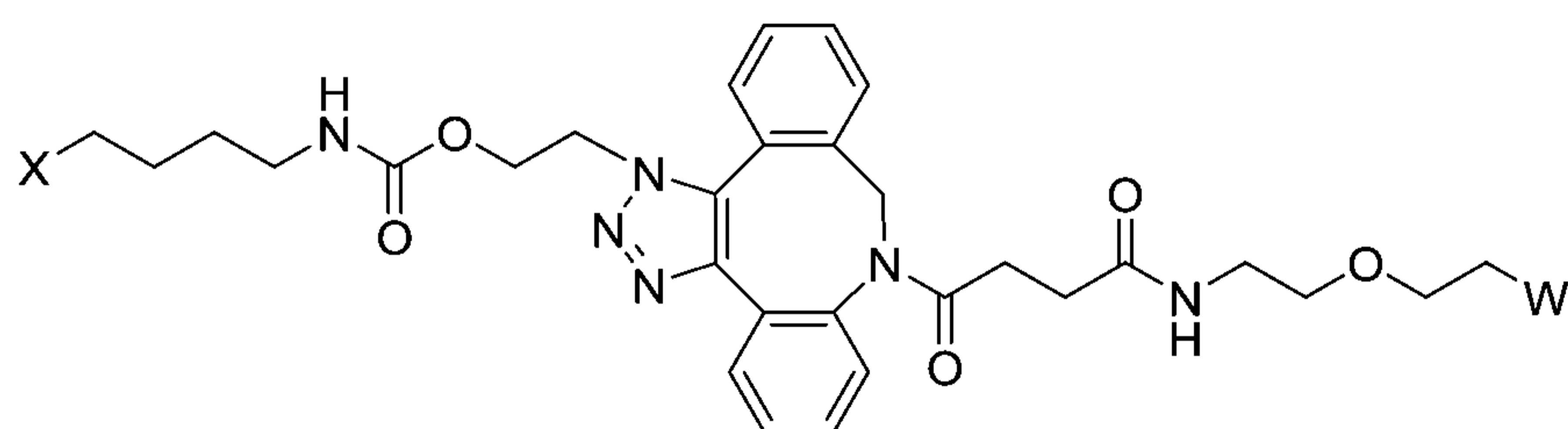
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0554】 具體實例 125. 根據具體實例 124 或 124.1 之方法,其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率,包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG30kD]的總量,為約 1:1.

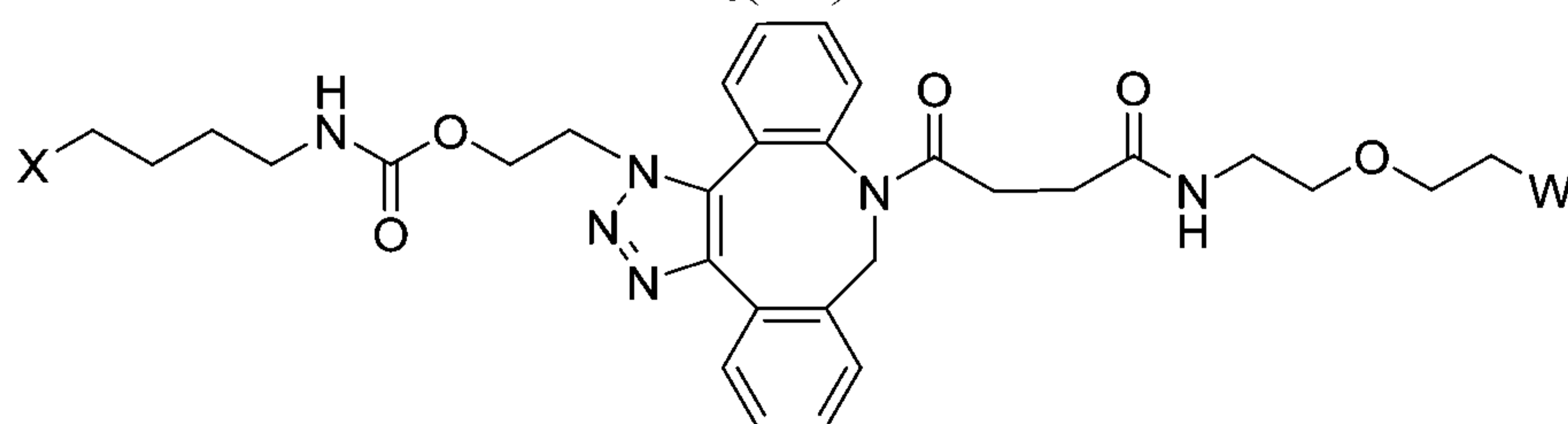
【0555】 具體實例 126. 根據具體實例 124 或 124.1 之方法,其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率,包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG30kD]的總量,係大於 1:1.

【0556】 具體實例 127. 根據具體實例 124 或 124.1 之方法,其中式(II)結構之量與式(III)結構之量的比率,包括 IL-2 接合物中[AzK\_PEG30kD]的總量,係低於 1:1。

【0557】 具體實例 128. 一種於一對象中治療癌症的方法,該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物,及(b)一或多種另外的藥劑,其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS: 40-44 之胺基酸序列,其中[AzK\_L1\_PEG]具有式(IV)或式(V)之結構或式(IV)和式(V)之混合物:



式(IV);

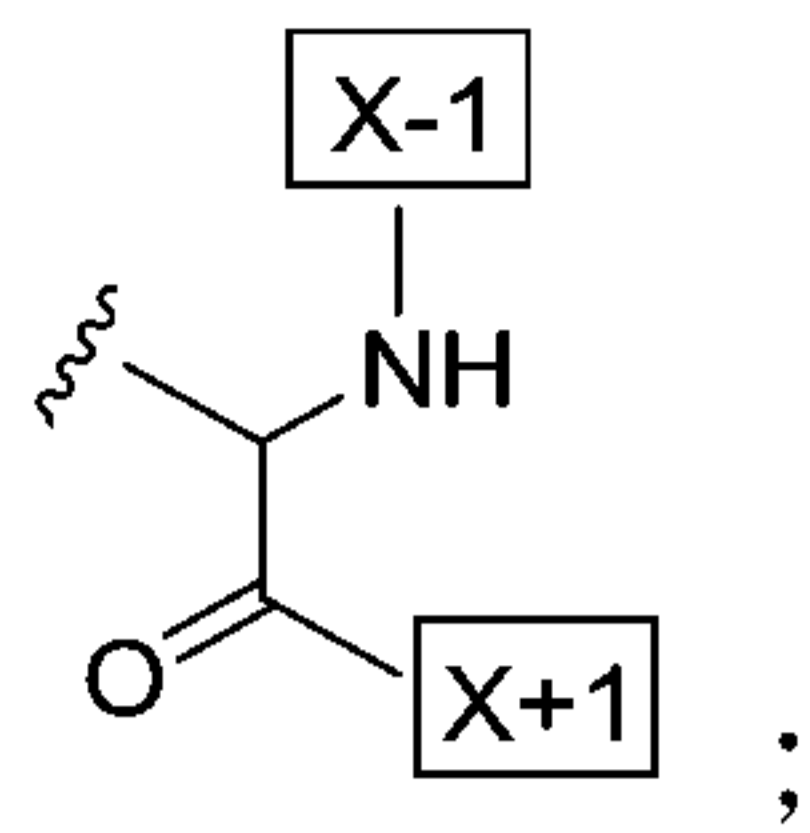


式(V);

其中:

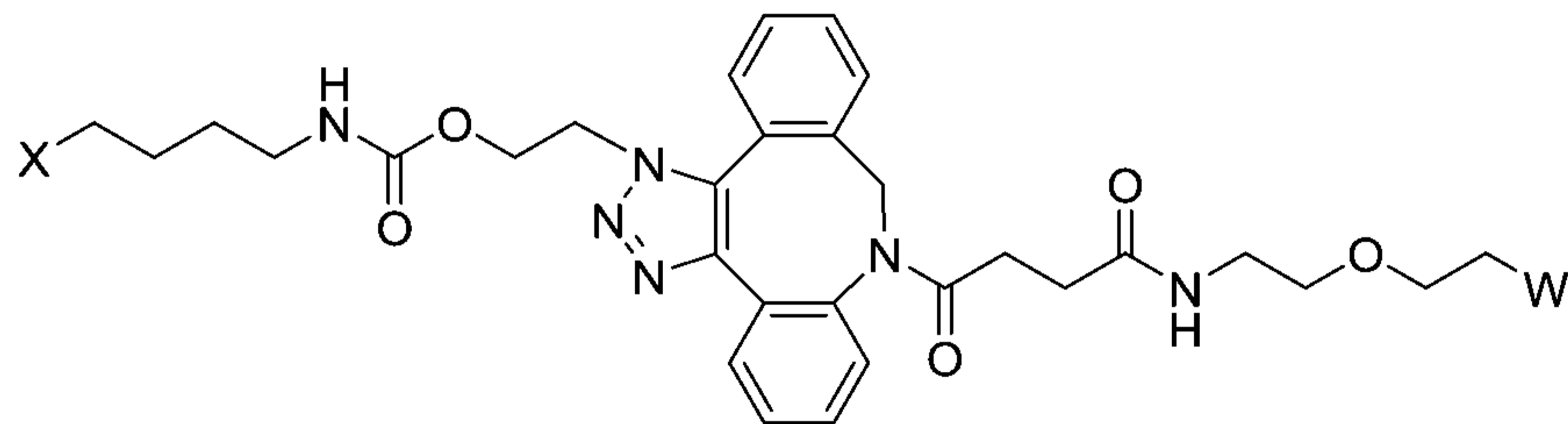
W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團: 5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa; 及

X 具有下列結構:

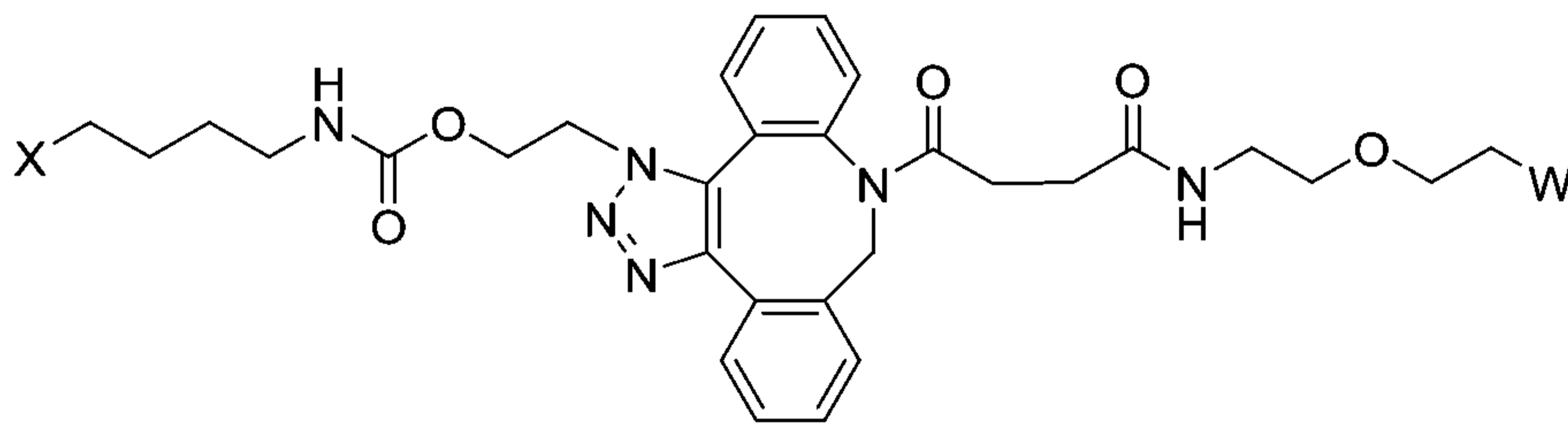


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0558】** 具體實例 128.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：40-44 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG]具有式(IV)或式(V)之結構或式(IV)和式(V)之混合物：



式(IV)；

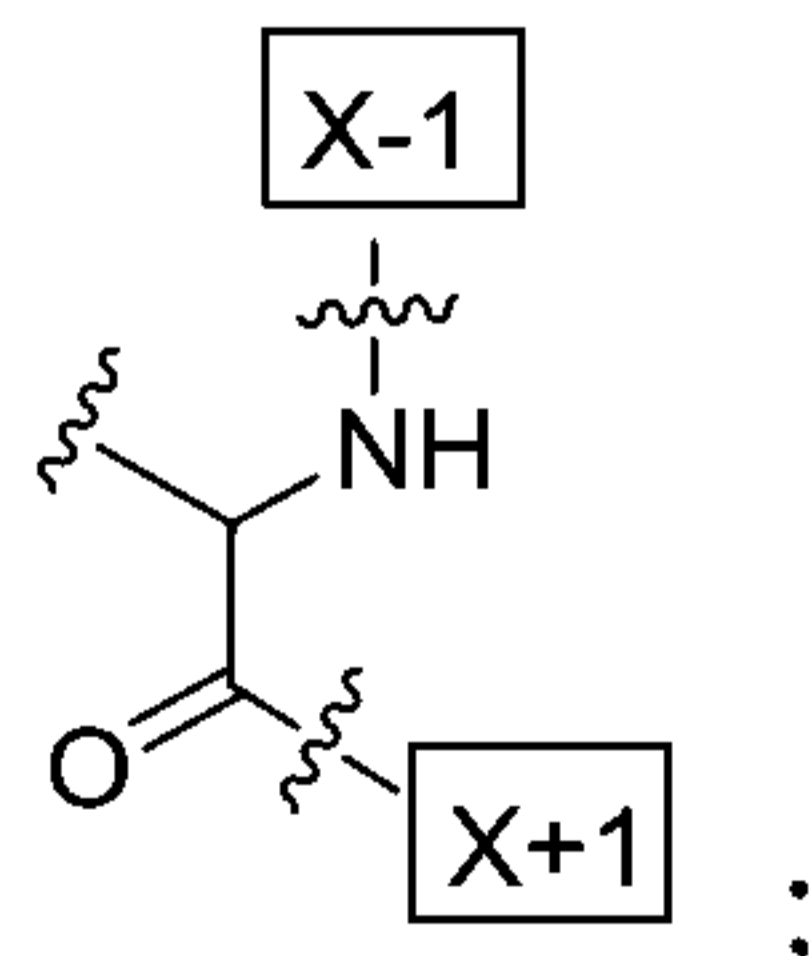


式(V)；

其中：

W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



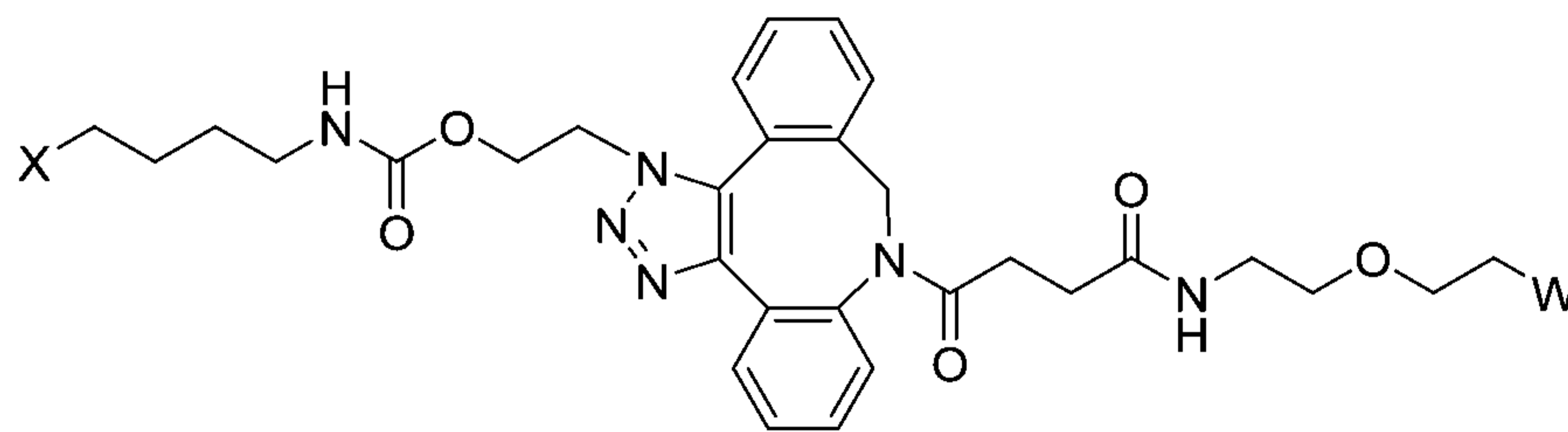
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0559】 具體實例 129. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 [AzK\_L1\_PEG] 為式(IV)和式(V)之混合物。

【0560】 具體實例 130. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 [AzK\_L1\_PEG] 具有式(IV)之結構：



式(IV)；

【0561】 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0562】 具體實例 131. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列。

【0563】 具體實例 132. 根據具體實例 131 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0564】 具體實例 133. 根據具體實例 132 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0565】 具體實例 134. 根據具體實例 133 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0566】 具體實例 135. 根據具體實例 133 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0567】 具體實例 136. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：41 之胺基酸序列。

【0568】 具體實例 137. 根據具體實例 136 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0569】 具體實例 138. 根據具體實例 137 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0570】 具體實例 139. 根據具體實例 138，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。



【0571】 具體實例 140. 根據具體實例 138 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0572】 具體實例 141. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：42 之胺基酸序列。

【0573】 具體實例 142. 根據具體實例 141 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 及 30kDa。

【0574】 具體實例 143. 根據具體實例 142 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0575】 具體實例 144. 根據具體實例 143 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0576】 具體實例 145. 根據具體實例 143 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0577】 具體實例 146. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：43 之胺基酸序列。

【0578】 具體實例 147. 根據具體實例 146，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0579】 具體實例 148. 根據具體實例 147 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0580】 具體實例 149. 根據具體實例 148 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0581】 具體實例 150. 根據具體實例 148 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0582】 具體實例 151. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：44 之胺基酸序列。

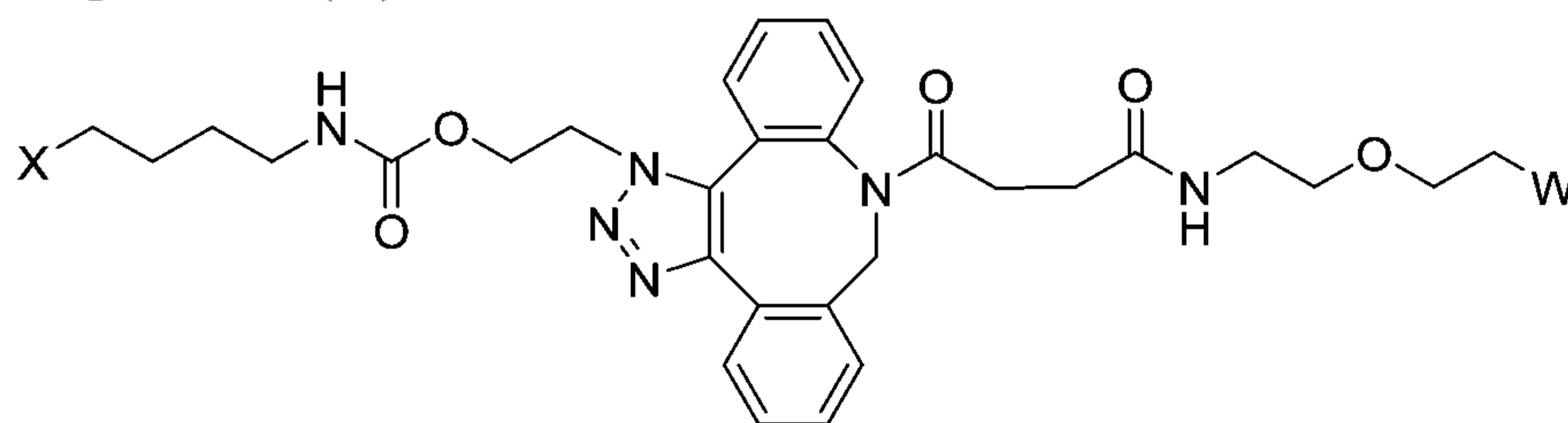
【0583】 具體實例 152. 根據具體實例 151 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0584】 具體實例 153. 根據具體實例 152 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0585】 具體實例 154. 根據具體實例 153 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0586】 具體實例 155. 根據具體實例 153 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0587】 具體實例 156. 根據具體實例 128 或 128.1 之方法，其中該 [AzK\_L1\_PEG] 具有式(V)之結構



式(V)；

【0588】 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0589】 具體實例 157. 根據具體實例 156 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列。

【0590】 具體實例 158. 根據具體實例 156 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 及 30kDa。

【0591】 具體實例 159. 根據具體實例 158 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0592】 具體實例 160. 根據具體實例 159 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0593】 具體實例 161. 根據具體實例 159 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0594】 具體實例 162. 根據具體實例 156 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：41 之胺基酸序列。

【0595】 具體實例 163. 根據具體實例 162 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0596】 具體實例 164. 根據具體實例 163 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0597】 具體實例 165. 根據具體實例 164 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0598】 具體實例 166. 根據具體實例 164 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0599】 具體實例 167. 根據具體實例 156 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：42 之胺基酸序列。

【0600】 具體實例 168. 根據具體實例 167 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0601】 具體實例 169. 根據具體實例 168 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0602】 具體實例 170. 根據具體實例 169 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0603】 具體實例 171. 根據具體實例 169 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0604】 具體實例 172. 根據具體實例 156 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：43 之胺基酸序列。

【0605】 具體實例 173. 根據具體實例 172 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0606】 具體實例 174. 根據具體實例 173 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0607】 具體實例 175. 根據具體實例 174 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0608】 具體實例 176. 根據具體實例 174 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0609】 具體實例 177. 根據具體實例 156 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：44 之胺基酸序列。

【0610】 具體實例 178. 根據具體實例 177 之方法，其中 W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa 和 30kDa。

【0611】 具體實例 179. 根據具體實例 178 之方法，其中 W 為具有選自 5kDa 和 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0612】 具體實例 180. 根據具體實例 179 之方法，其中 W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0613】 具體實例 181. 根據具體實例 179 之方法，其中 W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團。

【0614】 具體實例 182. 根據具體實例 128 至 181 中任一例之方法，其中 W 為直鏈或支鏈 PEG 基團。

【0615】 具體實例 183. 根據具體實例 128 至 181 中任一例之方法，其中 W 為直鏈 PEG 基團。

【0616】 具體實例 184. 根據具體實例 128 至 181 中任一例之方法，其中 W 為支鏈 PEG 基團。

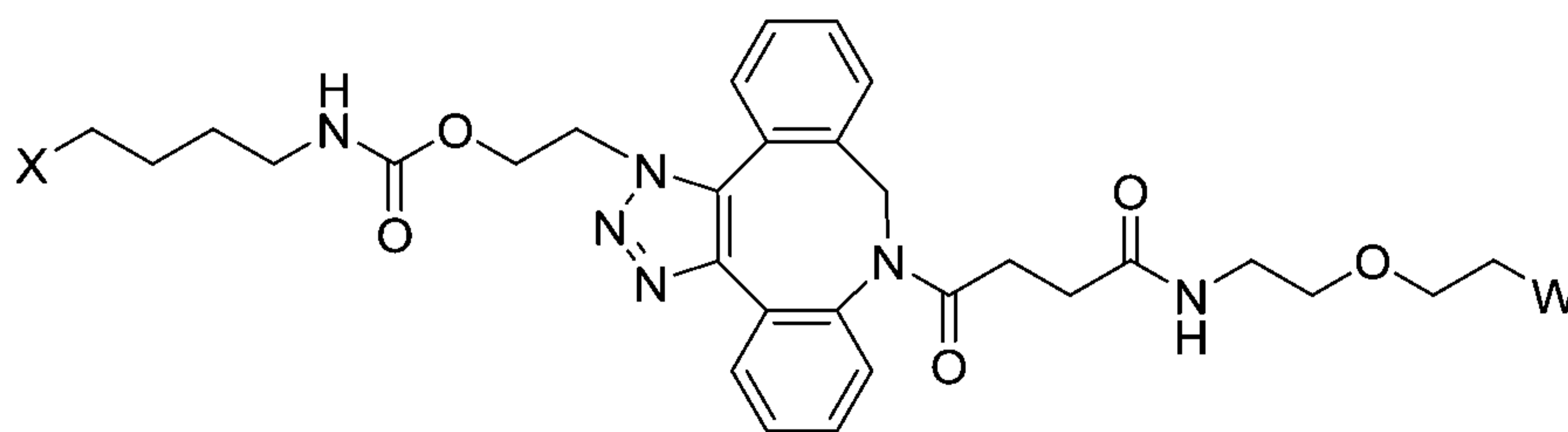
【0617】 具體實例 185. 根據具體實例 128 至 181 中任一例之方法，其中 W 為甲氧基 PEG 基團。

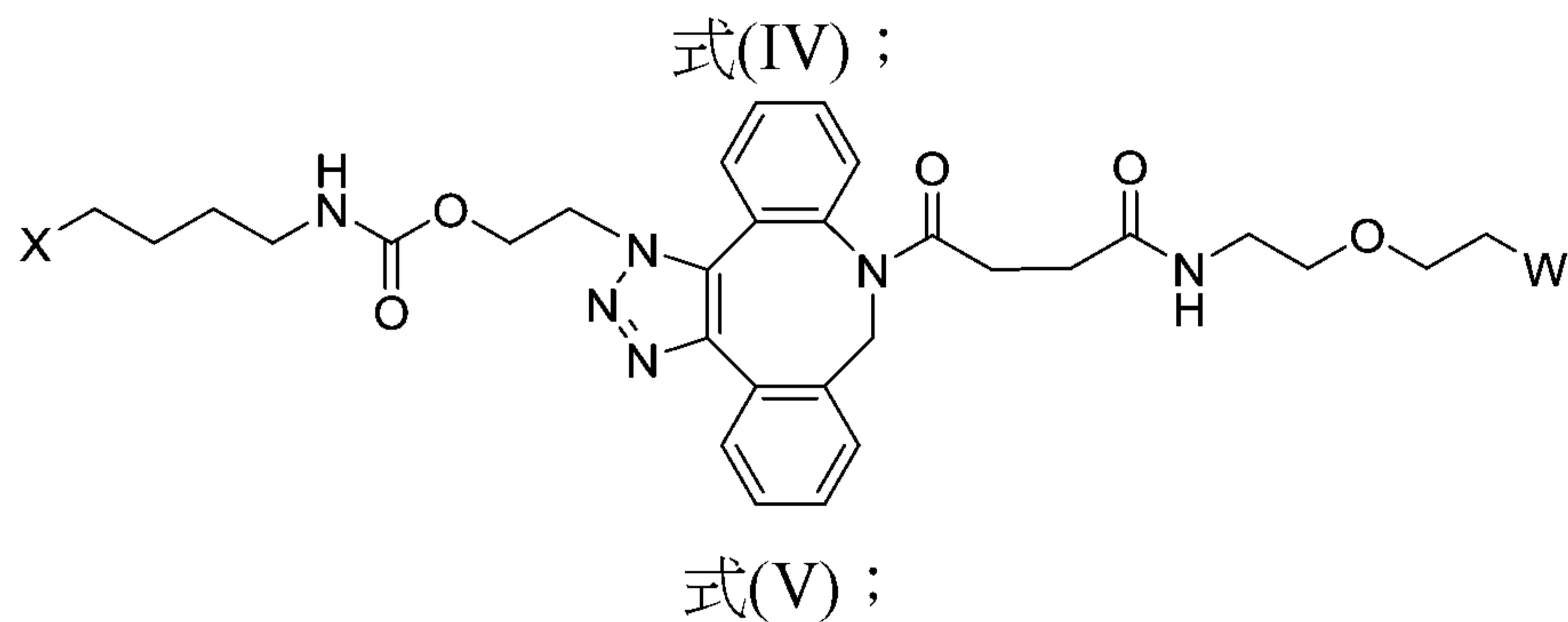
【0618】 具體實例 186. 根據具體實例 185 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈或支鏈。

【0619】 具體實例 187. 根據具體實例 186 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈。

【0620】 具體實例 188. 根據具體實例 186 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為支鏈。

【0621】 具體實例 189. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：45-49 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG5kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或式(IV)和式(V)之混合物：

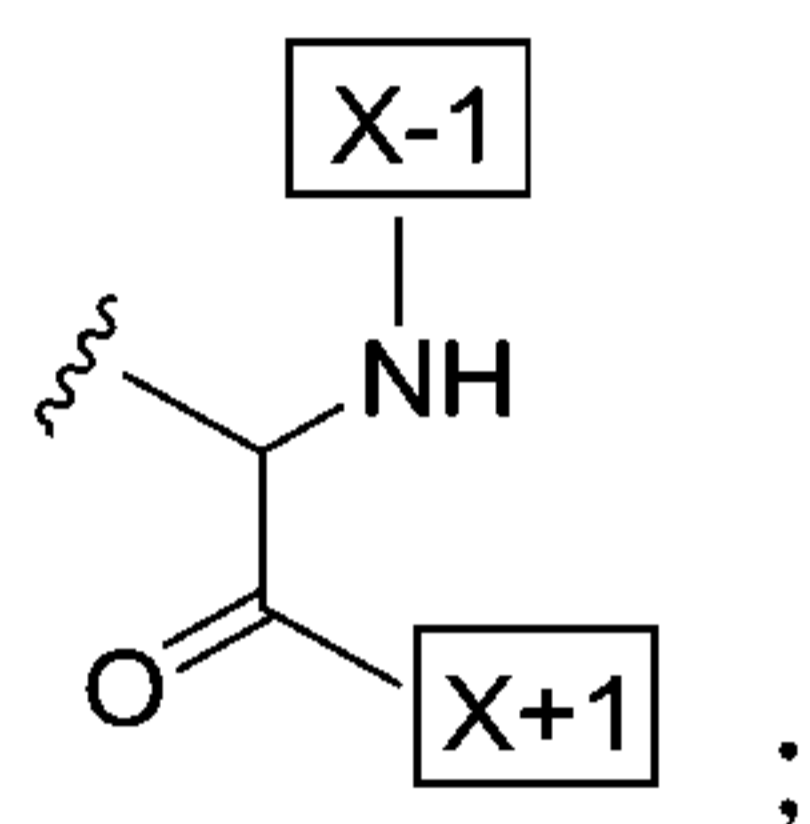




其中：

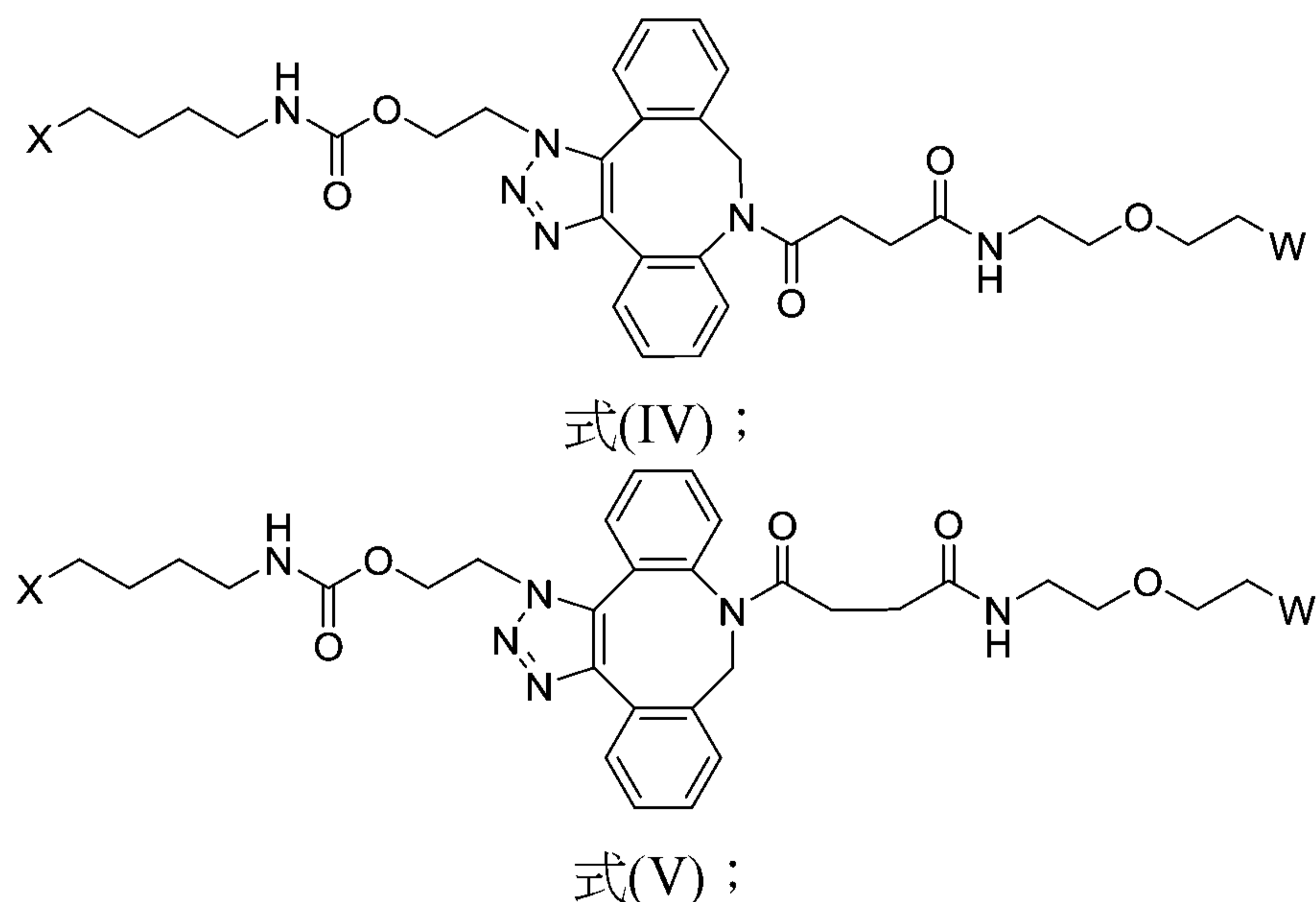
W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

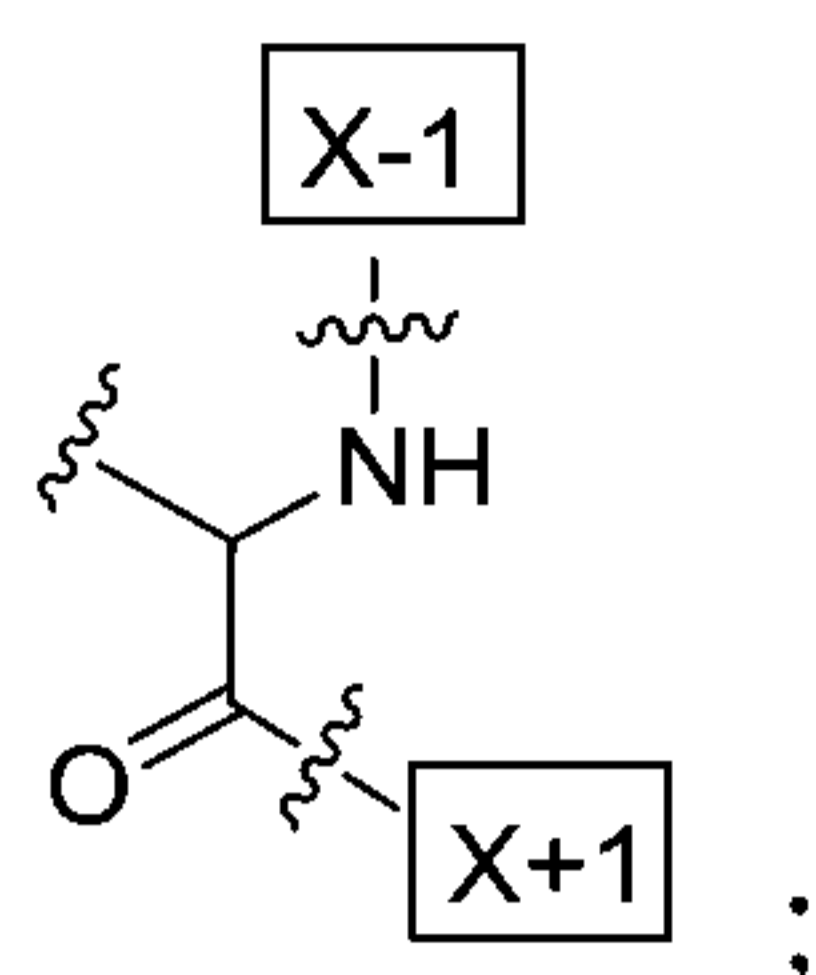
**【0622】** 具體實例 189.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：45-49 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG5kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或式(IV)和式(V)之混合物：



其中：

W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0623】** 具體實例 190. 根據具體實例 189 或 189.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列。

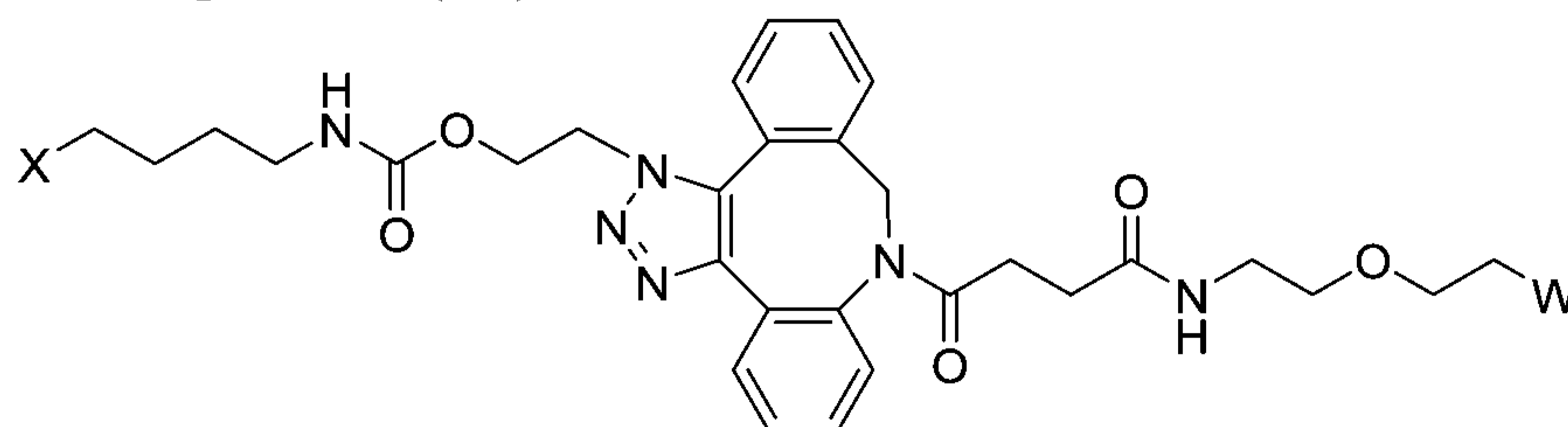
**【0624】** 具體實例 191. 根據具體實例 189 或 189.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：46 之胺基酸序列。

**【0625】** 具體實例 192. 根據具體實例 189 或 189.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：47 之胺基酸序列。

**【0626】** 具體實例 193. 根據具體實例 189 或 189.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：48 之胺基酸序列。

**【0627】** 具體實例 194. 根據具體實例 189 或 189.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：49 之胺基酸序列。

**【0628】** 具體實例 195. 根據具體實例 189 或 189.1 之方法，其中該 [AzK\_L1\_PEG5kD] 具有式(IV)之結構



式(IV)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0629】** 具體實例 196. 根據具體實例 195 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列。

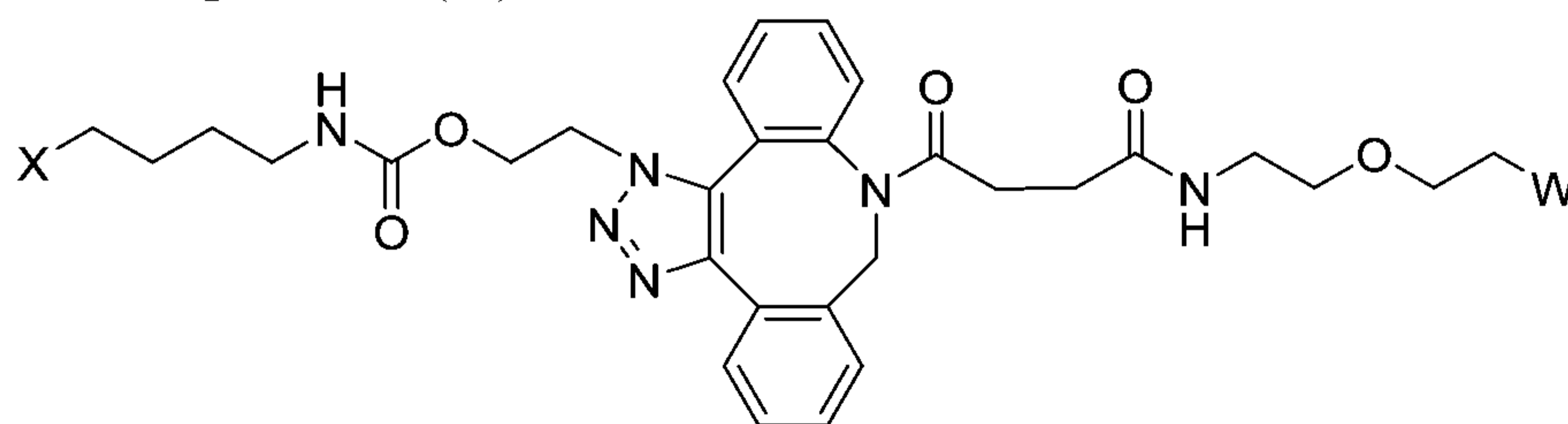
**【0630】** 具體實例 197. 根據具體實例 195 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：46 之胺基酸序列。

【0631】 具體實例 198. 根據具體實例 195 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：47 之胺基酸序列。

【0632】 具體實例 199. 根據具體實例 195 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：48 之胺基酸序列。

【0633】 具體實例 200. 根據具體實例 195 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：49 之胺基酸序列。

【0634】 具體實例 201. 根據具體實例 189 或 189.1 之方法，其中該 [AzK\_L1\_PEG5kD]具有式(V)之結構



式(V)；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0635】 具體實例 202. 根據具體實例 201 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列。

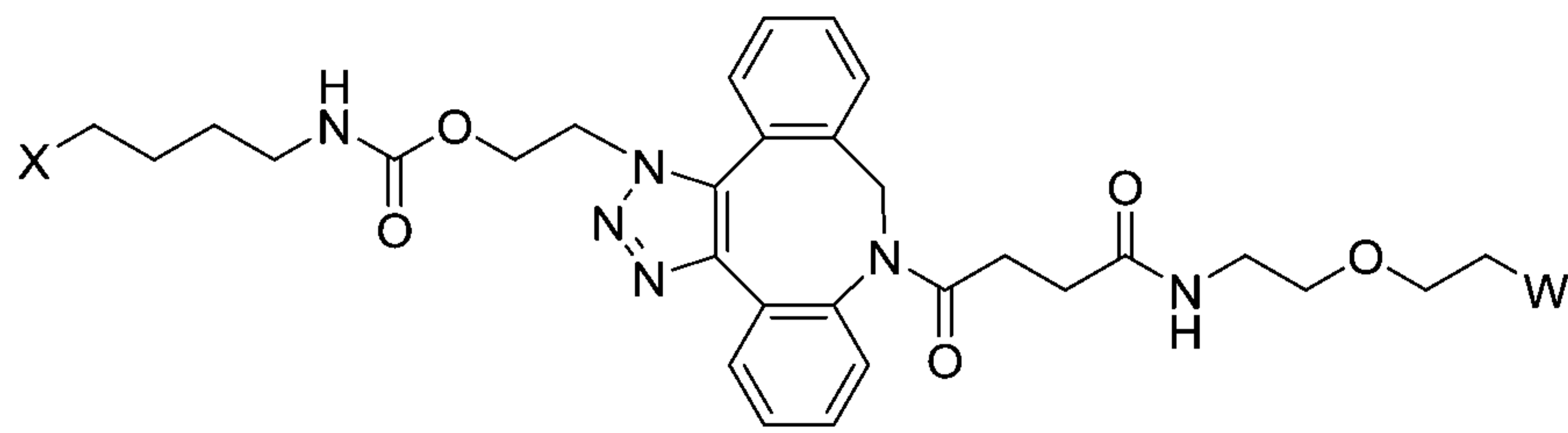
【0636】 具體實例 203. 根據具體實例 201 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：46 之胺基酸序列。

【0637】 具體實例 204. 根據具體實例 201 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：47 之胺基酸序列。

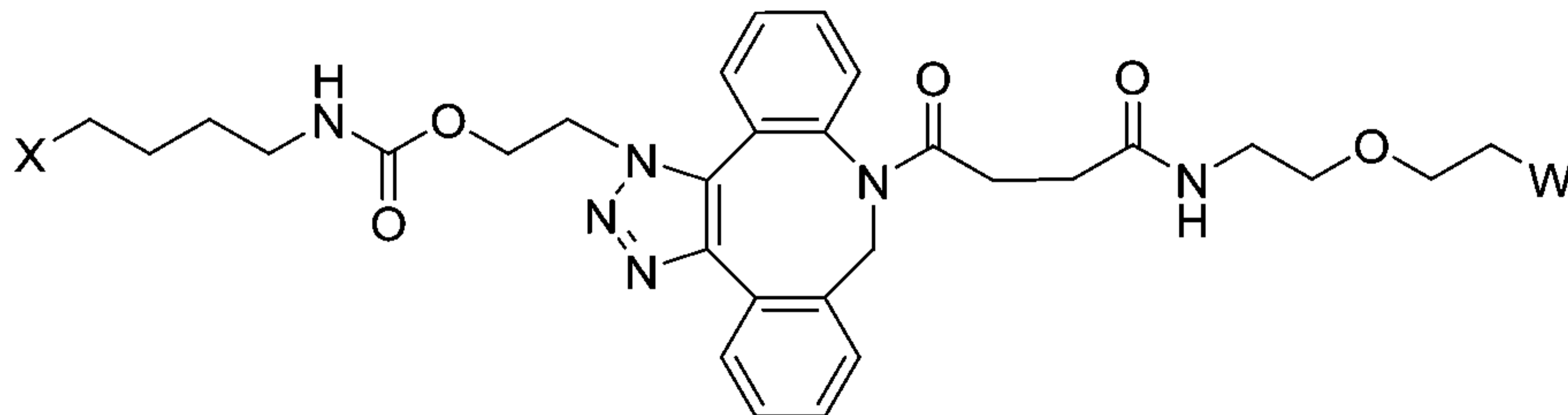
【0638】 具體實例 205. 根據具體實例 201 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：48 之胺基酸序列。

【0639】 具體實例 206. 根據具體實例 201 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：49 之胺基酸序列。

【0640】 具體實例 207. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：50-54 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG30kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；

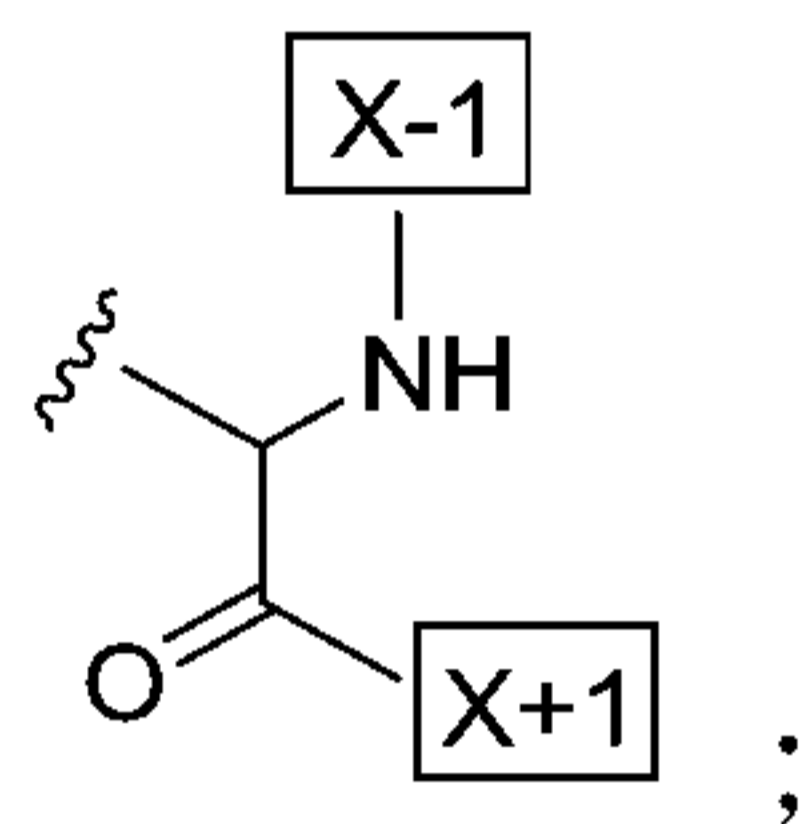


式(V)；

其中：

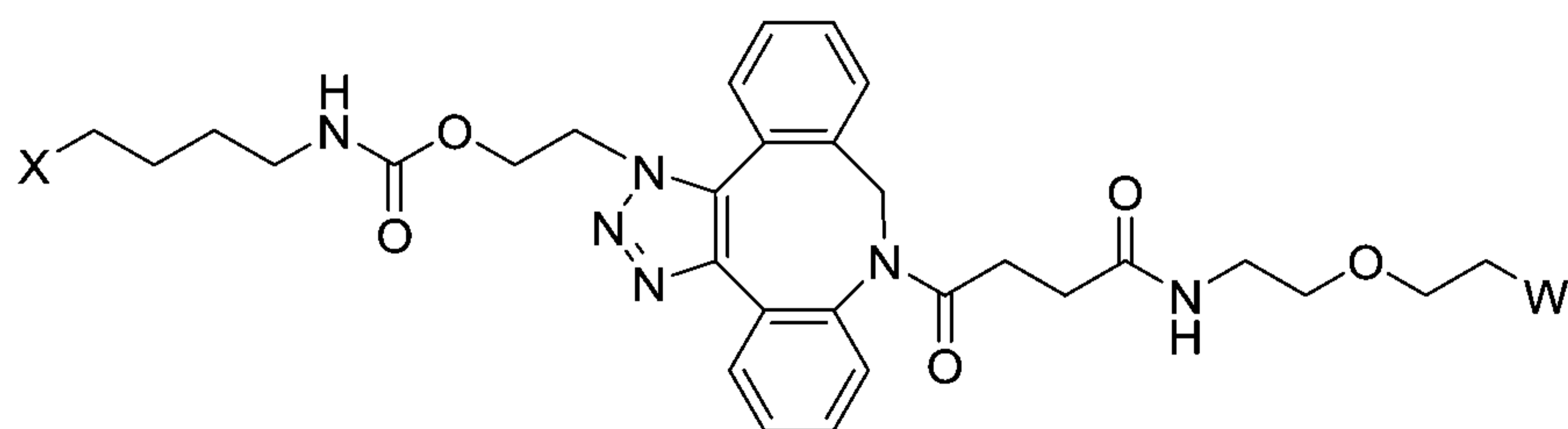
W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



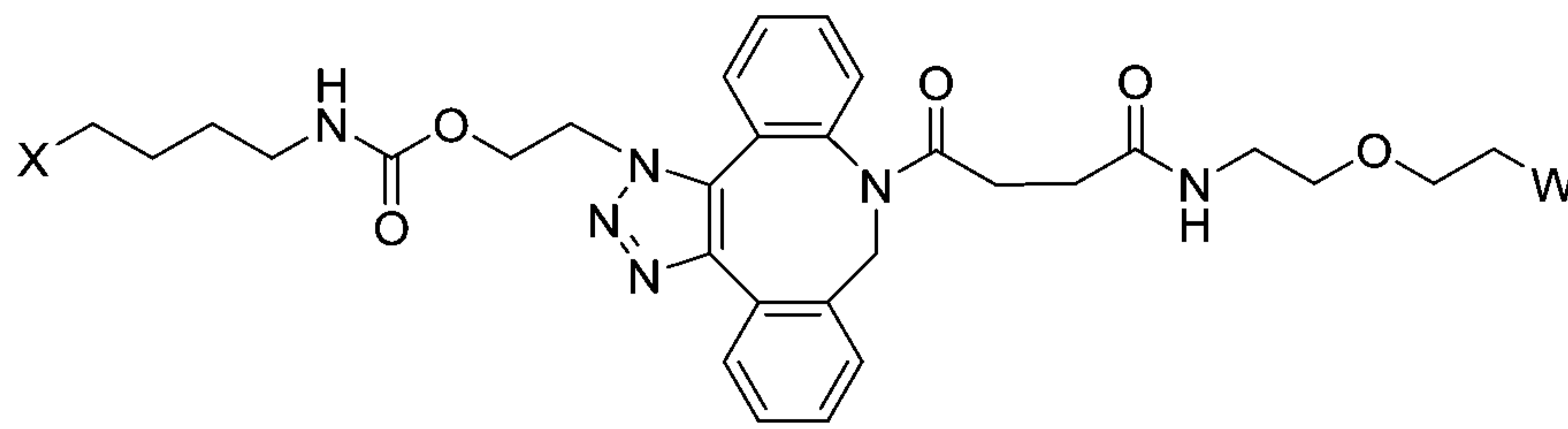
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0641】** 具體實例 207.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：50-54 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG30kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；



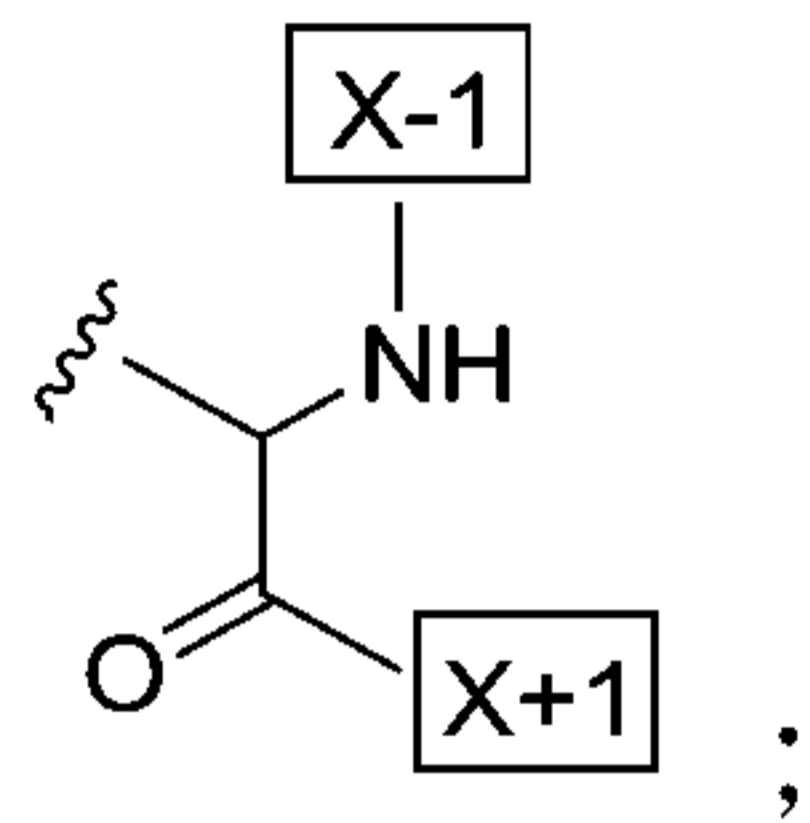


式(V)；

其中：

W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0642】 具體實例 208. 根據具體實例 207 或 207.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列。

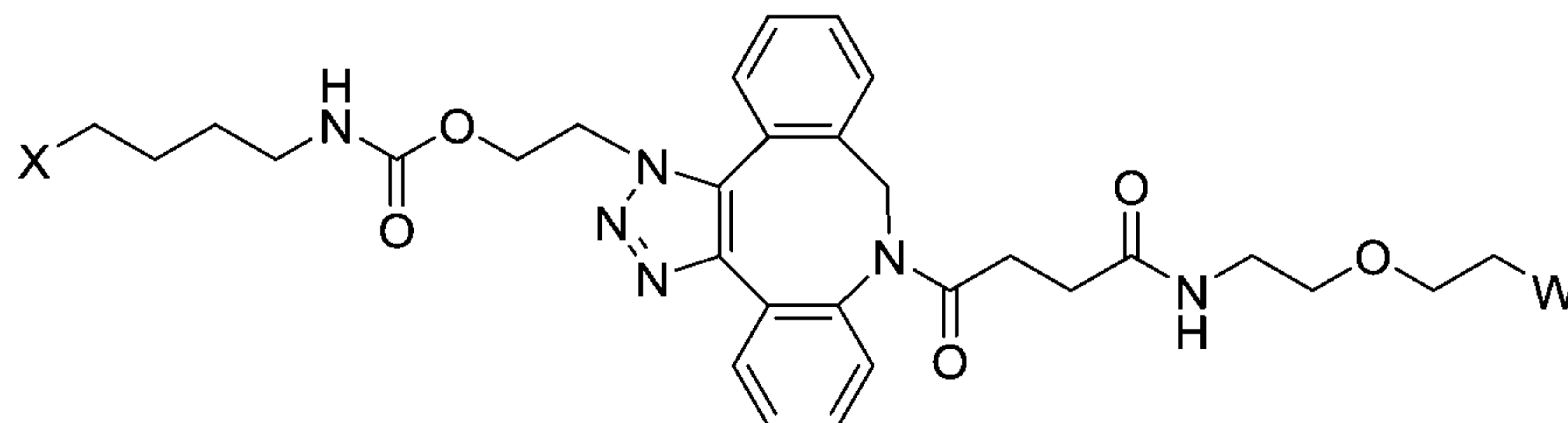
【0643】 具體實例 209. 根據具體實例 207 或 207.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列。

【0644】 具體實例 210. 根據具體實例 207 或 207.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列。

【0645】 具體實例 211. 根據具體實例 207 或 207.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列。

【0646】 具體實例 212. 根據具體實例 207 或 207.1 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列。

【0647】 具體實例 213. 根據具體實例 207 或 207.1 之方法，其中該 [AzK\_L1\_PEG30kD] 具有式(IV)之結構：



式(IV)；

【0648】 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0649】 具體實例 214. 根據具體實例 213 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列。

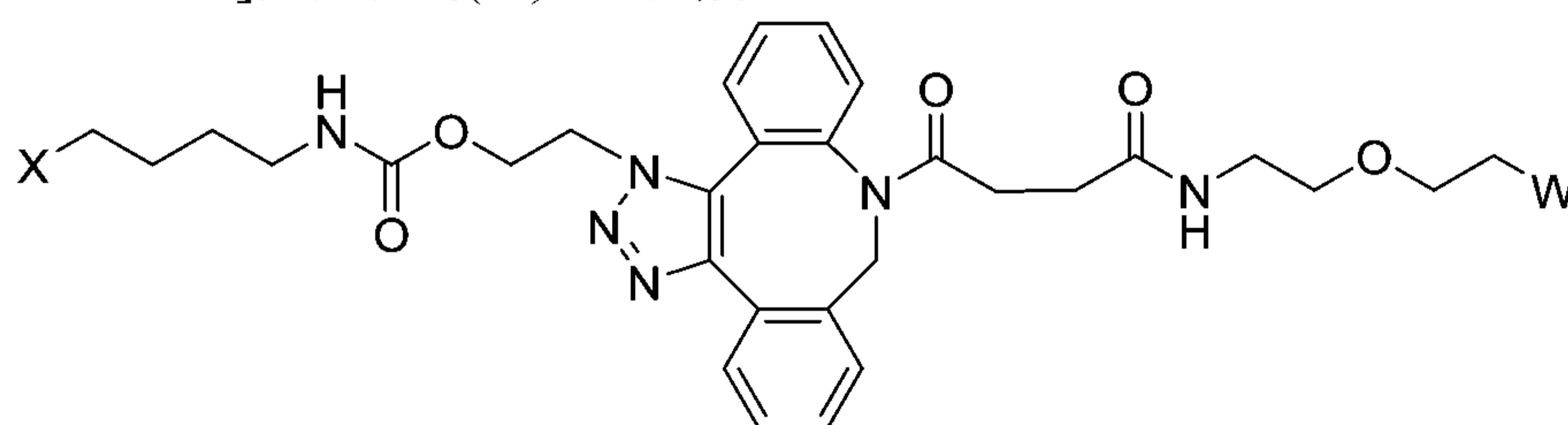
【0650】 具體實例 215. 根據具體實例 213 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列。

【0651】 具體實例 216. 根據具體實例 213 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列。

【0652】 具體實例 217. 根據具體實例 213 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列。

【0653】 具體實例 218. 根據具體實例 213 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列。

【0654】 具體實例 219. 根據具體實例 207 或 207.1 之方法，其中該 [AzK\_L1\_PEG30kD]具有式(V)之結構



式(V)；

【0655】 或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0656】 具體實例 220. 根據具體實例 219 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列。

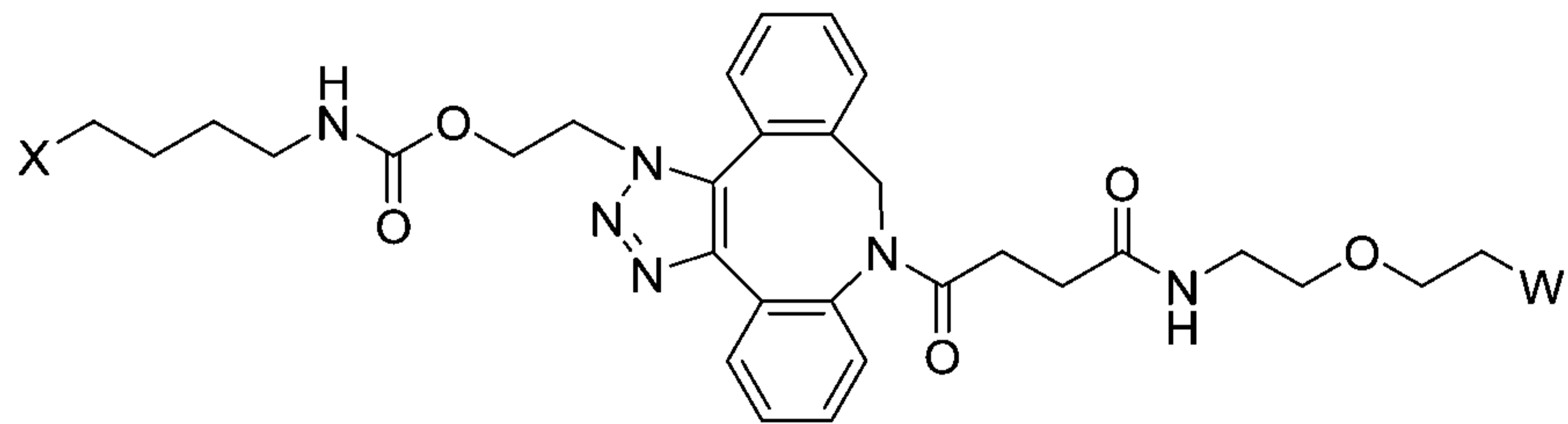
【0657】 具體實例 221. 根據具體實例 219 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列。

【0658】 具體實例 222. 根據具體實例 219 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列。

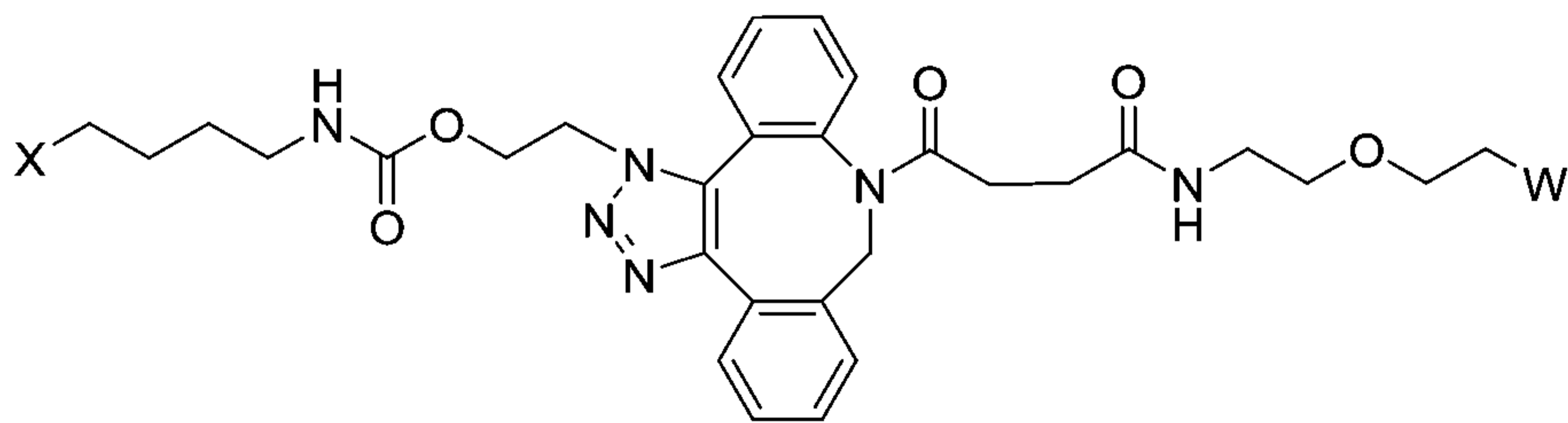
【0659】 具體實例 223. 根據具體實例 219 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列。

【0660】 具體實例 224. 根據具體實例 219 之方法，其中該 IL-2 接合物具有 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列。

【0661】 具體實例 225. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：40-44 之胺基酸序列，其中[Azk\_L1\_PEG]為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；

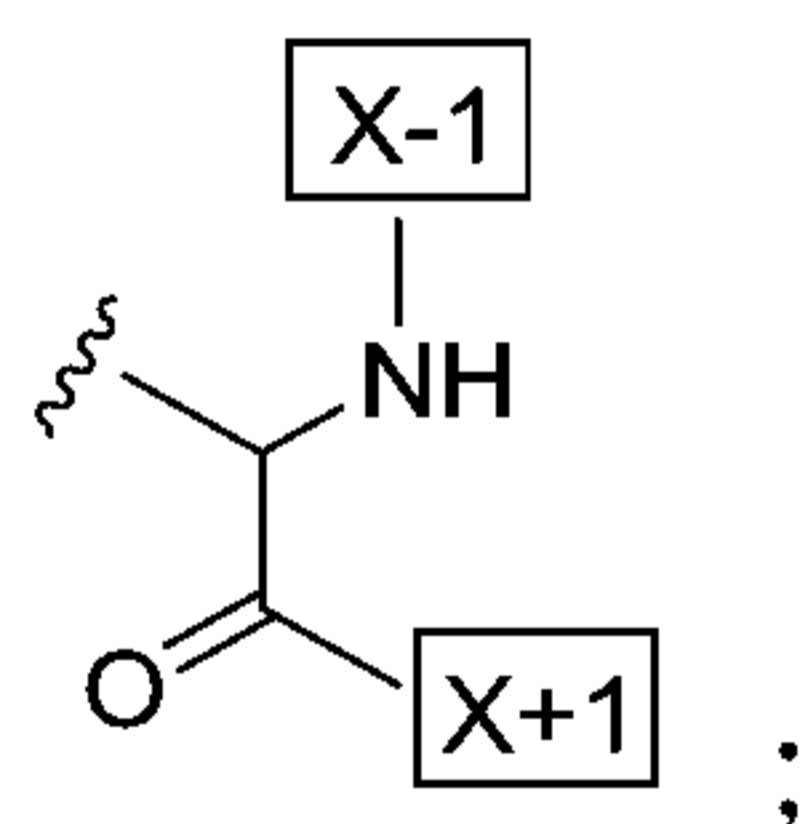


式(V)；

其中：

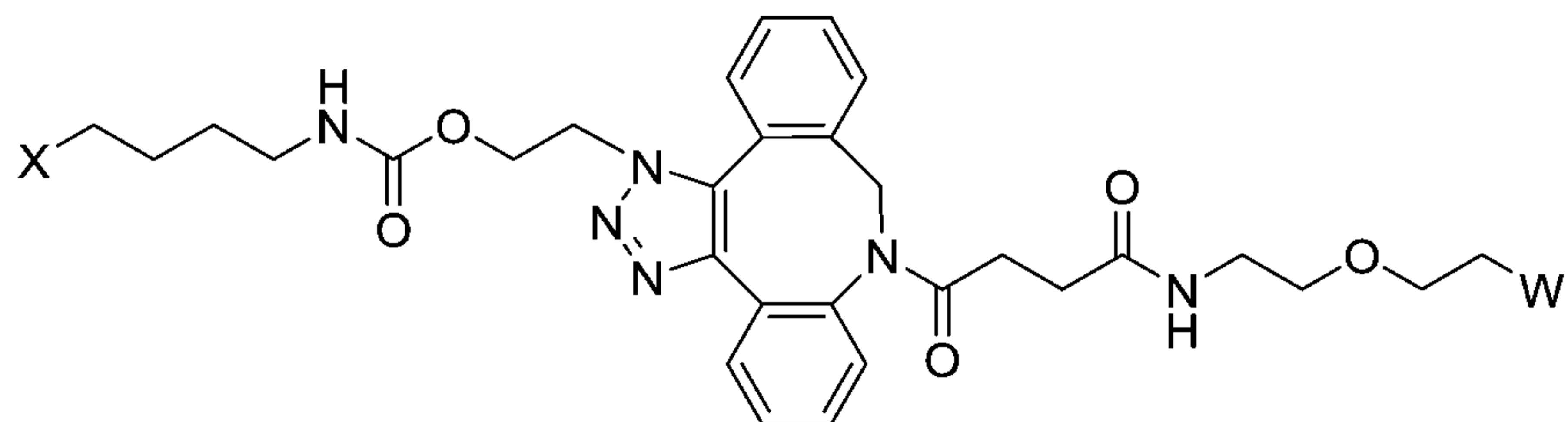
W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

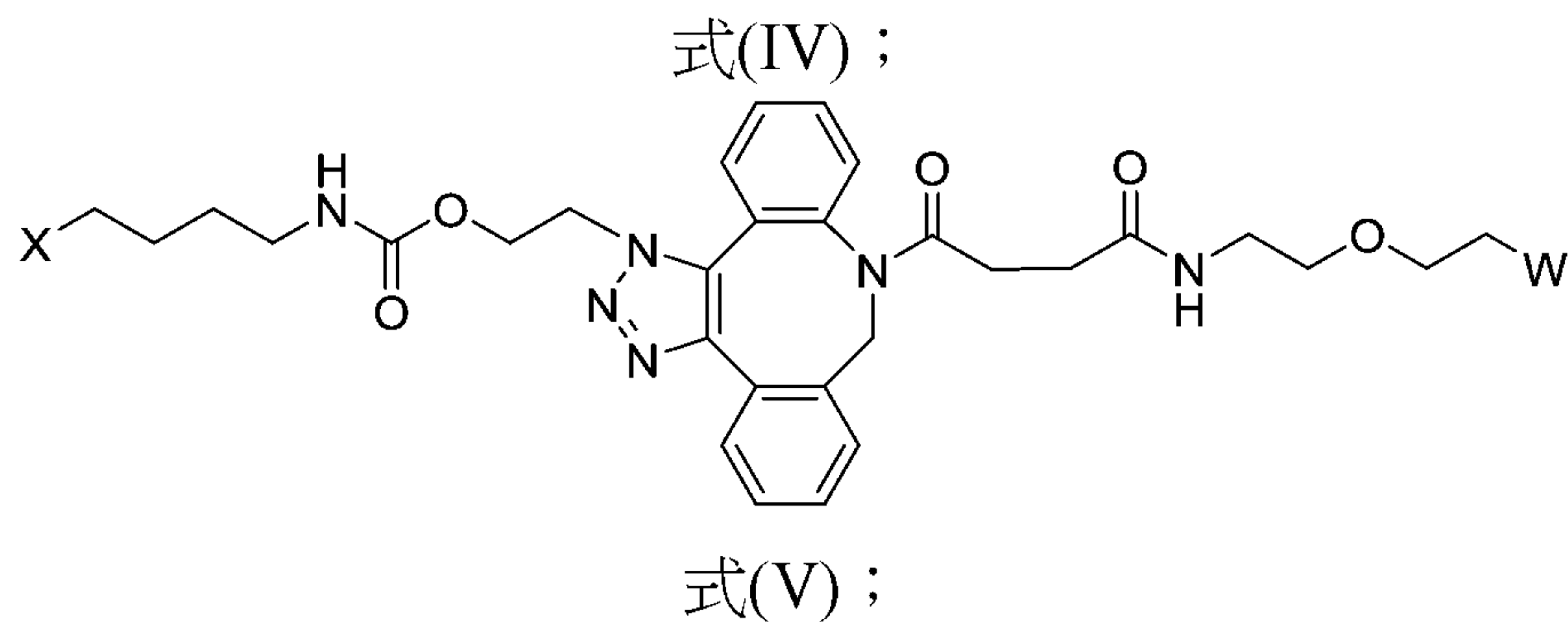
X 具有下列結構：



或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0662】 具體實例 225.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：40-44 之胺基酸序列，其中[Azk\_L1\_PEG]為式(IV)或式(V)結構之混合物：

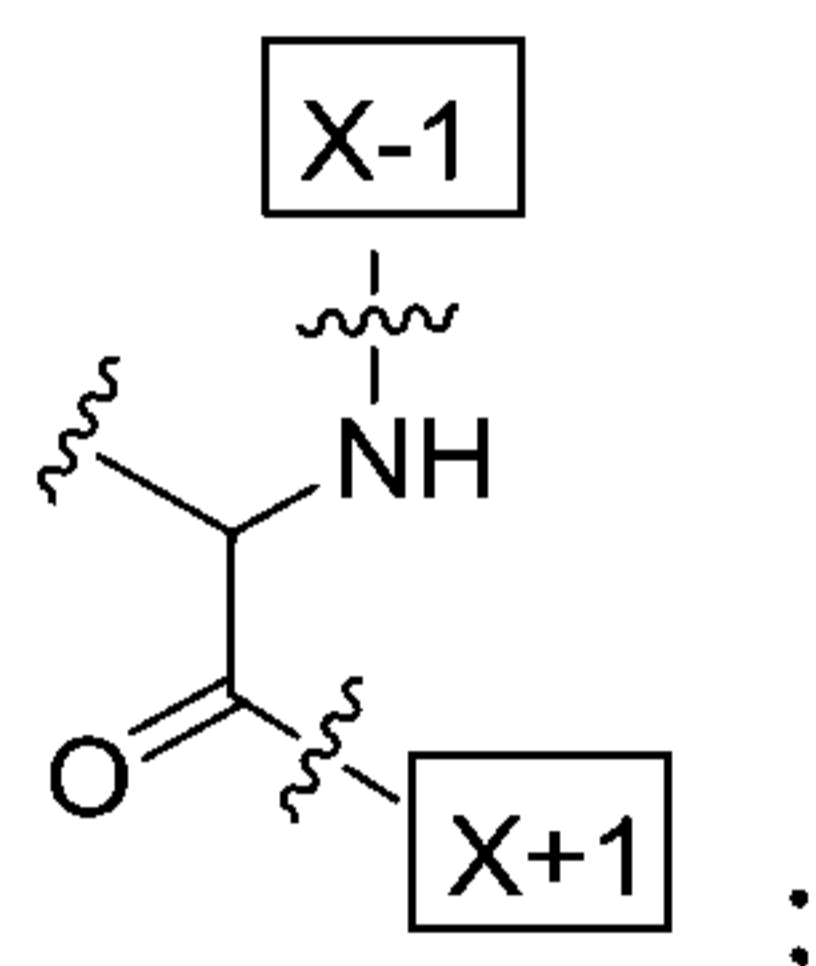




其中：

W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 和 60kDa；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0663】** 具體實例 226. 根據具體實例 225 或 225.1 之方法，其中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG]的總量，在 IL-2 接合物中為約 1：1.

**【0664】** 具體實例 227. 根據具體實例 225 或 225.1 之方法，其中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG]的總量，在 IL-2 接合物中，係大於 1：1.

**【0665】** 具體實例 228. 根據具體實例 225 或 225.1 之方法，其中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG]的總量，在 IL-2 接合物中，係低於 1：1.

**【0666】** 具體實例 229. 根據具體實例 225 至 228 中任一例之方法，其中 W 為直鏈或支鏈 PEG 基團。

**【0667】** 具體實例 230. 根據具體實例 225 至 228 中任一例之方法，其中 W 為直鏈 PEG 基團。

【0668】 具體實例 231. 根據具體實例 225 至 228 中任一例之方法，其中 W 為支鏈 PEG 基團。

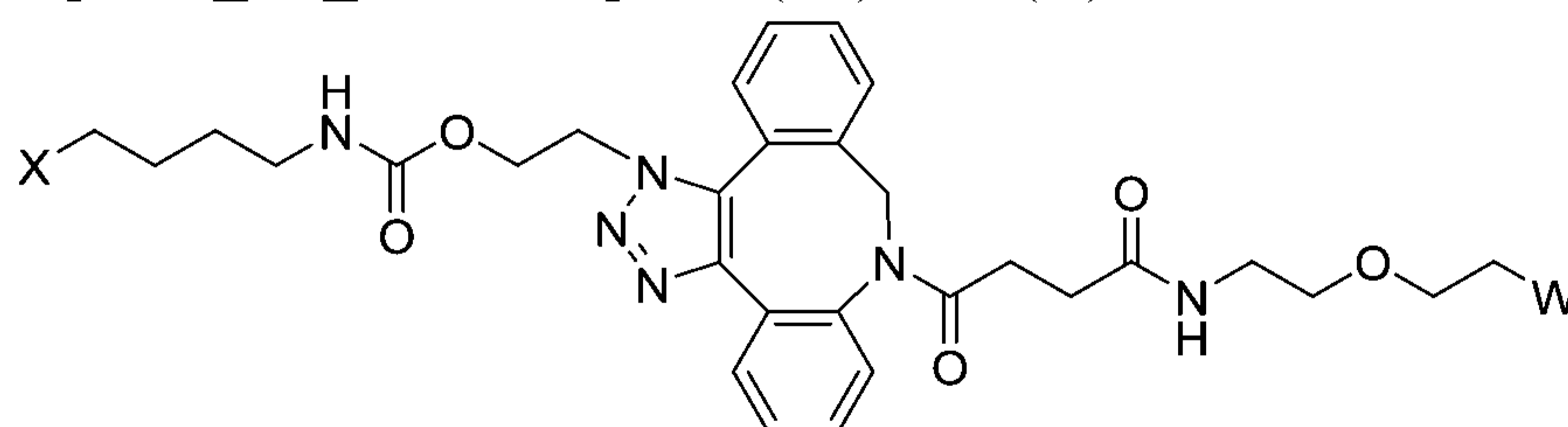
【0669】 具體實例 232. 根據具體實例 225 至 228 中任一例之方法，其中 W 為甲氧基 PEG 基團。

【0670】 具體實例 233. 根據具體實例 232 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈或支鏈。

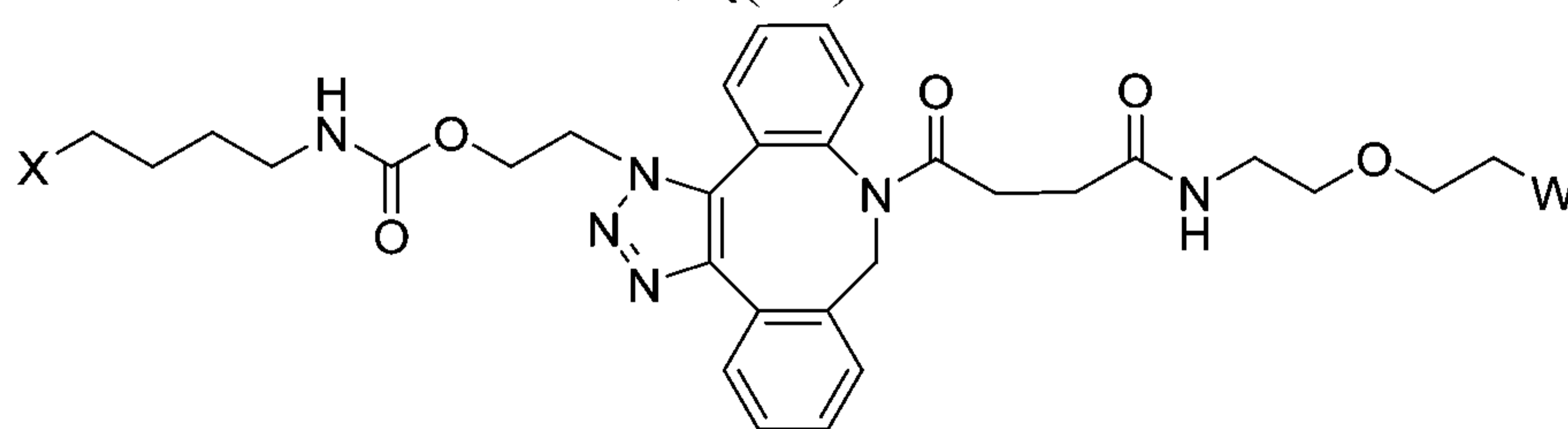
【0671】 具體實例 234. 根據具體實例 233 之方法，其中該甲氧基 PEG 基團為直鏈。

【0672】 具體實例 235. 根據具體實例 233，其中該甲氧基 PEG 基團為支鏈。

【0673】 具體實例 236. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：45 至 49 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG5kD]為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；

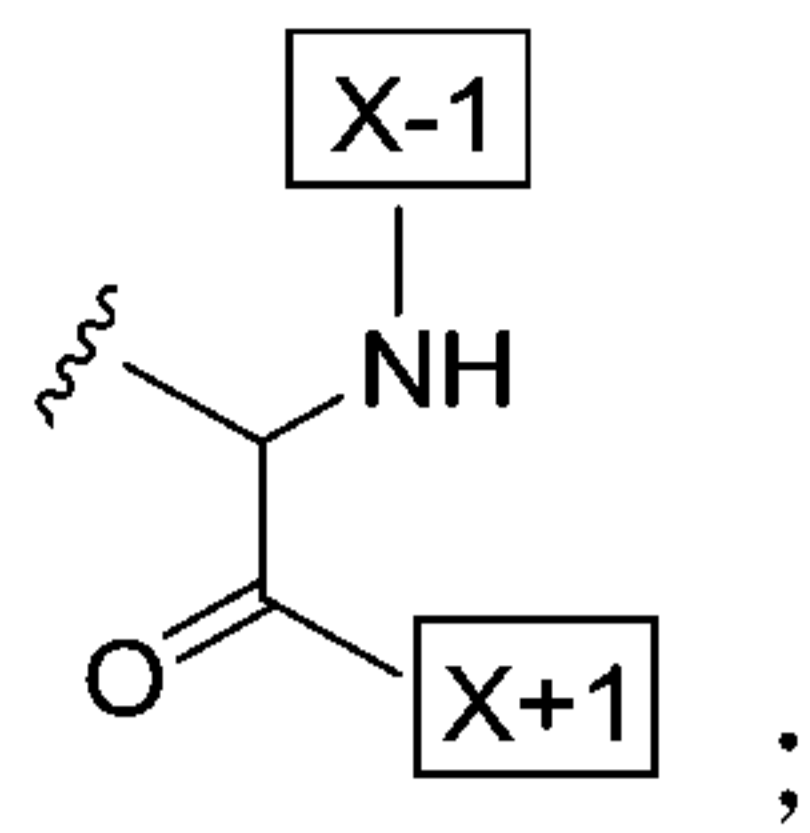


式(V)；

其中：

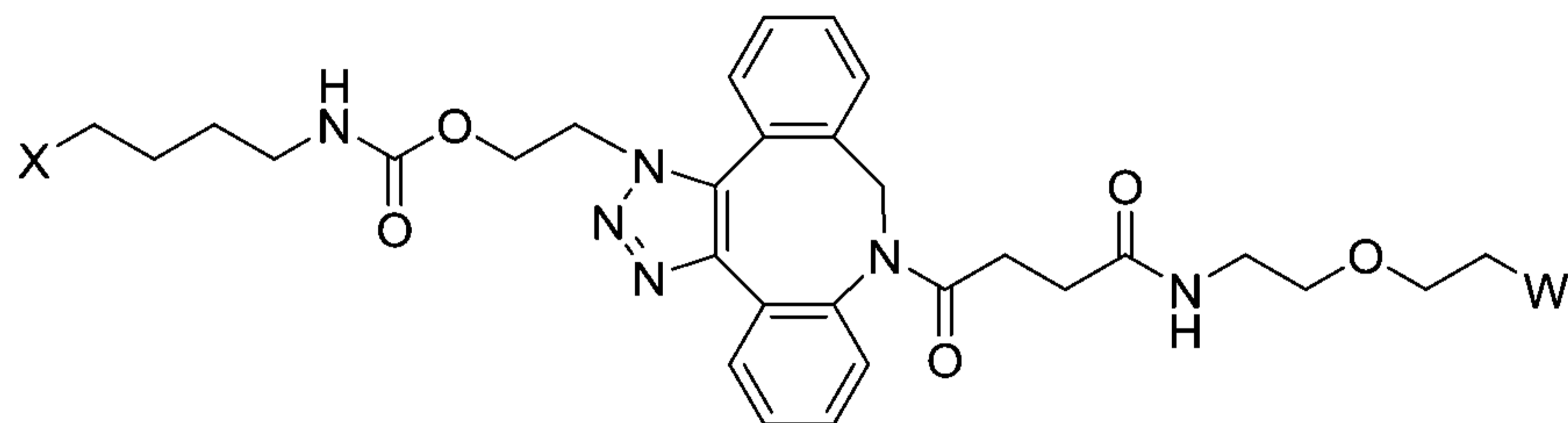
W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團。；及

X 具有下列結構：

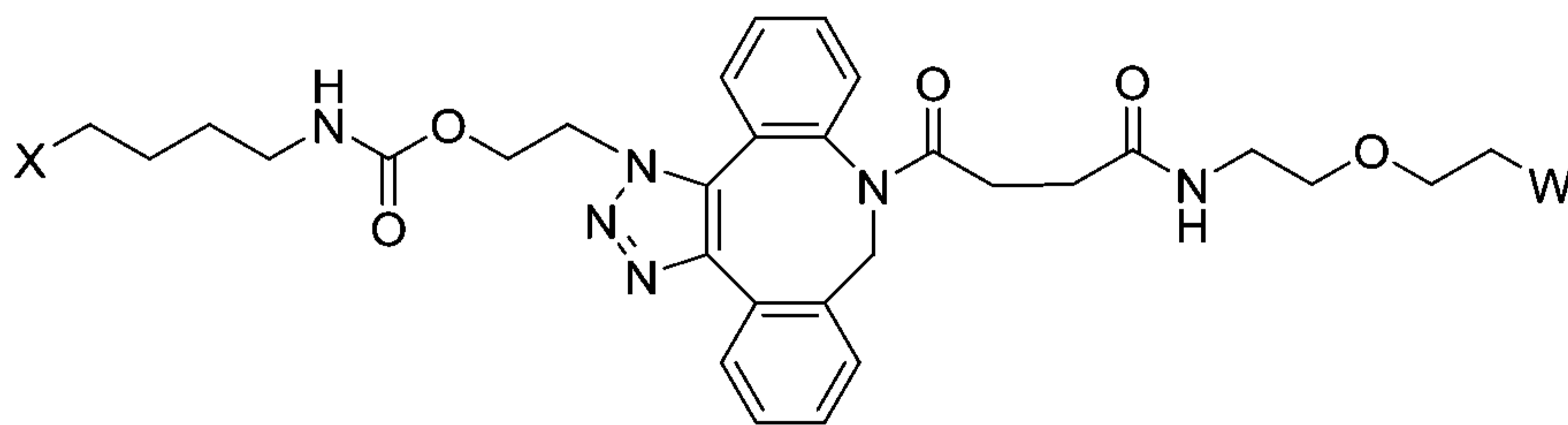


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0674】 具體實例 236.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：45 至 49 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG5kD]為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；

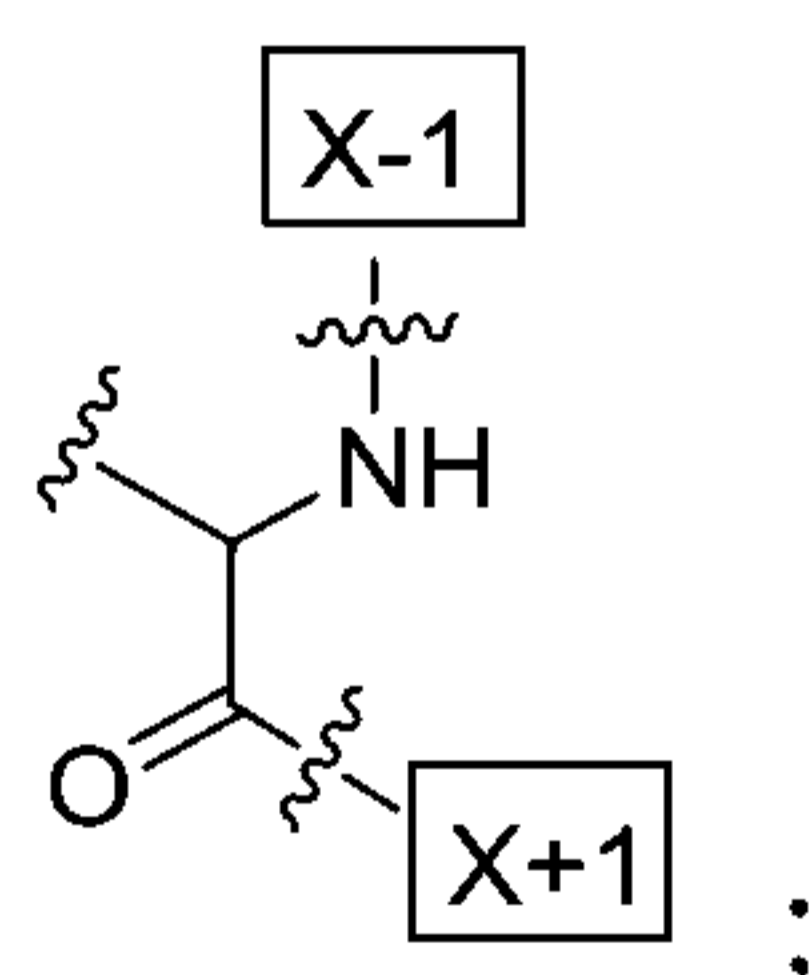


式(V)；

其中：

W 為具有 5kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

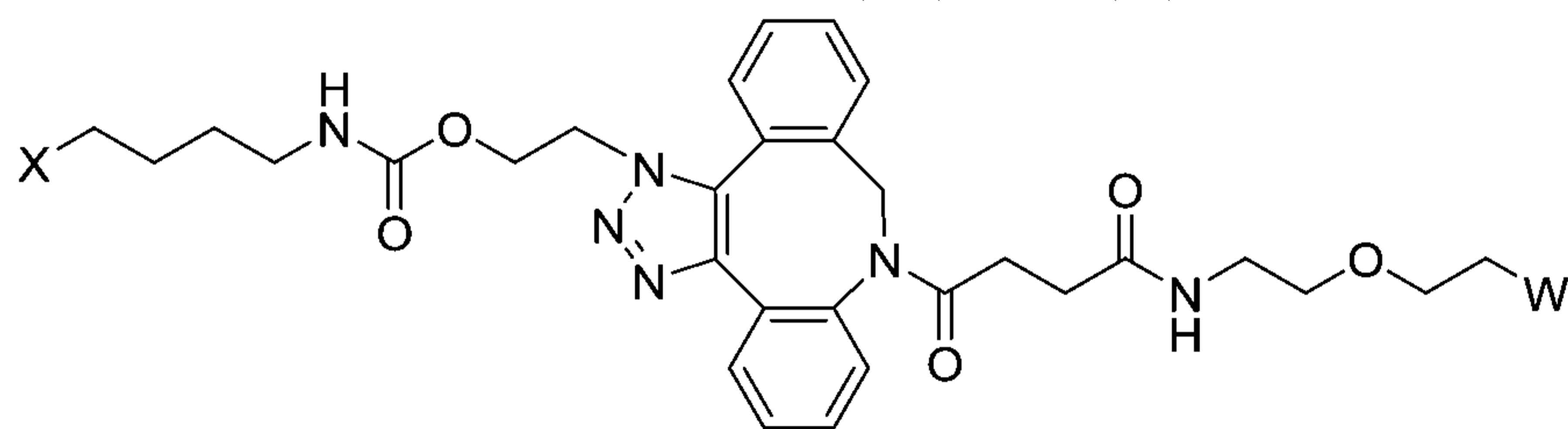
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0675】 具體實例 237. 根據具體實例 236 或 236.1 之方法，其中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_L1\_PEG5kD]的總量，為約 1：1。

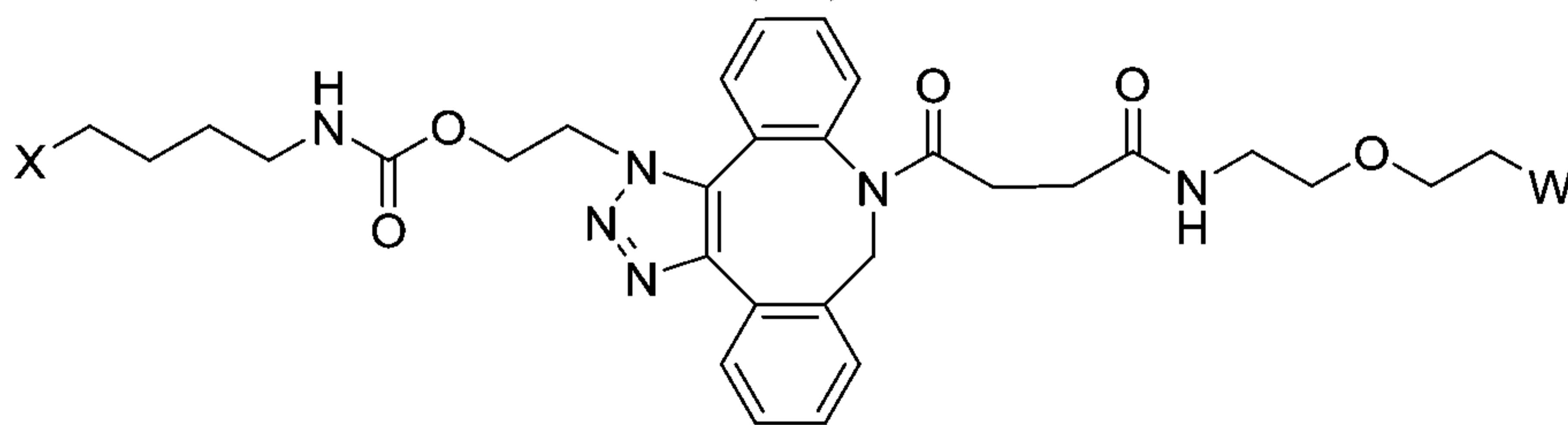
【0676】 具體實例 238. 根據具體實例 236 或 236.1 之方法，其中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_L1\_PEG5kD]的總量，係大於 1：1。

【0677】 具體實例 239. 根據具體實例 236 或 236.1 之方法，其中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物中[AzK\_L1\_PEG5kD]的總量，係低於 1：1。

【0678】 具體實例 240. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括任一 SEQ ID NOS：50 至 54 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG30kD]為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；

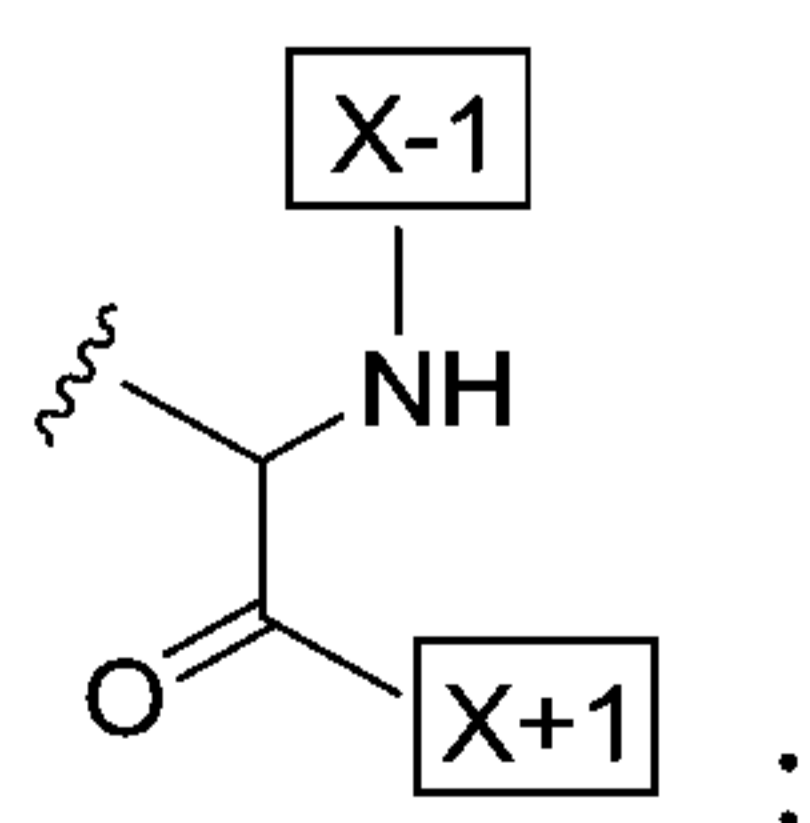


式(V)；

其中：

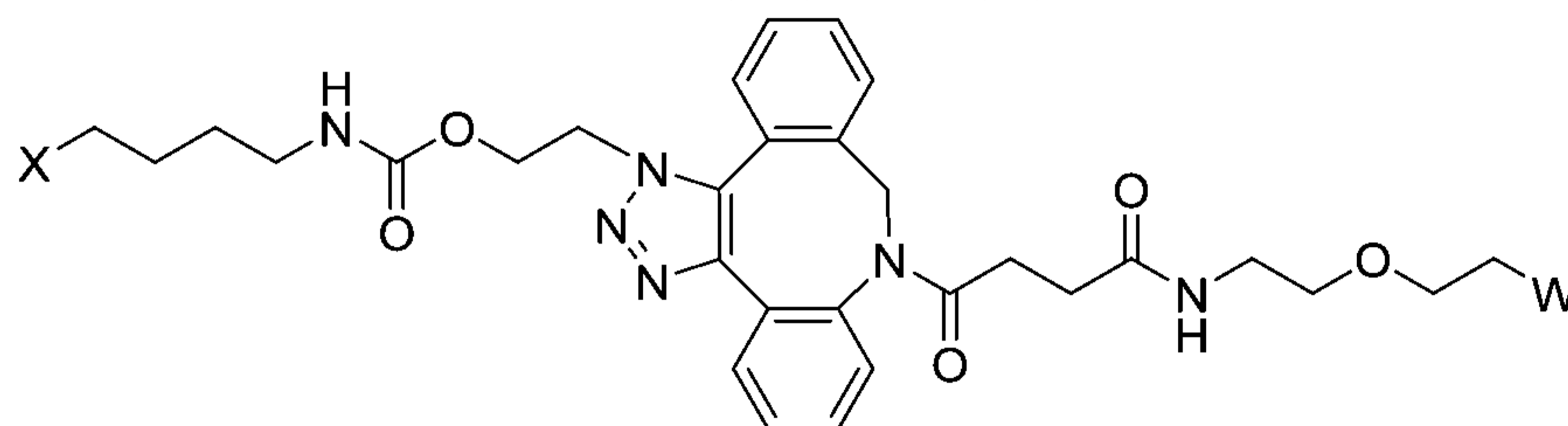
W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：

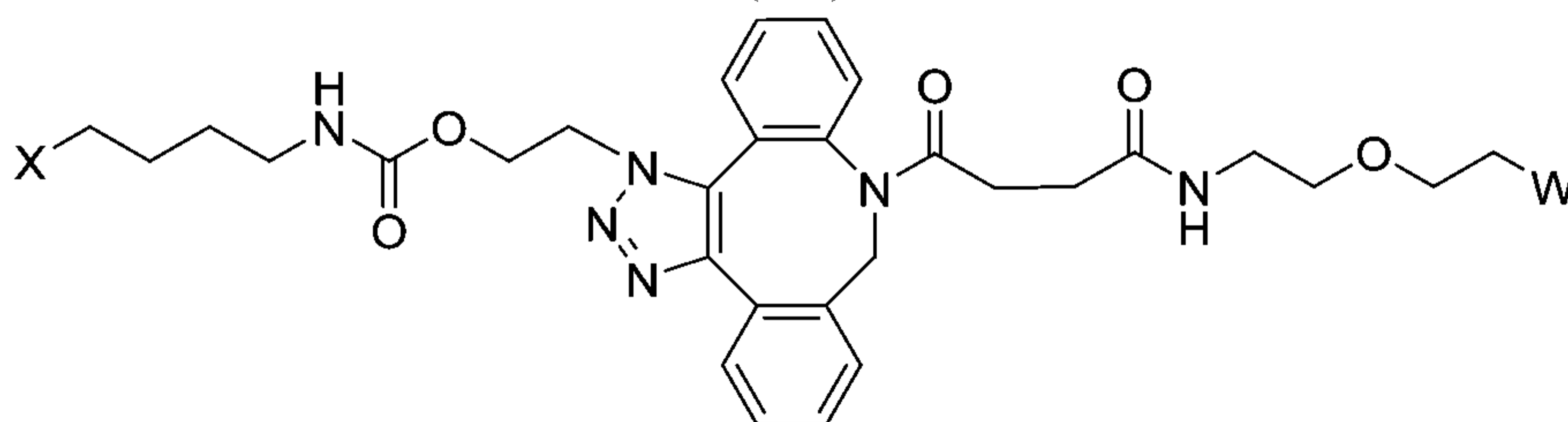


或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0679】** 具體實例 240.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物包括任一 SEQ ID NOS：50-54 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1 PEG30kD]為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；

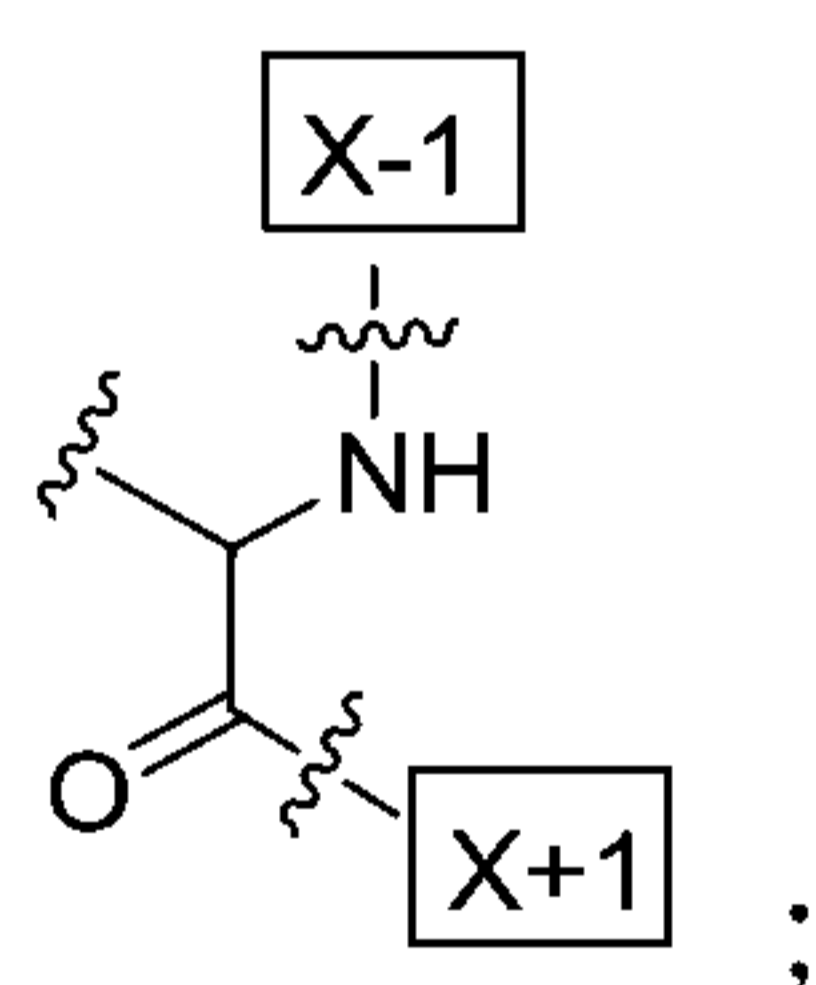


式(V)；

其中：

W 為具有 30kDa 平均分子量之 PEG 基團；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

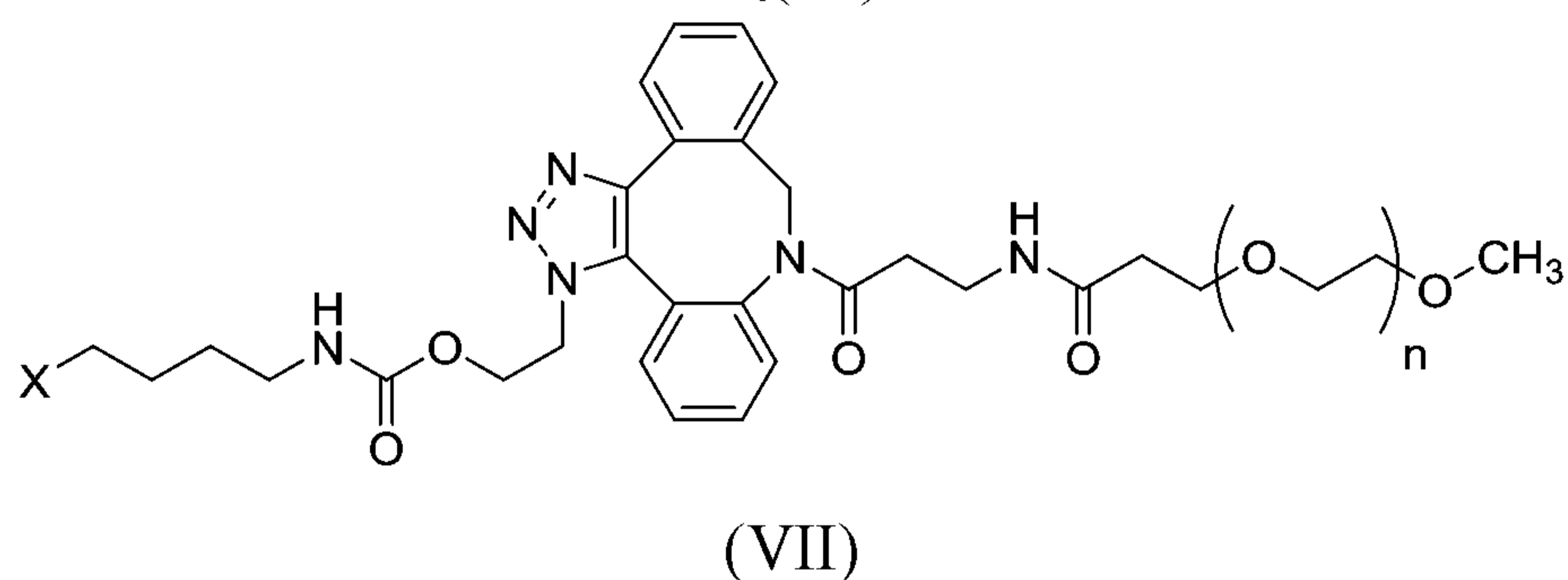
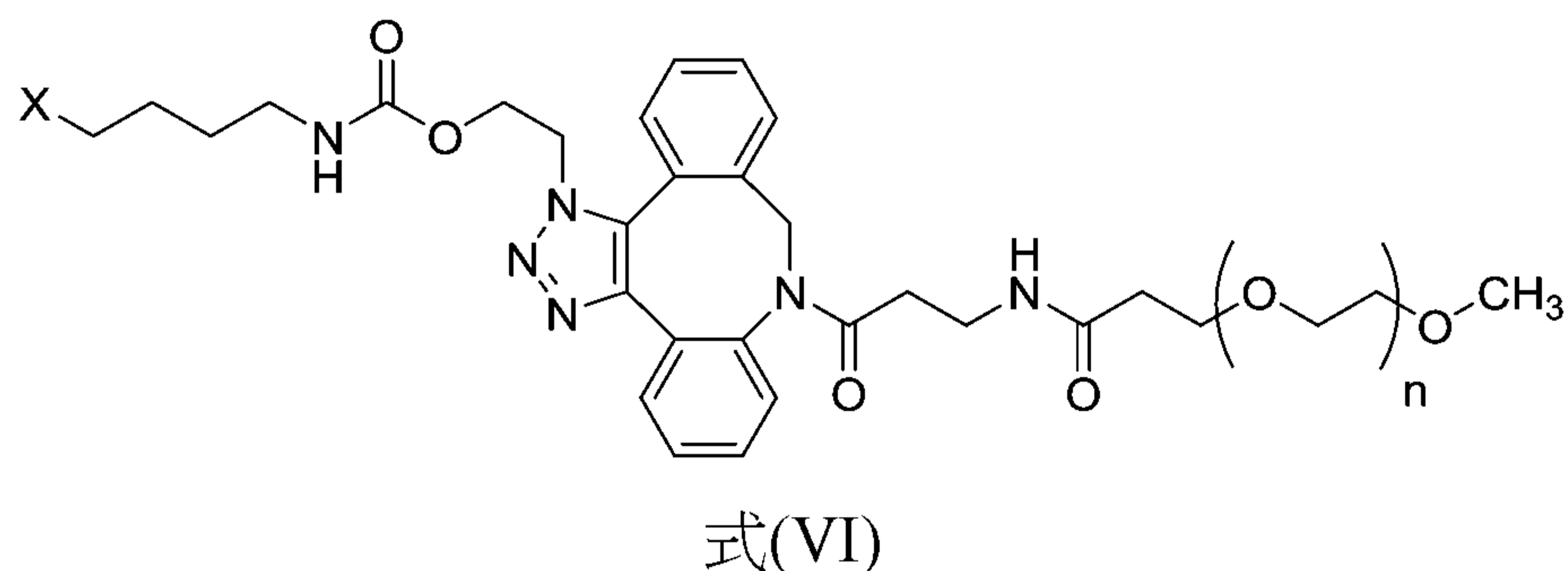
**【0680】** 具體實例 241. 根據具體實例 240 或 240.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括[AzK\_L1\_PEG30kD]的總量，為約 1：1。



【0681】 具體實例 242. 根據具體實例 240 或 240.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括 [AzK\_L1\_PEG30kD] 的總量，係大於 1：1。

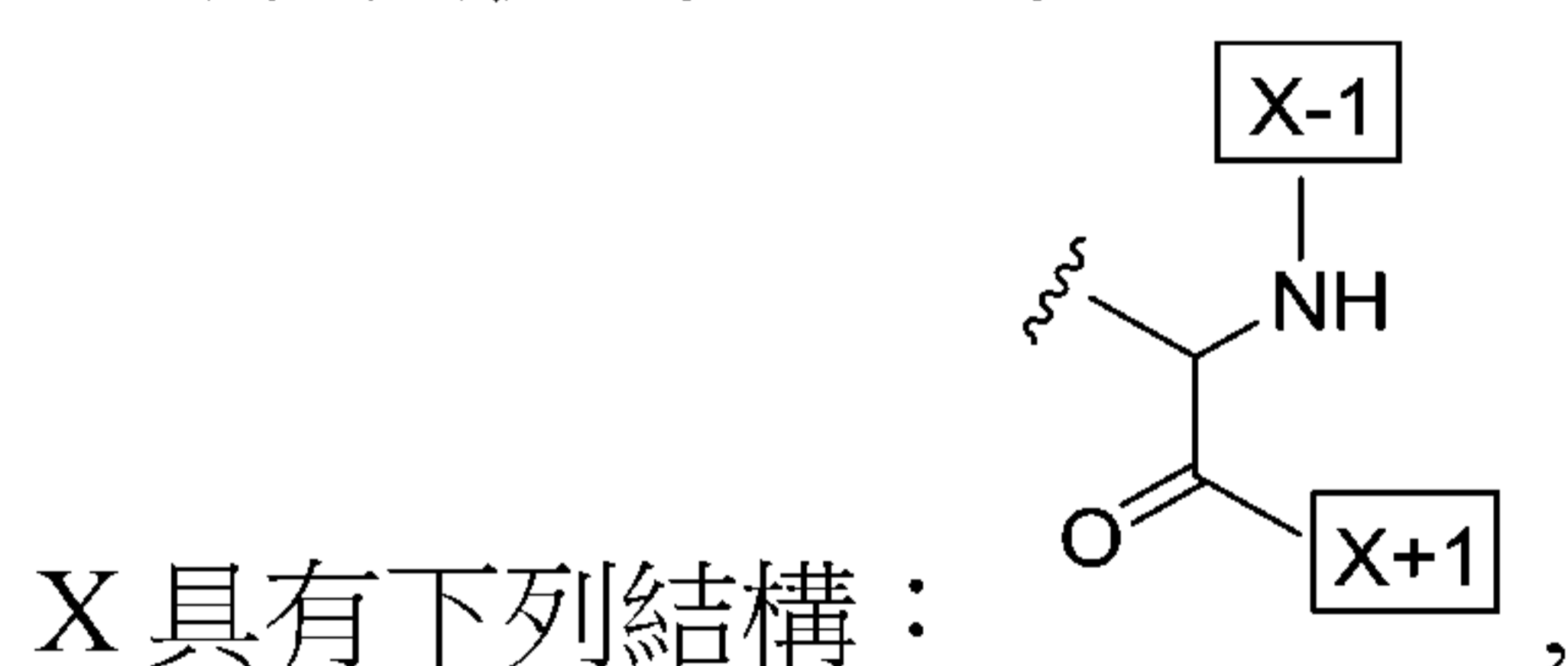
【0682】 具體實例 243. 根據具體實例 240 或 240.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中式(IV)結構之量與式(V)結構之量的比率，包括 [AzK\_L1\_PEG30kD] 的總量，係低於 1：1。

【0683】 具體實例 244. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VI)之結構或(VII)或(VI)和(VII)之混合物置換：



其中：

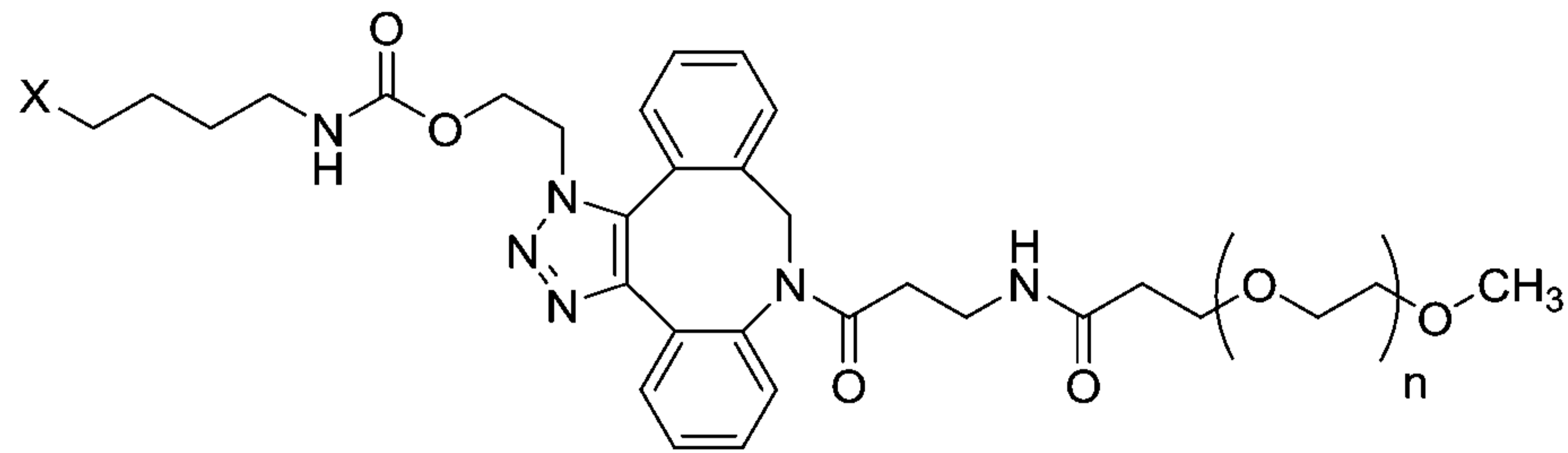
n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及



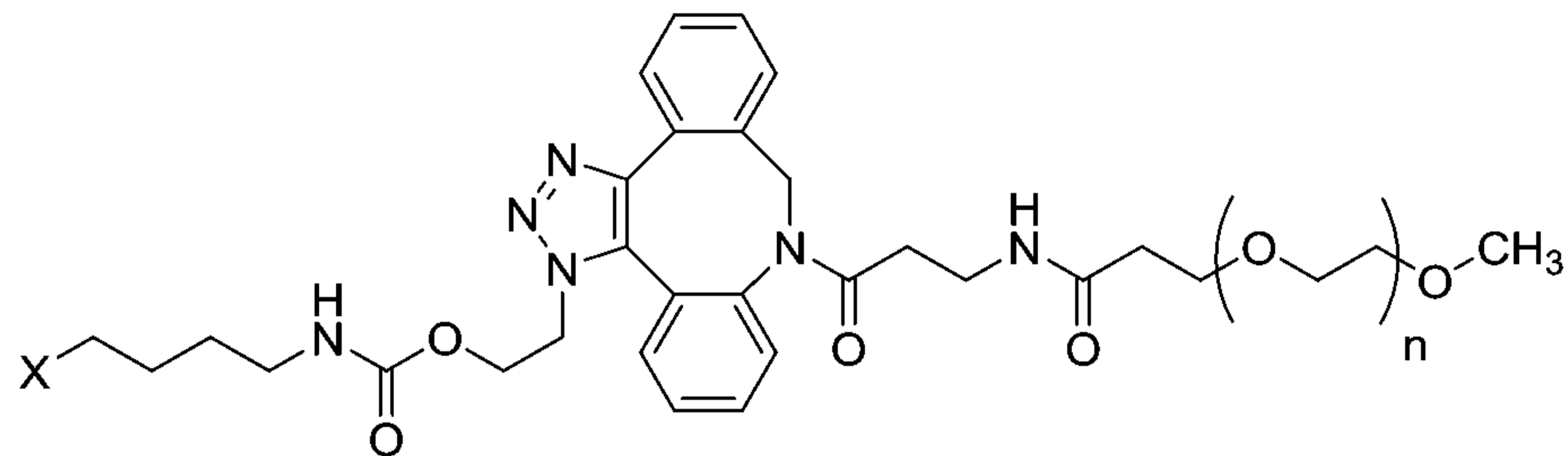
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0684】 具體實例 244.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或

多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(VI)之結構或(VII)或(VI)和(VII)之混合物置換：



式(VI)

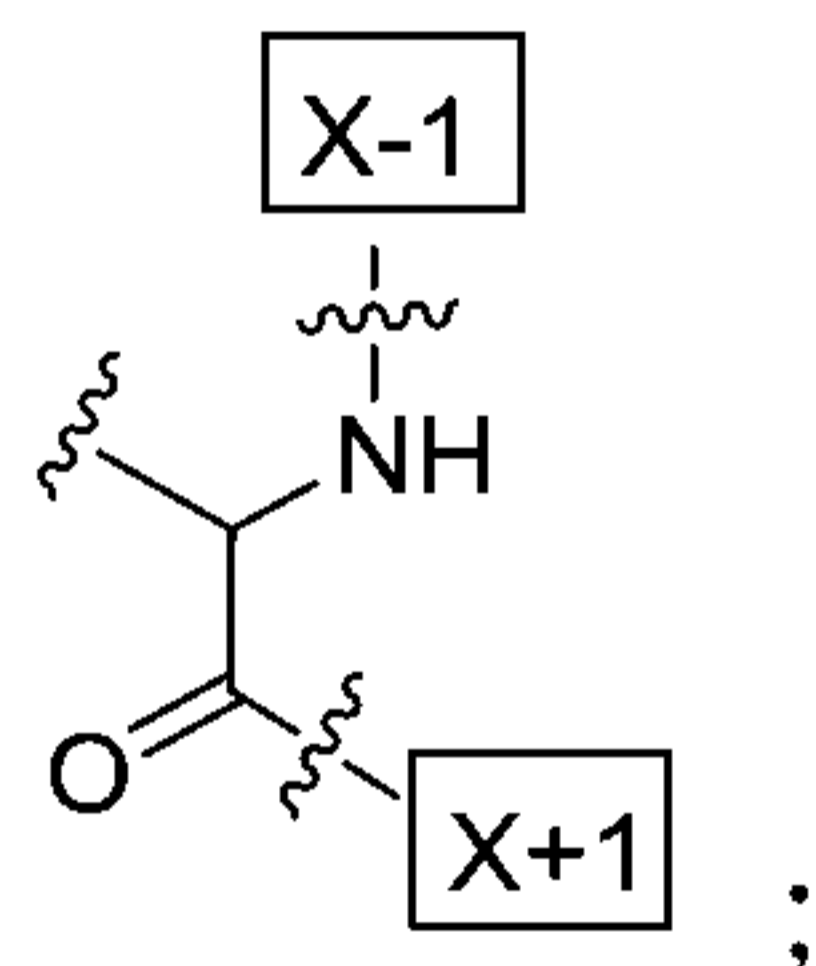


(VII)

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0685】** 具體實例 245. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 n 在式(VI)和(VII)化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，

或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。

【0686】 具體實例 246. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 n 在式(VI)和(VII)化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

【0687】 具體實例 247. 根據具體實例 244 至 246 中任一例之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。

【0688】 具體實例 248. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 K34。

【0689】 具體實例 249. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 F41。

【0690】 具體實例 250. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 F43。

【0691】 具體實例 251. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 K42。

【0692】 具體實例 252. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 E61。

【0693】 具體實例 253. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 P64。

【0694】 具體實例 254. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 R37。

【0695】 具體實例 255. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 T40。

【0696】 具體實例 256. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 E67。

【0697】 具體實例 257. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 Y44。

【0698】 具體實例 258. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 V68。

【0699】 具體實例 259. 根據具體實例 247 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VI)、式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物的位置為 L71。

【0700】 具體實例 260. 根據具體實例 244 至 259 中任一例之方法，其中式(VI)結構之量與式(VII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1：1。

【0701】 具體實例 261. 根據具體實例 244 至 259 中任一例之方法，其中式(VI)結構之量與式(VII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1：1。

【0702】 具體實例 262. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 及其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0703】 具體實例 263. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

【0704】 具體實例 264. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0705】 具體實例 265. 根據具體實例 264 之方法，其中 n 在式(VI)和(VII)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0706】 具體實例 266. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0707】 具體實例 267. 根據具體實例 266 之方法，其中 n 在式(VI)和(VII)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0708】 具體實例 268. 根據具體實例 266 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

【0709】 具體實例 269. 根據具體實例 266 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0710】 具體實例 270. 根據具體實例 267 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為 681。

【0711】 具體實例 271. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0712】 具體實例 272. 根據具體實例 271 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 在式(VI)和(VII)化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0713】 具體實例 273. 根據具體實例 271 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

【0714】 具體實例 274. 根據具體實例 273 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0715】 具體實例 275. 根據具體實例 271 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為 681。

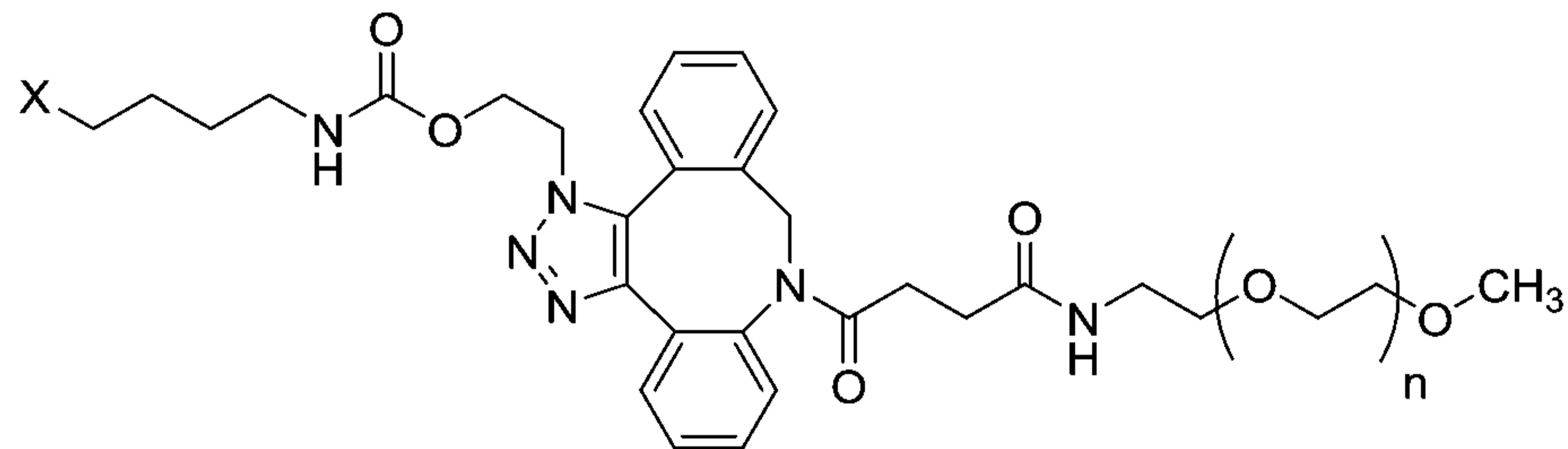
【0716】 具體實例 276. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓至約 200,000 道爾頓，或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓，或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓，或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓，或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓，或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 6,000 道

爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓之範圍內。

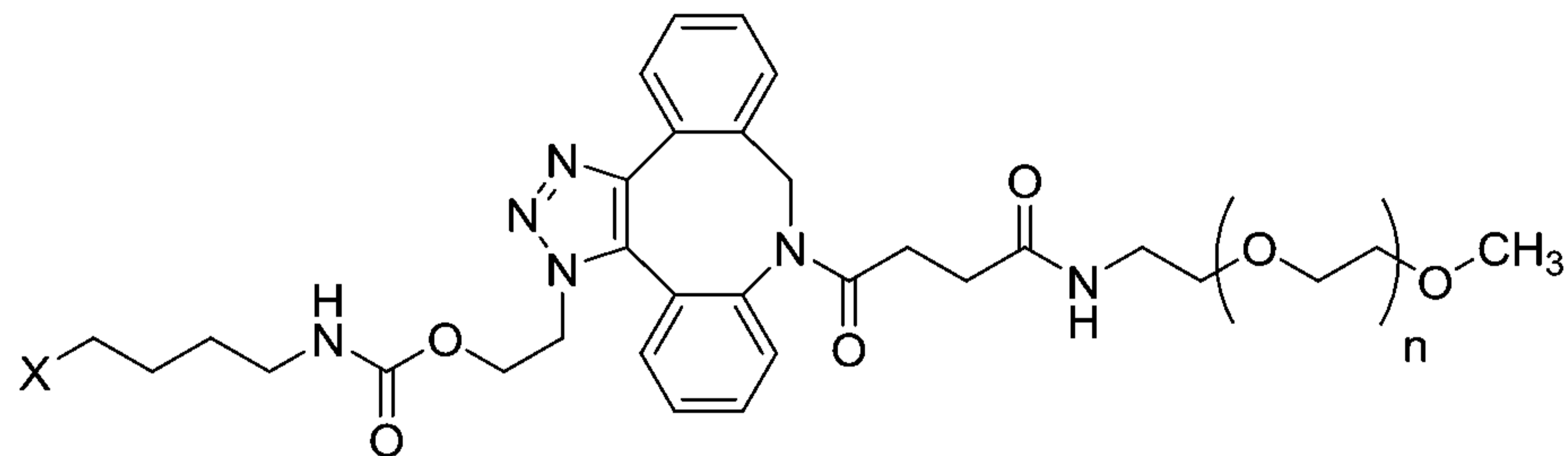
**【0717】** 具體實例 277. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。

**【0718】** 具體實例 278. 根據具體實例 244 或 244.1 之方法，其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

【0719】 具體實例 279. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(VIII)之結構或(IX)或(VIII)和(IX)之混合物置換：



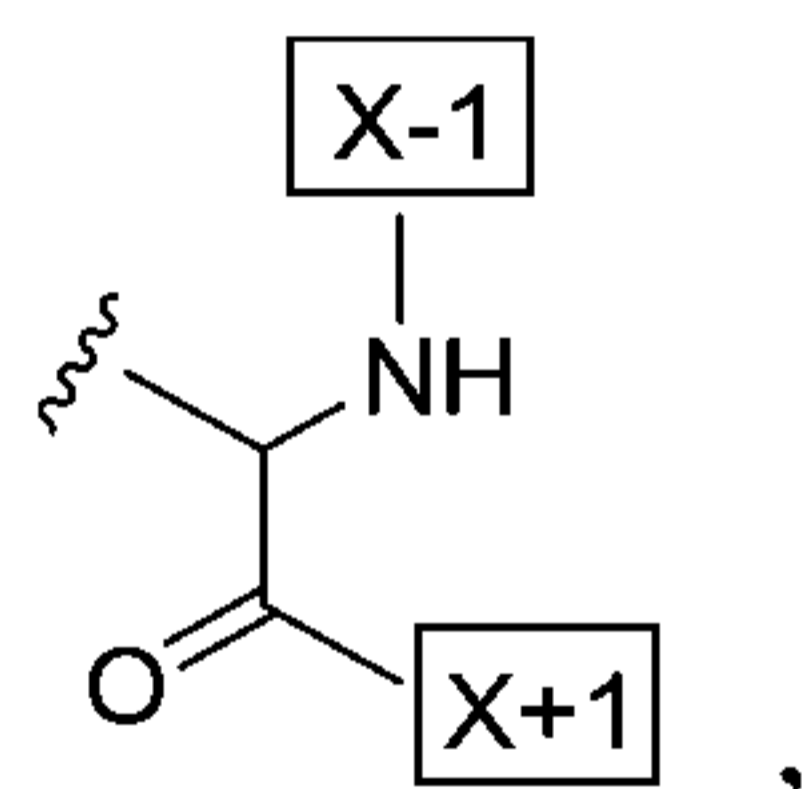
式(VIII)



(IX)

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

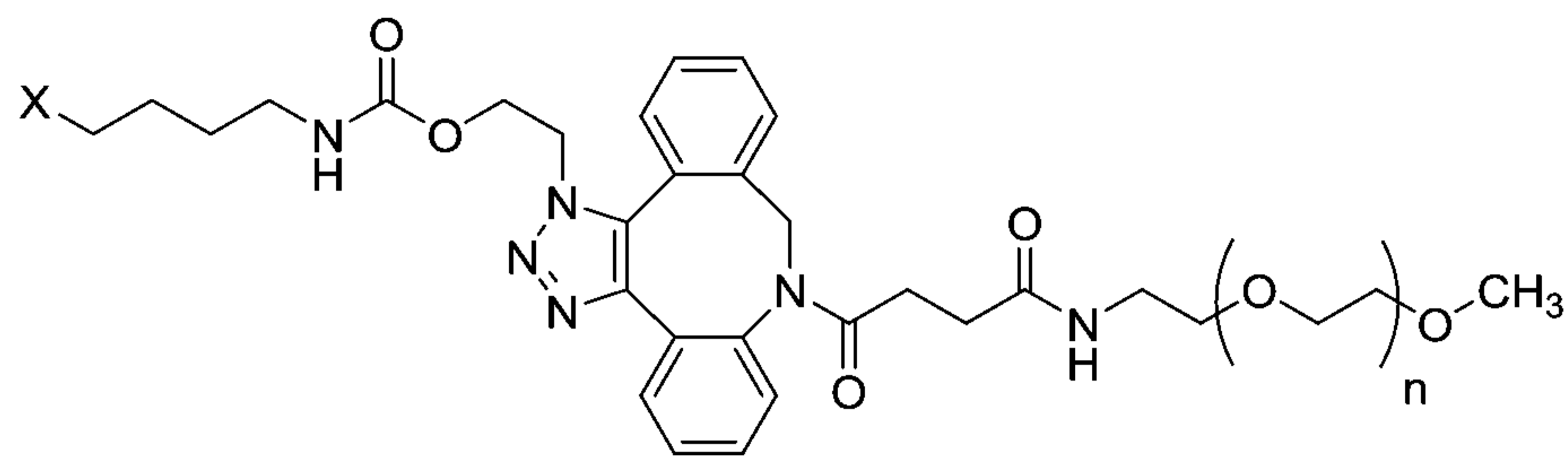


X 具有下列結構：

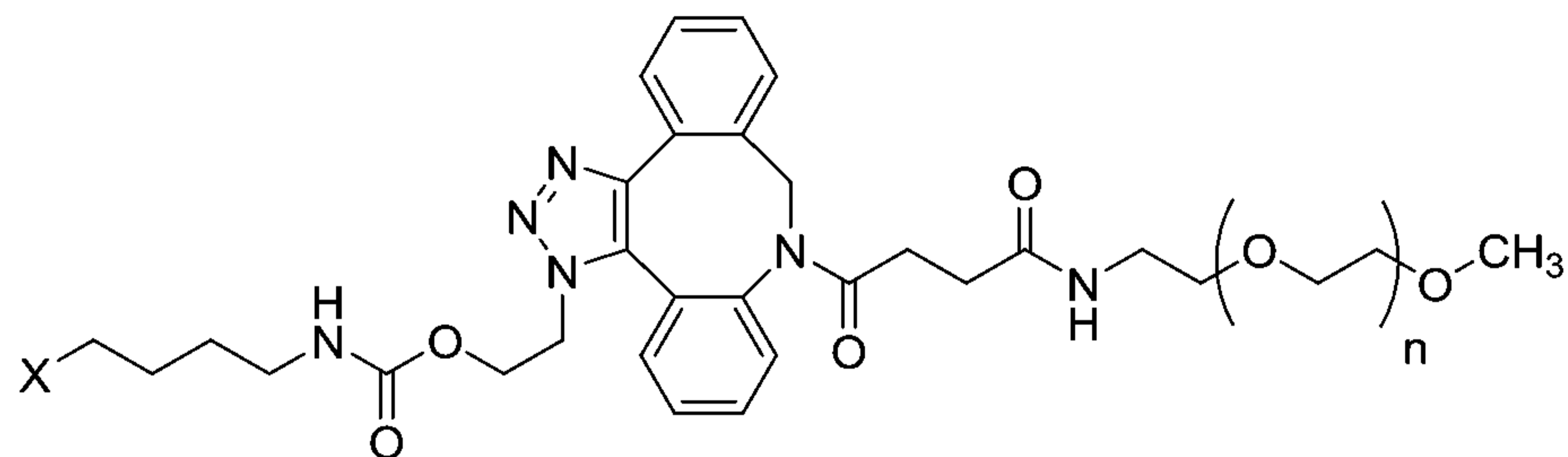
或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【0720】 具體實例 279.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中至少一個在 IL-2 接合物中的胺基酸殘基係經式(VIII)之結構或(IX)或(VIII)和(IX)之混合物置換：





式(VIII)

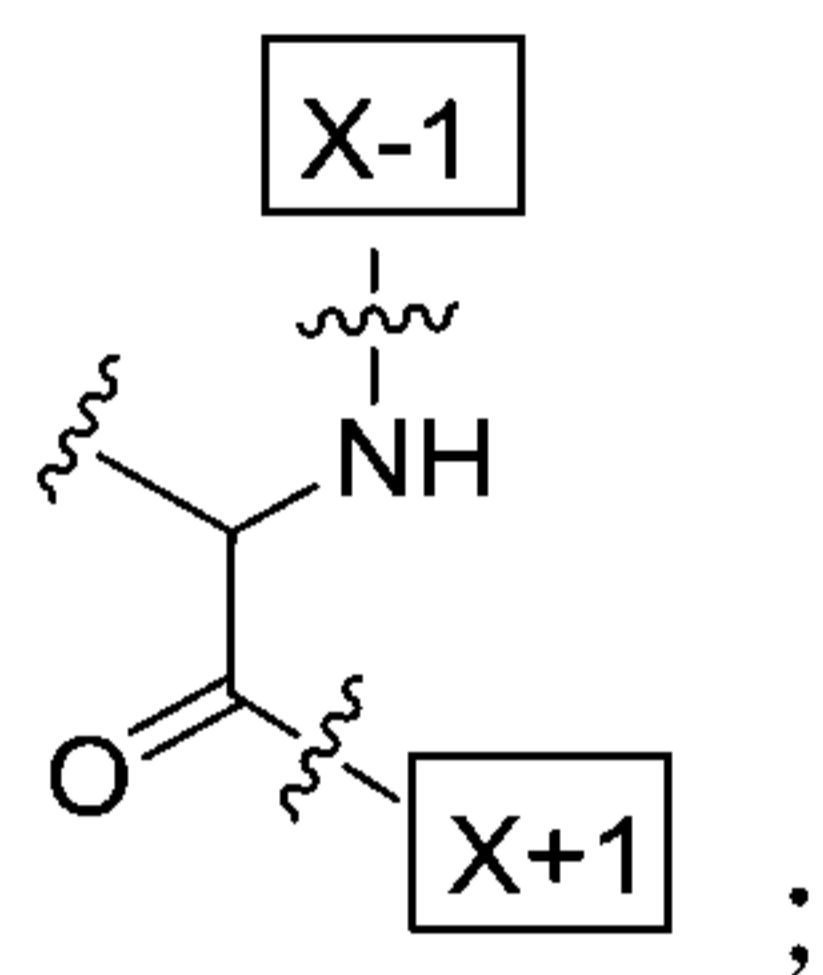


(IX)

其中：

$n$  為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

$X$  具有下列結構：



$X-1$  係指連接前面胺基酸殘基的點；及

$X+1$  係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【0721】** 具體實例 280. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法，其中  $n$  在 (VIII) 和 (IX) 之化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從

約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。

**【0722】** 具體實例 281. 根據具體實例 279 或 279.1，其中 n 在(VIII)和(IX)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546。

**【0723】** 具體實例 282. 根據具體實例 279 至 281 中任一例之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。

**【0724】** 具體實例 283. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 K34。

**【0725】** 具體實例 284. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 F41。

【0726】 具體實例 285. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 F43。

【0727】 具體實例 286. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 K42。

【0728】 具體實例 287. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 E61。

【0729】 具體實例 288. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 P64。

【0730】 具體實例 289. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 R37。

【0731】 具體實例 290. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 T40。

【0732】 具體實例 291. 根據具體實例 282，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 E67。

【0733】 具體實例 292. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 Y44。

【0734】 具體實例 293. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 V68。

【0735】 具體實例 294. 根據具體實例 282 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(VIII)、式(IX)之結構或式(VIII)和(IX)之混合物的位置為 L71。

【0736】 具體實例 295. 根據具體實例 279 至 294 中任一例之方法，其中式(VIII)結構之量與式(IX)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1：1。

【0737】 具體實例 296. 根據具體實例 279 至 294 中任一例之方法，其中式(VIII)結構之量與式(IX)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1：1。

【0738】 具體實例 297. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0739】 具體實例 298. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

【0740】 具體實例 299. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0741】 具體實例 300. 根據具體實例 299 之方法，其中 n 在(VIII)和(IX)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0742】 具體實例 301. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0743】 具體實例 302. 根據具體實例 300 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 在(VIII)和(IX)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0744】 具體實例 303. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法，其中 SEQ ID NO：3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

【0745】 具體實例 304. 根據具體實例 303 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0746】 具體實例 305. 根據具體實例 302 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 及其中 n 為 681。

【0747】 具體實例 306. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800, 或從約 454 至約 796, 或從約 454 至約 682, 或從約 568 至約 909 之整數。

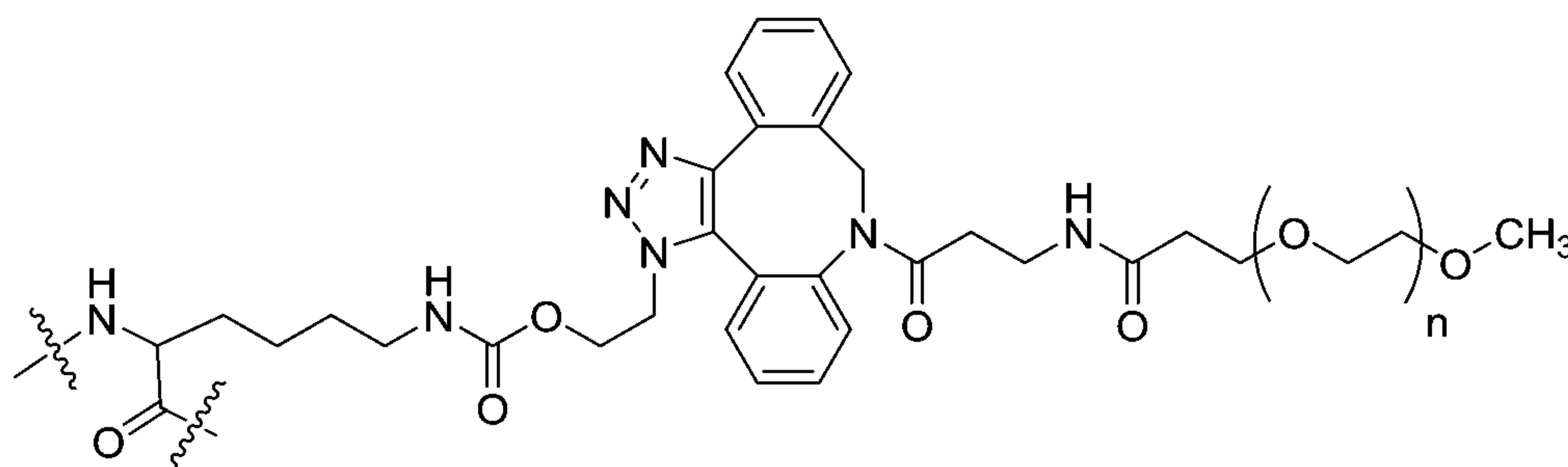
【0748】 具體實例 307. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 及其中 n 在(VIII)和(IX)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0749】 具體實例 308. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法,其中 SEQ ID NO:3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

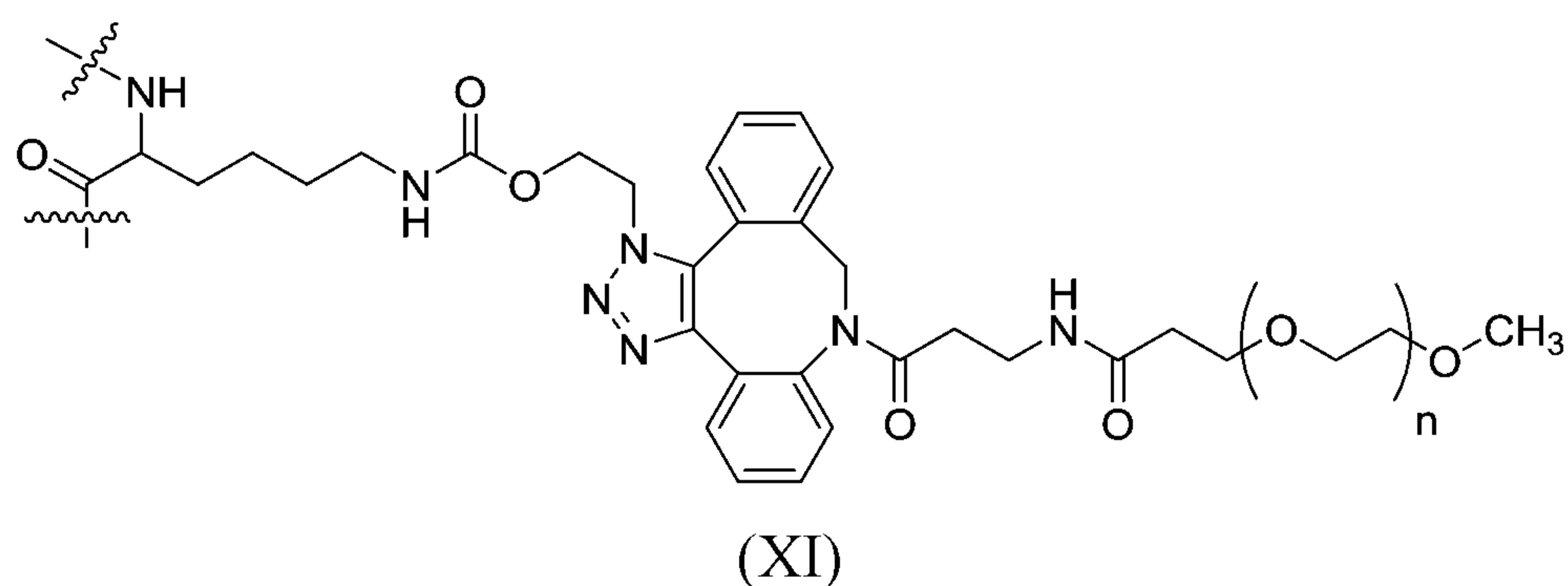
【0750】 具體實例 309. 根據具體實例 279 或 279.1 之方法,其中 SEQ ID NO:3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0751】 具體實例 310. 根據具體實例 307 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 及其中 n 為 681。

【0752】 具體實例 311. 一種於一對象中治療癌症的方法,該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物,及(b)一或多種另外的藥劑,其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO : 3 之胺基酸序列,其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(X)或(XI)之結構,或(X)和(XI)之混合物置換:



式(X)



其中：

$n$  為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

**【0753】** 具體實例 312. 根據具體實例 311 之方法，其中  $n$  在式(X)和 (XI)之化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。

**【0754】** 具體實例 313. 根據具體實例 311 之方法，其中  $n$  在式(X)和 (XI)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、

454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

**【0755】** 具體實例 314. 根據具體實例 311 至 313 中任一例之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。

**【0756】** 具體實例 315. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 K34。

**【0757】** 具體實例 316. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 F41。

**【0758】** 具體實例 317. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 F43。

**【0759】** 具體實例 318. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 K42。

**【0760】** 具體實例 319. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 E61。

**【0761】** 具體實例 320. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 P64。

【0762】 具體實例 321. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 R37。

【0763】 具體實例 322. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 T40。

【0764】 具體實例 323. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 E67。

【0765】 具體實例 324. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 Y44。

【0766】 具體實例 325. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 V68。

【0767】 具體實例 326. 根據具體實例 314 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(X)、式(XI)之結構或式(X)和(XI)之混合物的位置為 L71。

【0768】 具體實例 327. 根據具體實例 311 至 326 中任一例之方法，其中式(X)結構之量與式(XI)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1 : 1。

【0769】 具體實例 328. 根據具體實例 311 至 326 中任一例之方法，其中式(X)結構之量與式(XI)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1 : 1。

【0770】 具體實例 329. 根據具體實例 311 之方法，其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。



【0771】 具體實例 330. 根據具體實例 311 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 且 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

【0772】 具體實例 331. 根據具體實例 311 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800, 或從約 454 至約 796, 或從約 454 至約 682, 或從約 568 至約 909 之整數。

【0773】 具體實例 332. 根據具體實例 330 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 且其中 n 在式(X)和(XI)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0774】 具體實例 333. 根據具體實例 311 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 450 至約 800, 或從約 454 至約 796, 或從約 454 至約 682, 或從約 568 至約 909 之整數。

【0775】 具體實例 334. 根據具體實例 311 之方法,其中 n 在式(X)和(XI)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0776】 具體實例 335. 根據具體實例 311 之方法,其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

【0777】 具體實例 336. 根據具體實例 335 之方法,其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0778】 具體實例 337. 根據具體實例 332 之方法,其中 n 為 681。

【0779】 具體實例 338. 根據具體實例 311 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800, 或從約 454 至約 796, 或從約 454 至約 682, 或從約 568 至約 909 之整數。

【0780】 具體實例 339. 根據具體實例 311 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 及其中 n 在式(X)和(XI)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0781】 具體實例 340. 根據具體實例 311 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

【0782】 具體實例 341. 根據具體實例 340 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0783】 具體實例 342. 根據具體實例 339 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為 681。

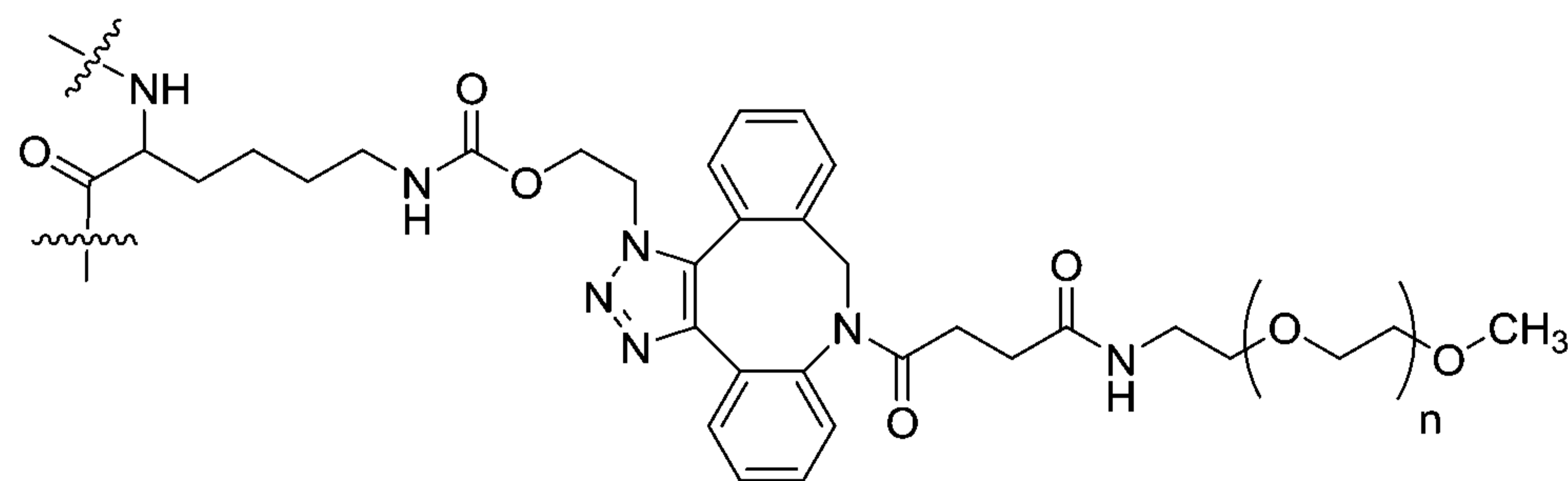
【0784】 具體實例 343. 根據具體實例 311 之方法,其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓約 200,000 道爾頓,或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓,或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓,或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓,或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓,或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約

40,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓，或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓之範圍內。

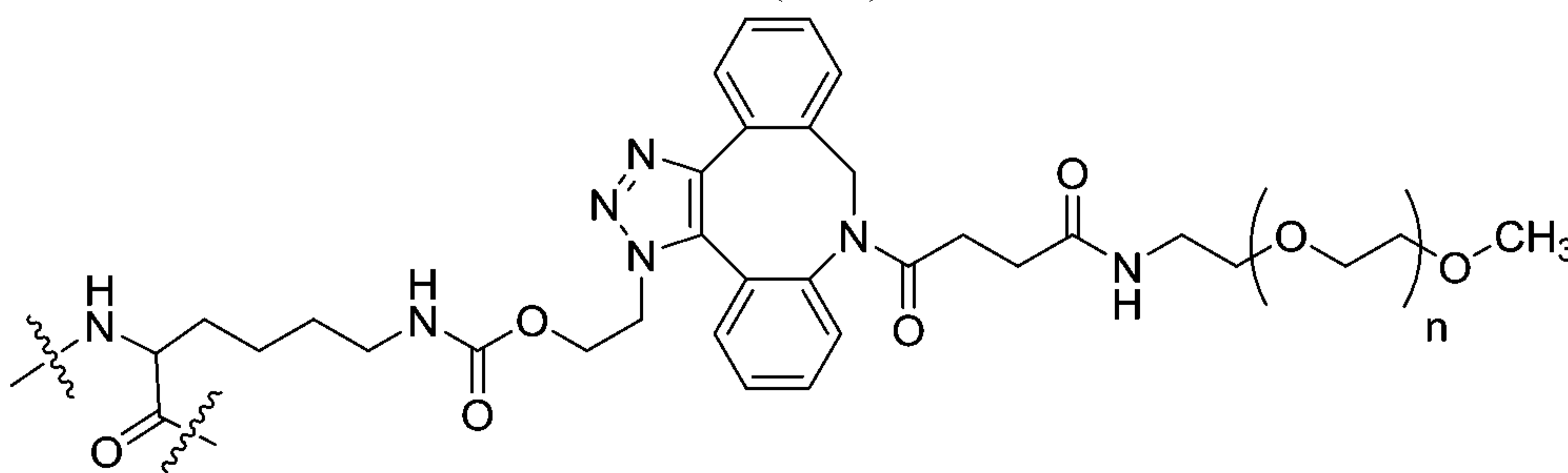
【0785】 具體實例 344. 根據具體實例 311 之方法，其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。

【0786】 具體實例 345. 根據具體實例 311 之方法，其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

【0787】 具體實例 346. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(XII)或(XIII)之結構或(XII)和(XIII)之混合物置換：



式(XII)



## (XIII)

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

**【0788】** 具體實例 347. 根據具體實例 346 之方法，其中 n 在式(XII)和 (XIII)之化合物中係在從約 5 至約 4600，或從約 10 至約 4000，或從約 20 至約 3000，或從約 100 至約 3000，或從約 100 至約 2900，或從約 150 至約 2900，或從約 125 至約 2900，或從約 100 至約 2500，或從約 100 至約 2000，或從約 100 至約 1900，或從約 100 至約 1850，或從約 100 至約 1750，或從約 100 至約 1650，或從約 100 至約 1500，或從約 100 至約 1400，或從約 100 至約 1300，或從約 100 至約 1250，或從約 100 至約 1150，或從約 100 至約 1100，或從約 100 至約 1000，或從約 100 至約 900，或從約 100 至約 750，或從約 100 至約 700，或從約 100 至約 600，或從約 100 至約 575，或從約 100 至約 500，或從約 100 至約 450，或從約 100 至約至約 350，或從約 100 至約 275，或從約 100 至約 230，或從約 150 至約 475，或從約 150 至約 340，或從約 113 至約 340，或從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 340 至約 795，或從約 341 至約 682，或從約 568 至約 909，或從約 227 至約 1500，或從約 225 至約 2280，或從約 460 至約 2160，或從約 460 至約 2050，或從約 341 至約 1820，或從約 341 至約 1710，或從約 341 至約 1250，或從約 225 至約 1250，或從約 341 至約 1250，或從約 341 至約 1136，或從約 341 至約 1023，或從約 341 至約 910，或從約 341 至約 796，或從約 341 至約 682，或從約 341 至約 568，或從約 114 至約 1000，或從約 114 至約 950，或從約 114 至約 910，或從約 114 至約 800，或從約 114 至約 690，或從約 114 至約 575 之範圍內。

**【0789】** 具體實例 348. 根據具體實例 346 之方法，其中 n 在式(XII)和 (XIII)之化合物中為選自 2、5、10、11、22、23、113、114、227、228、340、341、454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137、1249、1250、1251、1362、1363、1364、1476、1477、1478、1589、1590、1591、1703、1704、1705、1817、1818、1819、1930、1931、1932、2044、2045、2046、2158、2159、2160、2271、2272、2273、

2839、2840、2841、2953、2954、2955、3408、3409、3410、3976、3977、3978、4544、4545 及 4546 之整數。

【0790】 具體實例 349. 根據具體實例 346 至 348 中任一例之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。

【0791】 具體實例 350. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 K34。

【0792】 具體實例 351. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 F41。

【0793】 具體實例 352. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 F43。

【0794】 具體實例 353. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 K42。

【0795】 具體實例 354. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 E61。

【0796】 具體實例 355. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 P64。

【0797】 具體實例 356. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 R37。

【0798】 具體實例 357. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 T40。

【0799】 具體實例 358. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 E67。

【0800】 具體實例 359. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 Y44。

【0801】 具體實例 360. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 V68。

【0802】 具體實例 361. 根據具體實例 349 之方法，其中在 IL-2 接合物之胺基酸序列中，式(XII)、式(XIII)之結構或式(XII)和(XIII)之混合物的位置為 L71。

【0803】 具體實例 362. 根據具體實例 346 至 361 中任一例之方法，其中式(XII)結構之量與式(XIII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係大於 1 : 1。

【0804】 具體實例 363. 根據具體實例 346 至 361 中任一例之方法，其中式(XII)結構之量與式(XIII)結構之量的比率，包括 IL-2 接合物之總量，係低於 1 : 1。

【0805】 具體實例 364. 根據具體實例 346 之方法，其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800，或從約 454 至約 796，或從約 454 至約 682，或從約 568 至約 909 之整數。

【0806】 具體實例 365. 根據具體實例 346 之方法，其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 及 P64 且 n 為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909、910、1021、1022、1023、1135、1136、1137 及 1249 之整數。

【0807】 具體實例 366. 根據具體實例 346 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 E61 和 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800 , 或從約 454 至約 796 , 或從約 454 至約 682 , 或從約 568 至約 909 之整數。

【0808】 具體實例 367. 根據具體實例 365 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基係選自 F41、F43、K42、E61 和 P64 且其中 n 在式(XII)和(XIII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0809】 具體實例 368. 根據具體實例 346 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 E61 且其中 n 為從約 450 至約 800 , 或從約 454 至約 796 , 或從約 454 至約 682 , 或從約 568 至約 909 之整數。

【0810】 具體實例 369. 根據具體實例 346 之方法,其中 n 在式(XII)和(XIII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0811】 具體實例 370. 根據具體實例 346 之方法,其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

【0812】 具體實例 371. 根據具體實例 370 之方法,其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0813】 具體實例 372. 根據具體實例 369 之方法,其中 n 為 681。

【0814】 具體實例 373. 根據具體實例 346 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 450 至約 800 , 或從約 454 至約 796 , 或從約 454 至約 682 , 或從約 568 至約 909 之整數。

【0815】 具體實例 374. 根據具體實例 346 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 在式(XII)和(XIII)之化合物中為選自 454、455、568、569、680、681、682、794、795、796、908、909 及 910 之整數。

【0816】 具體實例 375. 根據具體實例 346 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 500 至約 1000 之整數。

【0817】 具體實例 376. 根據具體實例 375 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為從約 550 至約 800 之整數。

【0818】 具體實例 377. 根據具體實例 374 之方法,其中 SEQ ID NO : 3 中經置換的胺基酸殘基為 P64 且其中 n 為 681。

【0819】 具體實例 378. 根據具體實例 346 之方法,其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量係在從約 1,000 道爾頓約 200,000 道爾頓,或從約 2,000 道爾頓至約 150,000 道爾頓,或從約 3,000 道爾頓至約 125,000 道爾頓,或從約 4,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 100,000 道爾頓,或從約 6,000 道爾頓至約 90,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 80,000 道爾頓,或從約 8,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 70,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 65,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓,或從約 5,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 6,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 7,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 8,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 8,500 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 8,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 9,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 9,500 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 9,500 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 10,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 15,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約 50,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約 45,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約 35,000 道爾頓,或從約 20,000 道爾頓至約 30,000 道爾頓之範圍內。

【0820】 具體實例 379. 之方法根據具體實例 346 之方法,其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓,約 7,500 道爾頓,約 10,000 道爾頓,約 15,000 道爾頓,約 20,000 道爾頓,約 25,000 道爾頓,約 30,000



道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓，約 50,000 道爾頓，約 60,000 道爾頓，約 70,000 道爾頓，約 80,000 道爾頓，約 90,000 道爾頓，約 100,000 道爾頓，約 125,000 道爾頓，約 150,000 道爾頓，約 175,000 道爾頓或約 200,000 道爾頓。

**【0821】** 具體實例 380. 根據具體實例 346 之方法，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 5,000 道爾頓，約 7,500 道爾頓，約 10,000 道爾頓，約 15,000 道爾頓，約 20,000 道爾頓，約 25,000 道爾頓，約 30,000 道爾頓，約 35,000 道爾頓，約 40,000 道爾頓，約 45,000 道爾頓或約 50,000 道爾頓。

**【0822】** 具體實例 381. 根據具體實例 1 至 380 中任一例之方法，其中該一或多種另外的藥劑為一或多個由下列組成之群中選出的免疫檢查點抑制劑：PD-1 抑制劑、PD-L1 抑制劑、PD-L2 抑制劑、CTLA-4 抑制劑、OX40 促效劑和 4-1BB 促效劑。

**【0823】** 具體實例 382. 根據具體實例 381 之方法，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-1 抑制劑。

**【0824】** 具體實例 383. 根據具體實例 382 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)、西普利單抗(cemiplimab)、派姆單抗(lambrolizumab)、AMP-224、信迪利單抗(sintilimab)、特瑞普利單抗(toripalimab)、卡瑞利珠單抗(camrelizumab)、替雷利珠單抗(tislelizumab)、達斯特單抗(dostarlimab)(GSK)、PDR001(Novartis)、MGA012 (Macrogenics/Incyte)、GLS-010 (Arcus/Wuxi)、AGEN2024 (Agenus)、西妥昔單抗(Janssen)、ABBV-181 (Abbvie)、AMG-404 (Amgen)、BI-754091 (Boehringer Ingelheim)、CC-90006 (Celgene)、JTX-4014 (Jounce)、PF-06801591 (Pfizer)及傑諾單抗(Apollomics/Genor BioPharma)。

**【0825】** 具體實例 384. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。

**【0826】** 具體實例 385. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。

**【0827】** 具體實例 386. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為西普利單抗。

【0828】 具體實例 387. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為派姆單抗。

【0829】 具體實例 388. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為 MP-224。

【0830】 具體實例 389. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為信迪利單抗。

【0831】 具體實例 390. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為特瑞普利單抗。

【0832】 具體實例 391. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為卡瑞利珠單抗。

【0833】 具體實例 392. 根據具體實例 383 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為替雷利珠單抗。

【0834】 具體實例 393. 根據具體實例 381 之方法，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-L1 抑制劑。

【0835】 具體實例 394. 根據具體實例 393 之方法，其中該一或多個 PD-L1 抑制劑係選自阿替珠單抗(atezolizumab)、阿維魯單抗(avelumab)、度伐魯單抗(durvalumab)、ASC22 (Amab/Ascletis)、CX-072 (Cytomx)、CS1001 (Cstone)、科西貝利單抗(Checkpoint Therapeutics)、INCB86550 (Incyte)及 TG-1501 (TG Therapeutics)。

【0836】 具體實例 395. 根據具體實例 394 之方法，其中該一或多個 PD-L1 抑制劑為阿替珠單抗。

【0837】 具體實例 396. 根據具體實例 394 之方法，其中該一或多個 PD-L1 抑制劑為阿維魯單抗。

【0838】 具體實例 397. 根據具體實例 394 之方法，其中該一或多個 PD-L1 抑制劑為度伐魯單抗。

【0839】 具體實例 398. 根據具體實例 381 之方法，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 CTLA-4 抑制劑。

【0840】 具體實例 399. 之方法根據具體實例 398 之方法，其中該一或多個 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗(tremelimumab)、伊匹單抗(ipilimumab) 及 AGEN-1884 (Agenus)。

【0841】 具體實例 400. 根據具體實例 399 之方法，其中該一或多個 CTLA-4 抑制劑為替西木單抗。

【0842】 具體實例 401. 根據具體實例 399 之方法，其中該一或多個 CTLA-4 抑制劑為伊匹單抗。

【0843】 具體實例 402. 根據具體實例 1 至 401 中任一例之方法，其中該對象中的癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、經典何杰金氏淋巴瘤(cHL)、原發性縱膈腔大 B 細胞淋巴瘤(PMBCL)、泌尿道上皮細胞癌、微小衛星體的不穩定性癌、微小衛星體的穩定性癌症、胃癌、子宮頸癌、肝細胞癌(HCC)、默克細胞癌(MCC)、黑色素瘤、小細胞肺癌(SCLC)、食道癌、膠質母細胞瘤、間皮瘤、乳癌、三陰性乳癌、前列腺癌、去勢抗性前列腺癌、轉移性去勢抗性前列腺癌、或具有 DNA 損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢抗性前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低度突變負荷之腫瘤、皮膚鱗狀細胞癌(CSCC)、鱗狀細胞皮膚癌(SCSC)、低至無表現 PD-L1 之腫瘤、在其原發解剖起源位置以外全身性傳播至肝臟及 CNS 之腫瘤及瀰漫性大 B-細胞淋巴瘤。

【0844】 具體實例 403. 根據具體實例 402 之方法，其中該對象中的癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、泌尿道上皮細胞癌和黑色素瘤。

【0845】 具體實例 404. 根據具體實例 1 至 403 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物係每週一次，每 2 週一次，每 3 週一次，每 4 週一次，每 5 週一次，每 6 週一次，每 7 週一次，或每 8 週一次投予該有此需要的對象。

【0846】 具體實例 405. 根據具體實例 404 之方法，其中該 IL-2 接合物係每週一次，每 2 週一次，或每 3 週一次投予該有此需要的對象。

【0847】 具體實例 406. 根據具體實例 405 之方法，其中該 IL-2 接合物係每 2 週一次投予該有此需要的對象。

【0848】 具體實例 407. 根據具體實例 405 之方法，其中該 IL-2 接合物每 3 週一次投予該有此需要的對象。

【0849】 具體實例 408. 根據具體實例 1 至 407 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成血管滲漏症候群。

【0850】 具體實例 409. 根據具體實例 408 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 2 級、3 級或 4 級血管滲漏症候群。

【0851】 具體實例 410. 根據具體實例 409 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 2 級血管滲漏症候群。

【0852】 具體實例 411. 根據具體實例 409 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 3 級血管滲漏症候群。

【0853】 具體實例 412. 根據具體實例 409 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 4 級血管滲漏症候群。

【0854】 具體實例 413. 根據具體實例 1 至 412 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成血管緊張性喪失。

【0855】 具體實例 414. 根據具體實例 1 至 413 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成血漿蛋白外滲和體液進入血管外空隙。

【0856】 具體實例 415. 根據具體實例 1 至 414 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成低血壓和降低器官灌注。

【0857】 具體實例 416. 根據具體實例 1 至 415 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成嗜中性白血球功能障礙。

【0858】 具體實例 417. 根據具體實例 1 至 415 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成趨化性降低。

【0859】 具體實例 418. 根據具體實例 1 至 417 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物與該對象中播散性感染風險增加無關。

【0860】 具體實例 419. 根據具體實例 418 之方法，其中該播散性感染為敗血症或細菌性心內膜炎。

【0861】 具體實例 420. 根據具體實例 419 之方法，其中該播散性感染為敗血症。

【0862】 具體實例 421. 根據具體實例 419 之方法，其中該播散性感染為細菌性心內膜炎。

【0863】 具體實例 422. 根據具體實例 1 至 421 中任一例之於一對象中治療癌症的方法，其中該對象在投予 IL-2 接合物之前係進行治療先前存在的細菌性感染。

【0864】 具體實例 423. 根據具體實例 422 之方法，其中該對象在投予 IL-2 接合物之前係以選自苯唑青黴素(oxacillin)、萘夫西林(nafcillin)、環丙沙星(ciprofloxacin)及萬古黴素(vancomycin)之抗細菌劑治療。

【0865】 具體實例 424. 根據具體實例 1 至 423 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會使該對象中先前存在的或初期呈現的自體免疫疾病或發炎病症惡化。

【0866】 具體實例 425. 根據具體實例 424 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會使該對象中先前存在的或初期呈現的自體免疫疾病惡化。

【0867】 具體實例 426. 根據具體實例 424 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在使該對象中先前存在的或初期呈現的發炎病症惡化。

【0868】 具體實例 427. 根據具體實例 424 之方法，其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症係選自克隆氏症、硬皮病、甲狀腺炎、發炎性關節炎、糖尿病、眼-延髓重肌無力症、急進性 IgA 腎小球腎炎、膽囊炎、腦血管炎、史蒂芬強森症候群(Stevens-Johnson syndrome)和大炮性類天皰瘡。

【0869】 具體實例 428. 根據具體實例 427 之方法，其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為克隆氏症。

【0870】 具體實例 429. 根據具體實例 427 之方法，其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為硬皮病。

【0871】 具體實例 430. 根據具體實例 427 之方法，其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為甲狀腺炎。

【0872】 具體實例 431. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為發炎性關節炎。

【0873】 具體實例 432. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為糖尿病。

【0874】 具體實例 433. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為眼-延髓重肌無力症。

【0875】 具體實例 434. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為急進性 IgA 腎小球腎炎。

【0876】 具體實例 435. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為膽囊炎。

【0877】 具體實例 436. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為腦血管炎。

【0878】 具體實例 437. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為史蒂芬強森症候群。

【0879】 具體實例 438. 根據具體實例 427 之方法,其中該對象中之自體免疫疾病或發炎病症為大胞性類天皰瘡。

【0880】 具體實例 439. 根據具體實例 1 至 438 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成精神狀態改變、說話困難、皮質性盲症、四肢或步態共濟失調、幻覺、激動、感覺遲鈍或昏迷。

【0881】 具體實例 440. 根據具體實例 1 至 439 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成痙攣。

【0882】 具體實例 441. 根據具體實例 1 至 440 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於具有已知痙攣病症之對象不會有禁忌。

【0883】 具體實例 442. 根據具體實例 1 至 441 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成毛細血管滲透症候群。

【0884】 具體實例 443. 根據具體實例 442 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 2 級、3 級或 4 級的毛細血管滲透症候群。

【0885】 具體實例 444. 根據具體實例 443 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 2 級的毛細血管滲透症候群。

【0886】 具體實例 445. 根據具體實例 443 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 3 級的毛細血管滲透症候群。

【0887】 具體實例 446. 根據具體實例 443 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不會在該對象中造成 4 級的毛細血管滲透症候群。

【0888】 具體實例 447. 根據具體實例 1 至 446 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會在該對象中造成平均動脈血壓下降。

【0889】 具體實例 448. 根據具體實例 1 至 447 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會在該對象中造成低血壓。

【0890】 具體實例 449. 根據具體實例 448 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會在使對象的收縮壓低於 90 mm Hg 或與基線收縮壓相比下降 20 mm Hg。

【0891】 具體實例 450. 根據具體實例 1 至 449 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會在該對象中造成貧血。

【0892】 具體實例 451. 根據具體實例 1 至 450 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會在該對象中造成腎或肝功能障礙。

【0893】 具體實例 452. 根據具體實例 1 至 451 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會在該對象中造成嗜酸性白血球增多。

【0894】 具體實例 453. 根據具體實例 452 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  500 個。

【0895】 具體實例 454. 根據具體實例 452 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  500 個至每  $\mu\text{L}$  1500 個。

【0896】 具體實例 455. 根據具體實例 452 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  1500 個至每  $\mu\text{L}$  5000 個。

【0897】 具體實例 456. 根據具體實例 452 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會造成該對象之週邊血液中嗜酸性白血球計數超過每  $\mu\text{L}$  5000 個。

【0898】 具體實例 457. 根據具體實例 1 至 456 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在進行精神性藥物之療法的對象不會有禁忌。

【0899】 具體實例 458. 根據具體實例 1 至 457 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在進行腎毒性、骨髓毒性、心毒性或肝毒性藥物之療法的對象不會有禁忌。

【0900】 具體實例 459. 根據具體實例 458 之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在進行胺基糖苷、細胞毒性化療、多柔比星 (doxorubicin)、甲胺喋呤或天門冬醯胺酸酶之療法的對象不會有禁忌。

【0901】 具體實例 460. 根據具體實例 1 至 459 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物對於正在接受含有抗腫瘤劑之組合療法的對象不會有禁忌。

【0902】 具體實例 461. 根據具體實例 460 之方法,其中該抗腫瘤劑係選自達卡巴仁(dacarbazine)、順鉑(cis-platinum)、泰莫西芬(tamoxifen)和干擾素- $\alpha$ 。

【0903】 具體實例 462. 根據具體實例 1 至 461 中任一例之方法,其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物,在 IL-2 接合物投予該對象後,不會在該對象中造成一或多件 4 級不良事件。

【0904】 具體實例 463. 如具體實例 462 之方法,其中該一或多件 4 級不良事件係選自體溫過低;休克;心跳過慢;室性期外收縮;心肌缺氧;



昏厥；出血；心房節律不整；靜脈炎；第二型房室傳導阻滯；心內膜炎；心包膜積水；外周性壞疽；栓塞；冠狀動脈疾病；口腔炎；噁心和嘔吐；肝功能檢測異常；胃腸道出血；吐血；血痢；腸胃病症；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血液尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；呼吸性酸中毒；嗜睡；激動；神經病變；偏執反應；抽搐；大發作抽搐；譫妄；氣喘、肺水腫；過度換氣；缺氧；咳血；換氣不足；氣胸；瞳孔散大；瞳孔病症；腎功能異常；腎衰竭；和急性腎小管壞死。

**【0905】** 具體實例 464. 根據具體實例 1 至 463 中任一例之方法，其中投予一群對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該等對象後，不會在大於 1% 之對象中造成一或多件 4 級不良事件。

**【0906】** 具體實例 465. 根據具體實例 464 之方法，其中該一或多件 4 級不良事件係選自體溫過低；休克；心跳過慢；室性期外收縮；心肌缺氧；昏厥；出血；心房節律不整；靜脈炎；第二型房室傳導阻滯；心內膜炎；心包膜積水；外周性壞疽；栓塞；冠狀動脈疾病；口腔炎；噁心和嘔吐；肝功能檢測異常；胃腸道出血；吐血；血痢；腸胃病症；腸穿孔；胰臟炎；貧血；白血球減少；白血球增多症；低鈣血症；鹼性磷酸酶增加；血液尿素氮(BUN)增加；高尿酸血症；非蛋白氮(NPN)增加；呼吸性酸中毒；嗜睡；激動；神經病變；偏執反應；抽搐；大發作抽搐；譫妄；氣喘、肺水腫；過度換氣；缺氧；咳血；換氣不足；氣胸；瞳孔放大；瞳孔放病症；腎功能異常；腎衰竭；和急性腎小管壞死。

**【0907】** 具體實例 466. 根據具體實例 1 至 465 中任一例之方法，其中投予一群對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該等對象後，不會在大於 1% 之該等對象中造成一或多件不良事件，其中該一或多件不良事件係選自十二指腸潰瘍；腸壞死；心肌炎；室上性心搏過速；視神經炎後續發的永久性或暫時性失明；暫時性腦缺血；腦膜炎；腦水腫；心包膜炎；過敏性間質性腎炎；和氣管食道瘻管。

**【0908】** 具體實例 467. 根據具體實例 1 至 466 中任一例之方法，其中投予一群對象有效量的 IL-2 接合物，在 IL-2 接合物投予該等對象後，不會在

大於 1%之該等對象中造成一或多件不良事件，其中該一或多件不良事件係選自惡性高熱；心臟停搏；心肌梗塞；肺動脈栓塞；中風；腸穿孔；肝或腎衰竭；嚴重憂鬱導致自殺；肺水腫；呼吸停止；呼吸衰竭。

【0909】 具體實例 468. 根據具體實例 1 至 467 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在無增加該對象中週邊 CD4+調節 T 細胞下，增加了該對象中週邊 CD8+ T 和 NK 細胞之數目。

【0910】 具體實例 469. 根據具體實例 1 至 468 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在無增加該對象中週邊嗜酸性白血球數目下，增加了該對象中週邊 CD8+ T 和 NK 細胞之數目。

【0911】 具體實例 470. 根據具體實例 1 至 469 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物，在無增加該對象中腫瘤內 CD4+調節 T 細胞數目下，增加了該對象中腫瘤內 CD8+ T 和 NK 細胞之數目。

【0912】 具體實例 471. 根據具體實例 1 至 470 中任一例之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不需要有可取得的重症照護設施或熟習心肺或重症加護醫療之專家。

【0913】 具體實例 472. 根據具體實例 471 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不需要有可取得的重症照護設施。

【0914】 具體實例 473. 根據具體實例 471 之方法，其中投予該對象有效量的 IL-2 接合物不需要有可取得的熟習心肺或重症加護醫療之專家。

【0915】 具體實例 474. 根據具體實例 1 至 473 中任一例之方法，其中該癌症為實體腫瘤之形式。

【0916】 具體實例 475. 根據具體實例 1 至 473 中任一例之方法，其中該癌症為液體腫瘤之形式。

【0917】 具體實例 476. 根據具體實例 381 至 475 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物係在投予該對象一或多個免疫檢查點抑制劑之前，投予該對象。

【0918】 具體實例 477. 根據具體實例 381 至 475 中任一例之方法，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑在投予該對象 IL-2 接合物之前，投予該對象。

【0919】 具體實例 478. 根據具體實例 381 至 475 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物和一或多個免疫檢查點抑制劑係同時投予該對象。

【0920】 具體實例 479. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：1、SEQ ID NO：3 或 SEQ ID NO：4 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經與 PEG 基團共價鍵結的半胱胺酸置換。

【0921】 具體實例 480. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有選自下列之分子量：5kDa、10kDa、15kDa、20kDa、25kDa、30kDa、35kDa、40kDa、45kDa、50kDa 及 60kDa。

【0922】 具體實例 481. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 5kDa 之分子量。

【0923】 具體實例 482. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 10kDa 之分子量。

【0924】 具體實例 483. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 15kDa 之分子量。

【0925】 具體實例 484. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 20kDa 之分子量。

【0926】 具體實例 485. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 25kDa 之分子量。

【0927】 具體實例 486. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 30kDa 之分子量。

【0928】 具體實例 487. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 35kDa 之分子量。

【0929】 具體實例 488. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 40kDa 之分子量。

【0930】 具體實例 489. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 45kDa 之分子量。

【0931】 具體實例 490. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 50kDa 之分子量。

【0932】 具體實例 491. 根據具體實例 479 之方法，其中 PEG 基團具有 60kDa 之分子量。

【0933】 具體實例 492. 根據具體實例 479 至 491 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列且至少一個在 IL-2 接合物中經半胱胺酸置換的胺基酸殘基係選自 K34、T36、R37、T40、F41、K42、F43、Y44、E60、E61、E67、K63、P64、V68、L71 及 Y106。

【0934】 具體實例 493. 根據具體實例 479 至 491 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列且至少一個在 IL-2 接合物中經半胱胺酸置換的胺基酸殘基係選自 K34、T40、F41、K42、Y44、E60、E61、E67、K63、P64、V68 及 L71。

【0935】 具體實例 494. 根據具體實例 479 至 491 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列且至少一個在 IL-2 接合物中經半胱胺酸置換的胺基酸殘基係選自 K35、T37、R38、T41、F42、K43、F44、Y45、E61、E62、E68、K64、P65、V69、L72 及 Y107。

【0936】 具體實例 495. 根據具體實例 479 至 494 中任一例之方法，其中該一或多種另外的藥劑為一或多個由下列組成之群中選出的免疫檢查點抑制劑：PD-1 抑制劑、PD-L1 抑制劑、PD-L2 抑制劑、CTLA-4 抑制劑、OX40 促效劑和 4-1BB 促效劑。

【0937】 具體實例 496. 根據具體實例 495 之方法，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-1 抑制劑。

【0938】 具體實例 497. 根據具體實例 496 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗、納武單抗、西普利單抗、派姆單抗、AMP-224、信迪利單抗、特瑞普利單抗、卡瑞利珠單抗、替雷利珠單抗、達斯特單抗 (GSK)、PDR001 (Novartis)、MGA012 (Macrogenics/Incyte)、GLS-010 (Arcus/Wuxi)、AGEN2024 (Agenus)、西妥昔單抗(Janssen)、ABBV-181 (Abbvie)、AMG-404 (Amgen)。BI-754091 (Boehringer Ingelheim)、

CC-90006 (Celgene)、JTX-4014 (Jounce)、PF-06801591 (Pfizer)及傑諾單抗 (Apollomics/Genor BioPharma)。

【0939】 具體實例 498. 根據具體實例 495 之方法,其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-L1 抑制劑。

【0940】 具體實例 499. 根據具體實例 498 之方法,其中該一或多個 PD-L1 抑制劑係選自阿替珠單抗、阿維魯單抗、度伐魯單抗、ASC22(Amab/Ascleptis)、CX-072 (Cytomx)、CS1001 (Cstone)、科西貝利單抗 (Checkpoint Therapeutics)、INCB86550 (Incyte)及 TG-1501 (TG Therapeutics)。

【0941】 具體實例 500. 根據具體實例 495 之方法,其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 CTLA-4 抑制劑。

【0942】 具體實例 501. 根據具體實例 500 之方法,其中個該一或多 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗、伊匹單抗及 AGEN-1884 (Agenus)。

【0943】 具體實例 502. 一種於一對象中治療癌症的方法,該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物,及(b)一或多種另外的藥劑,其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列,其中至少一個非離胺酸殘基係經包括連接子和水溶性聚合物的離胺基酸置換。

【0944】 具體實例 503. 如具體實例 502 之方法,其中該水溶性聚合物為 PEG 基團。

【0945】 具體實例 504. 根據具體實例 502 或 503 之方法,其中該一或多種另外的藥劑為一或多由下列組成之群中選出的免疫檢查點抑制劑係: PD-1 抑制劑、PD-L1 抑制劑、PD-L2 抑制劑、CTLA-4 抑制劑、OX40 促效劑和 4-1BB 促效劑。

【0946】 具體實例 505. 根據具體實例 504 之方法,其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-1 抑制劑。

【0947】 具體實例 506. 根據具體實例 505 之方法,其中該一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗、納武單抗、西普利單抗、派姆單抗、AMP-224、信迪利單抗、特瑞普利單抗、卡瑞利珠單抗、替雷利珠單抗、dostarlimab (GSK)、PDR001 (Novartis)、MGA012 (Macrogenics/Incyte)、

GLS-010 (Arcus/Wuxi)、AGEN2024 (Agenus)、西妥昔單抗(Janssen)、  
ABBV-181 (Abbvie)、AMG-404 (Amgen)、BI-754091 (Boehringer Ingelheim)、  
CC-90006 (Celgene)、JTX-4014 (Jounce)、PF-06801591 (Pfizer)及傑諾單抗  
(Apollomics/Genor BioPharma)。

【0948】 具體實例 507. 根據具體實例 506 之方法,其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-L1 抑制劑。

【0949】 具體實例 508. 根據具體實例 507 之方法,其中該 PD-L1 抑制劑係選自阿替珠單抗、阿維魯單抗、度伐魯單抗、ASC22(Amab/Ascletis)、  
CX-072 (Cytomx)、CS1001 (Cstone)、科西貝利單抗(Checkpoint Therapeutics)、  
INCB86550 (Incyte)及 TG-1501 (TG Therapeutics)。

【0950】 具體實例 509. 根據具體實例 508 之方法,其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 CTLA-4 抑制劑。

【0951】 具體實例 510. 根據具體實例 509 之方法,其中該一或多個 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗、伊匹單抗及 AGEN-1884 (Agenus)。

【0952】 具體實例 511. 如具體實例 1 至 510 中任一例之方法,其中該 IL-2 接合物係包括一經由不可釋放鍵聯共價鍵結的 PEG 基團。

【0953】 具體實例 512. 如具體實例 11 至 511 中任一例之方法,其中該 IL-2 接合物係包括一不可釋放、共價鍵結之 PEG 基團。

【0954】 具體實例 513. 根據具體實例 1 至 512 中任一例之方法,其中在投予該 IL-2 接合物和一或多種另外的藥劑之後,該對象係經歷一藉由實體腫瘤反應評估標準(iRECIST)所測量之反應。

【0955】 具體實例 514. 根據具體實例 513 之方法,其中該反應為一完全反應、部分反應或穩定的疾病。

【0956】 具體實例 515. 根據具體實例 1 至 514 中任一例之方法,其中該 IL-2 接合物係藉由靜脈內、皮下、肌肉內、腦內、鼻內、動脈內、關節內、皮內、眼內、骨內輸注、腹膜內或鞘內給藥,投予該對象。

【0957】 具體實例 516. 根據具體實例 515 之方法,其中該 IL-2 接合物係藉由靜脈內、皮下或肌肉內給藥,投予一對象。

【0958】 具體實例 517. 根據具體實例 515 之方法，其中該 IL-2 接合物係藉由靜脈內給藥，投予一對象。

【0959】 具體實例 518. 根據具體實例 515 之方法，其中該 IL-2 接合物係藉由皮下給藥，投予一對象。

【0960】 具體實例 519. 根據具體實例 515 之方法，其中該 IL-2 接合物係藉由肌肉內給藥，投予一對象。

【0961】 具體實例 520. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為具有 SEQ ID NO：3 之 IL-2 接合物，其中在 IL-2 接合物中非離胺酸胺基酸係經離胺酸殘基置換且其中該離胺酸殘基係包括一或多個水溶性聚合物和共價連接子。

【0962】 具體實例 521. 如具體實例 520 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 SEQ ID NO：3 之 K34-Y106 區中。

【0963】 具體實例 522. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 K34。

【0964】 具體實例 523. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 F41。

【0965】 具體實例 524. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 F43。

【0966】 具體實例 525. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 K42。

【0967】 具體實例 526. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 E61。

【0968】 具體實例 527. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 P64。

【0969】 具體實例 528. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 R37。

【0970】 具體實例 529. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 T40。

【0971】 具體實例 530. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 E67。

【0972】 具體實例 531. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 Y44。

【0973】 具體實例 532. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 V68。

【0974】 具體實例 533. 如具體實例 521 之方法，其中該離胺酸殘基係位於 L71。

【0975】 具體實例 534. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多種另外的藥劑，其中該 IL-2 接合物為一介白素-2(IL-2)變體，其中在 IL-2 變體的胺基酸序列中非-離胺酸胺基酸係經胺基酸取代，而該胺基酸係包括：(a)離胺酸；(b)共價連接子；和(3)一或多個水溶性聚合物。

【0976】 具體實例 535. 如具體實例 520 至 534 中任一例之方法，其中一或多個水溶性聚合物係包括 PEG 基團。

【0977】 具體實例 536. 如具體實例 535 之方法，其中 PEG 基團為支鏈或直鏈 PEG 基團。

【0978】 具體實例 537. 根據具體實例 520 至 536 中任一例之方法，其中該一或多種另外的藥劑為一或多個由下列組成之群中選出的免疫檢查點抑制劑：PD-1 抑制劑、PD-L1 抑制劑、PD-L2 抑制劑、CTLA-4 抑制劑、OX40 促效劑和 4-1BB 促效劑。

【0979】 具體實例 538. 根據具體實例 537，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-1 抑制劑。

【0980】 具體實例 539. 根據具體實例 538 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗、納武單抗、西普利單抗、派姆單抗、AMP-224、信迪利單抗、特瑞普利單抗、卡瑞利珠單抗、替雷利珠單抗、達斯特單抗 (GSK)、PDR001 (Novartis)、MGA012 (Macrogenics/Incyte)、GLS-010 (Arcus/Wuxi)、AGEN2024 (Agenus)、西妥昔單抗(Janssen)、ABBV-181 (Abbvie)、AMG-404 (Amgen)。BI-754091 (Boehringer Ingelheim)、



CC-90006 (Celgene)、JTX-4014 (Jounce)、PF-06801591 (Pfizer)及傑諾單抗 (Apollomics/Genor BioPharma)。

【0981】 具體實例 540. 根據具體實例 539 之方法,其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 PD-L1 抑制劑。

【0982】 具體實例 541. 根據具體實例 540 之方法,其中該 PD-L1 抑制劑係選自阿替珠單抗、阿維魯單抗、度伐魯單抗、ASC22(Amab/Ascletis)、CX-072 (Cytomx)、CS1001 (Cstone)、科西貝利單抗(Checkpoint Therapeutics)、INCB86550 (Incyte)及 TG-1501 (TG Therapeutics)。

【0983】 具體實例 542. 根據具體實例 541 之方法,其中該一或多個免疫檢查點抑制劑係選自 CTLA-4 抑制劑。

【0984】 具體實例 543. 根據具體實例 542 之方法,其中該 CTLA-4 抑制劑係選自替西木單抗、伊匹單抗及 AGEN-1884(Agenus)。

【0985】 具體實例 544. 根據具體實例 381 至 543 中任一例之方法,其中該方法進一步係包括投予該對象一治療上有效量之一或多種血管內皮細胞生長因子(VEGF)路徑或哺乳動物雷帕黴素標靶(mTOR)抑制劑。

【0986】 具體實例 545. 根據具體實例 544 之方法,其中係投予該對象一或多個 VEGF 路徑抑制劑。

【0987】 具體實例 546. 根據具體實例 545 之方法,其中該一或多個 VEGF 路徑抑制劑係由下列組成之群中選出:血管內皮細胞生長因子受體(VEGFR)酪胺酸激酶抑制劑(TKI)和抗-VEGF 單株抗體。

【0988】 具體實例 547. 根據具體實例 546 之方法,其中該一或多個 VEGF 路徑抑制劑係選自一或多個 VEGFR TKI。

【0989】 具體實例 548. 根據具體實例 547 之方法,其中該一或多個 VEGFR TKI 係由下列組成之群中選出:卡博替尼(cabozantinib)、阿昔替尼(axitinib)、帕唑帕尼(pazopanib)、索拉非尼(sunitinib)或舒尼替尼(sorafenib)。

【0990】 具體實例 549. 根據具體實例 548 之方法,其中該一或多個 VEGFR TKI 為卡博替尼。

【0991】 具體實例 550. 根據具體實例 548 之方法,其中該一或多個 VEGFR TKIs 為阿昔替尼。

【0992】 具體實例 551. 根據具體實例 548 之方法，其中該一或多個 VEGFR TKI 為帕唑帕尼。

【0993】 具體實例 552. 根據具體實例 548 之方法，其中該一或多個 VEGFR TKI 為舒尼替尼。

【0994】 具體實例 553. 根據具體實例 548 之方法，其中該一或多個 VEGFR TKI 為索拉非尼。

【0995】 具體實例 554. 根據具體實例 546 之方法，其中該一或多個 VEGF 路徑抑制劑係選自一或多個抗-VEGF 單株抗體。

【0996】 具體實例 555. 根據具體實例 554 之方法，其中該一或多個抗-VEGF 單株抗體為貝伐珠單抗。

【0997】 具體實例 556. 根據具體實例 544 之方法，其中該一或多個 mTOR 抑制劑係由下列組成之群中選出：雷帕黴素(rapamycin)、依維莫司(everolimus)、替西羅莫司(temsirolimus)、地磷莫司(ridaforolimus)及地福莫司(deforolimus)。

【0998】 具體實例 557. 根據具體實例 556 之方法，其中該一或多個 mTOR 抑制劑為雷帕黴素。

【0999】 具體實例 558. 根據具體實例 556 之方法，其中該一或多個 mTOR 抑制劑為依維莫司。

【1000】 具體實例 559. 根據具體實例 556 之方法，其中該一或多個 mTOR 抑制劑為替西羅莫司。

【1001】 具體實例 560. 根據具體實例 556 之方法，其中該一或多個 mTOR 抑制劑為、地磷莫司(ridaforolimus)。

【1002】 具體實例 561. 根據具體實例 556 之方法，其中該一或多個 mTOR 抑制劑為地福莫司(deforolimus)。

【1003】 具體實例 562. 根據具體實例 544 至 561 中任一例之方法，其中該對象中的癌症為腎細胞癌(RCC)。

【1004】 具體實例 563. 根據具體實例 562 之方法，其中該一或多個 VEGFR TKI 為阿昔替尼或卡博替尼。

【1005】 具體實例 564. 根據具體實例 562 之方法，其中該一或多個 VEGFR TKI 為卡博替尼。

【1006】 具體實例 565. 根據具體實例 381 至 543 中任一例之方法，其中該一或多種另外的藥劑進一步係包括一或多種化療劑。

【1007】 具體實例 566. 根據具體實例 565 之方法，其中該一或多種化療劑係包括一或多種以鉑為基底的化療劑。

【1008】 具體實例 567. 根據具體實例 565 之方法，其中該一或多種化療劑係包括卡鉑和培美曲塞(pemetrexed)。

【1009】 具體實例 568. 根據具體實例 565 之方法，其中該一或多種化療劑係包括卡鉑(carboplatin)和 nab-紫杉醇(nab-paclitaxel)。

【1010】 具體實例 569. 根據具體實例 565 之方法，其中該一或多種化療劑係包括卡鉑和多西紫杉醇(docetaxel)。

【1011】 具體實例 570. 根據具體實例 565 至 569 中任一例之方法，其中該對象中的癌症為非小細胞肺癌(NSCLC)。

【1012】 具體實例 571. 根據具體實例 1 至 570 中任一例之方法，其中該一或多種另外的藥劑為一或多種化療劑。

【1013】 具體實例 572. 根據具體實例 571 之方法，其中該一或多種化療劑係包括一或多種以鉑為基底的化療劑。

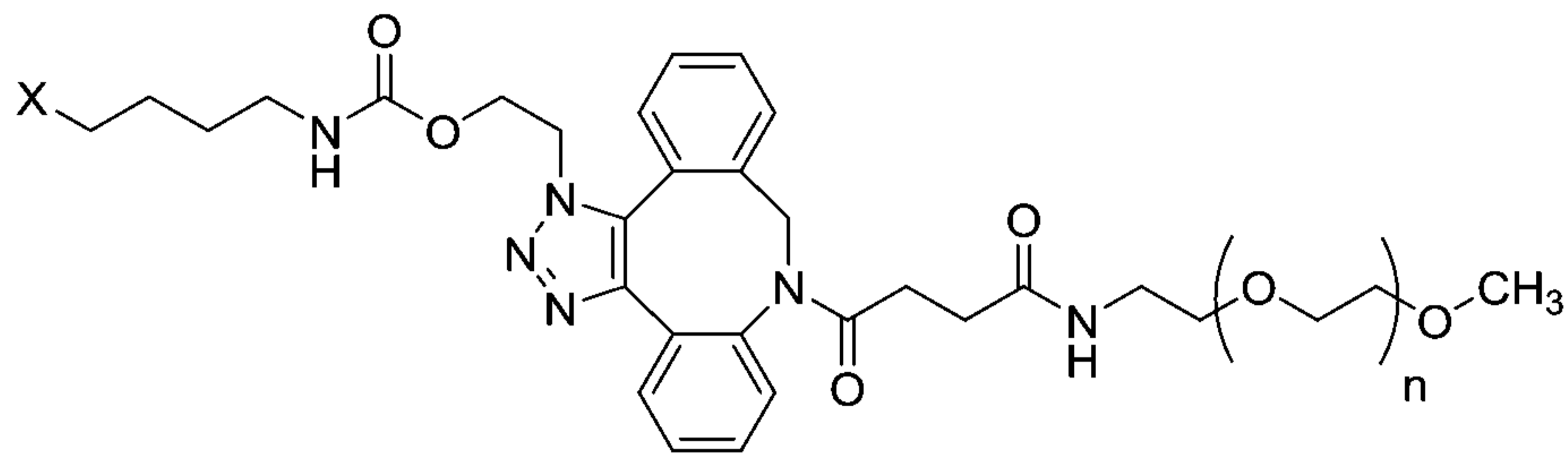
【1014】 具體實例 573. 根據具體實例 1 至 572 中任一例之方法，其中該對象在投予 IL-2 接合物和一或多種另外的藥劑之前，經檢測人類乳突病毒(HPV)為陽性。

【1015】 具體實例 574. 根據具體實例 572 之方法，其中該對象中的癌症為頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)。

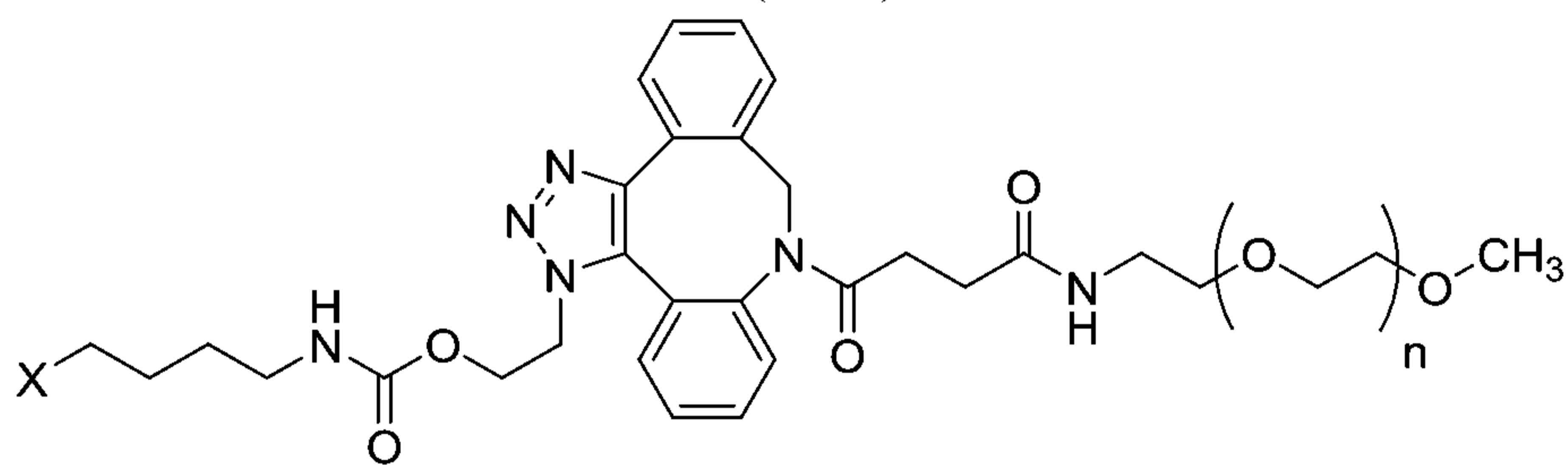
【1016】 具體實例 575. 根據具體實例 1 至 572 中任一例之方法，該方法進一步包括該對象經檢測人類乳突病毒(HPV)為陽性(HPV+)，接著投予該 IL-2 接合物和一或多種另外的藥劑。

【1017】 具體實例 576. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個 PD-1 抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，

其中在 IL-2 接合物中位於 E61 或 P64 的胺基酸殘基係經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)和(IX)之混合物置換：



式(VIII)

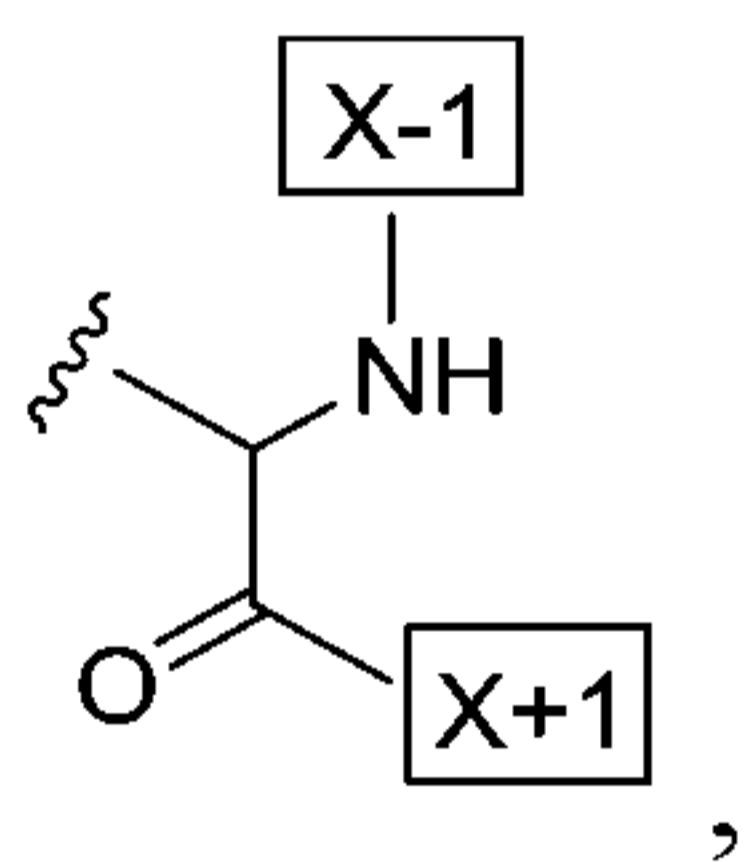


(IX)

其中：

$n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 15,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓；

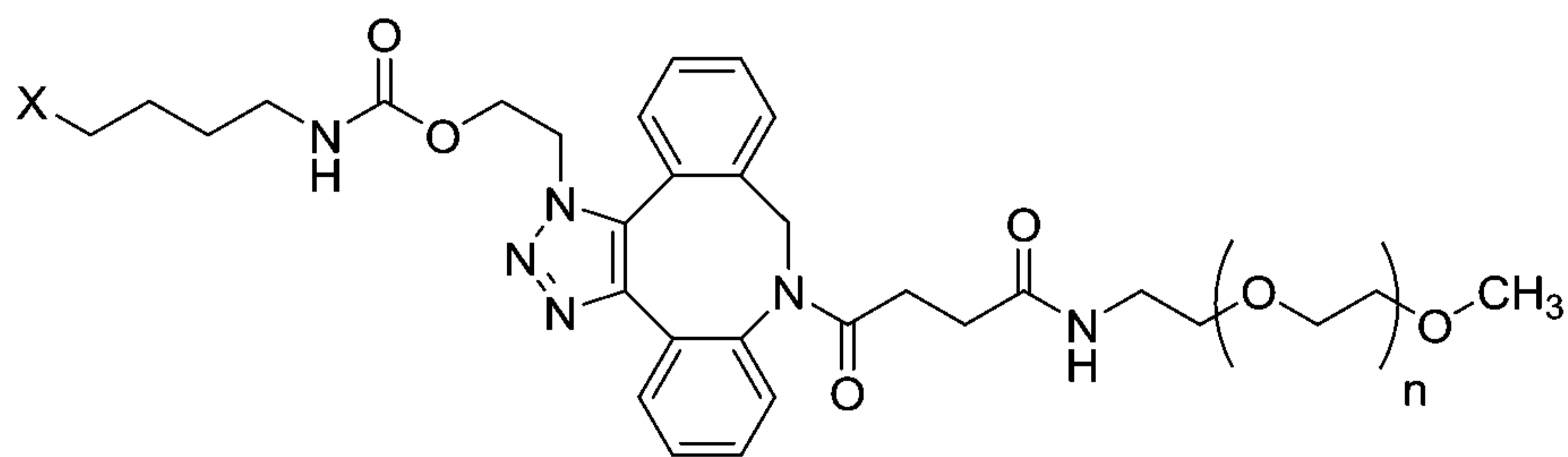
及



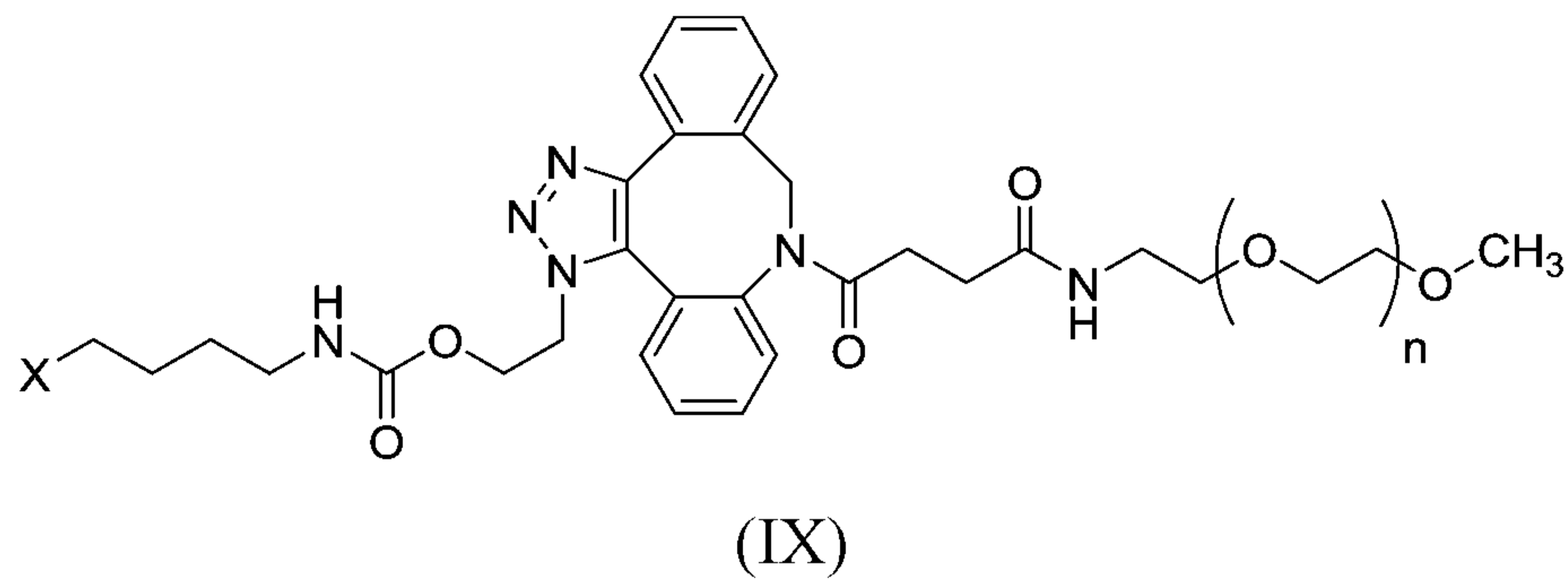
X 具有下列結構：

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【1018】** 具體實例 576.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個 PD-1 抑制劑之方法，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中在 IL-2 接合物中位於 E61 或 P64 的胺基酸殘基係經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)和(IX)之混合物置換：



式(VIII)

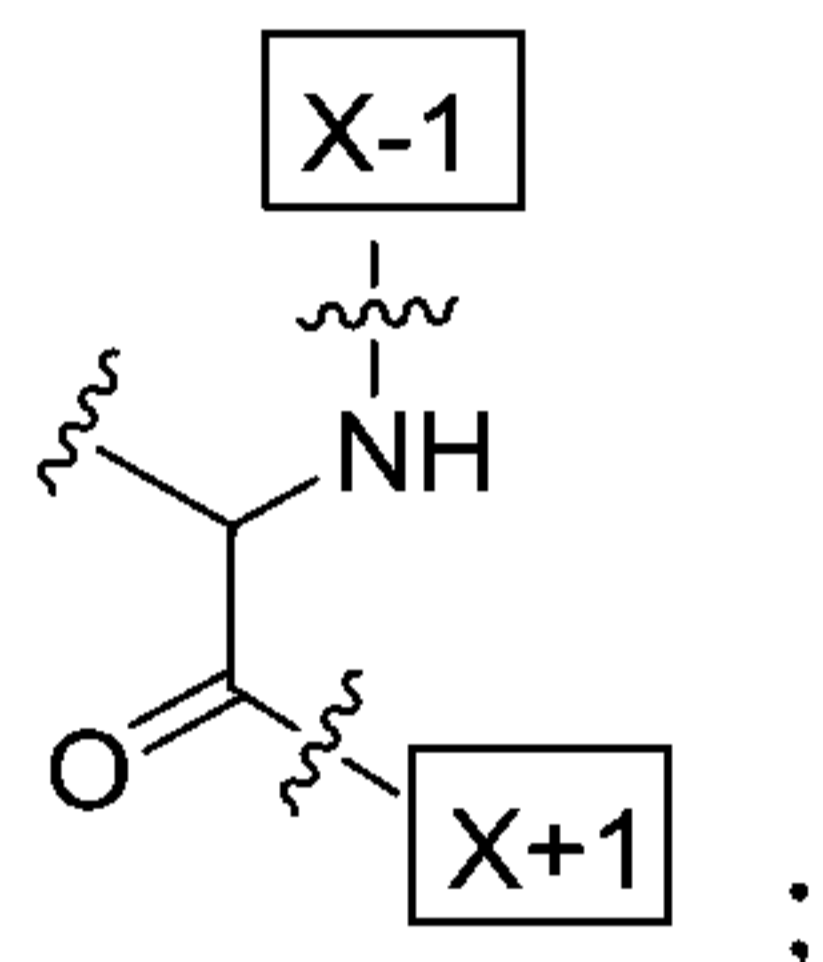


其中：

$n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 15,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓；

及

$X$  具有下列結構：



$X-1$  係指連接前面胺基酸殘基的點；及

$X+1$  係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

**【1019】** 具體實例 577. 如具體實例 576 或 576.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中位於 E61 的胺基酸殘基係經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)和(IX)之混合物置換且其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。

**【1020】** 具體實例 578. 如具體實例 577 之方法，其中  $n$  為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30,000 道爾頓。

**【1021】** 具體實例 579. 如具體實例 577 或 578 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗或納武單抗。

**【1022】** 具體實例 580. 如具體實例 579 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。

**【1023】** 具體實例 581. 如具體實例 579 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。

【1024】 具體實例 582. 如具體實例 576 或 576.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中位於 P64 的胺基酸殘基係經式(VIII)或(IX)之結構，或(VIII)和(IX)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。

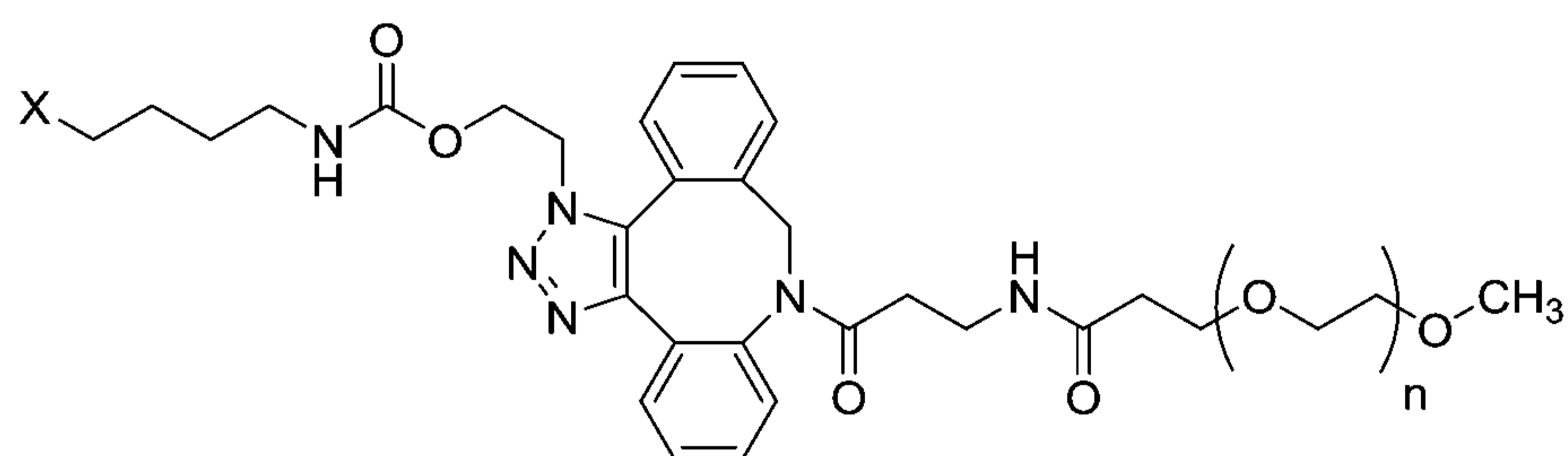
【1025】 具體實例 583. 如具體實例 582 之方法，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30,000 道爾頓。

【1026】 具體實例 584. 如具體實例 582 或 583 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗或納武單抗。

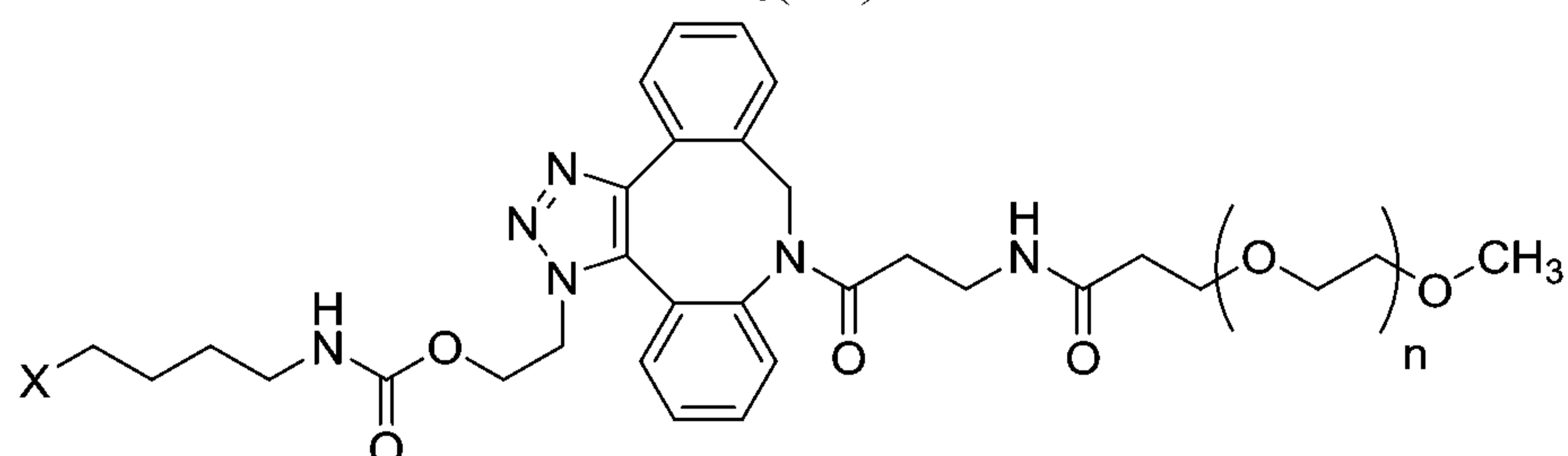
【1027】 具體實例 585. 如具體實例 584 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。

【1028】 具體實例 586. 如具體實例 584 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。

【1029】 具體實例 587. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個 PD-1 抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中在 IL-2 接合物中位於 E61 或 P64 的胺基酸殘基係經式(VI)或(VII)之結構，或(VI)和(VII)之混合物置換：



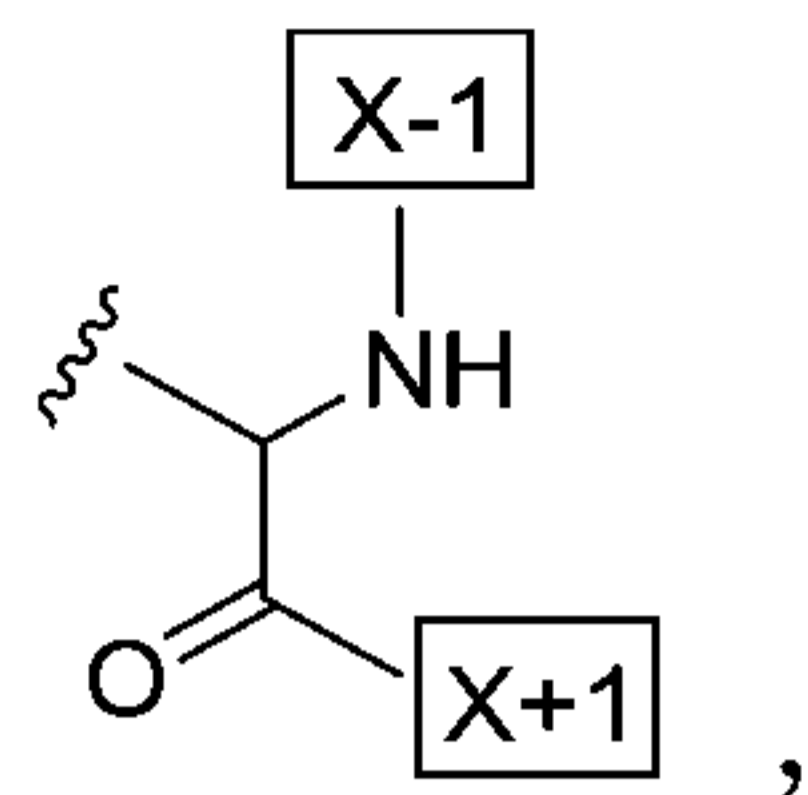
式(VI)



(VII)

其中：

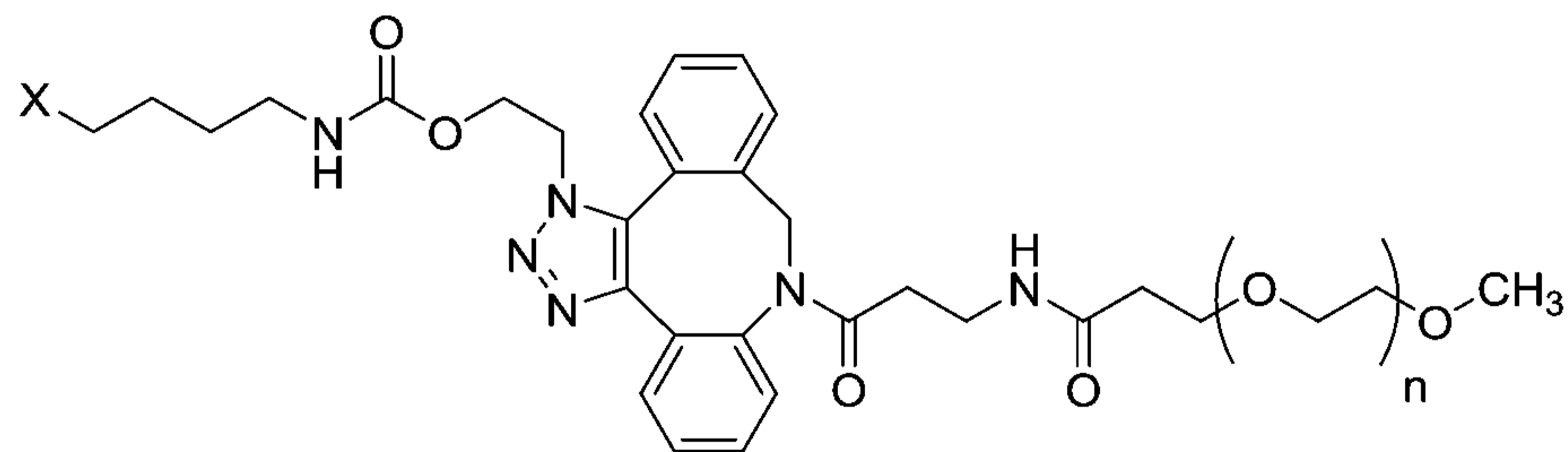
n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 15,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓；  
及



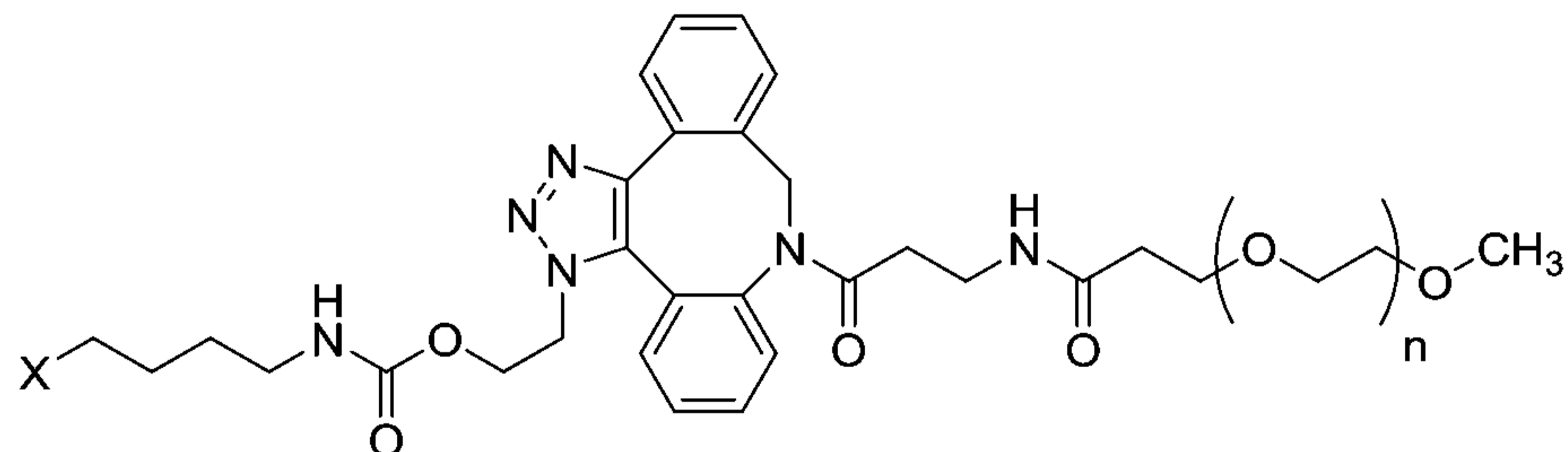
X 具有下列結構：

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【1030】 具體實例 587.1. 一種於一對象中治療癌症的方法，該方法係包括於一有此需要的對象中投予一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個 PD-1 抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中在 IL-2 接合物中位於 E61 或 P64 的胺基酸殘基係經式(VI)或(VII)之結構，或(VI)和(VII)之混合物置換：



式(VI)

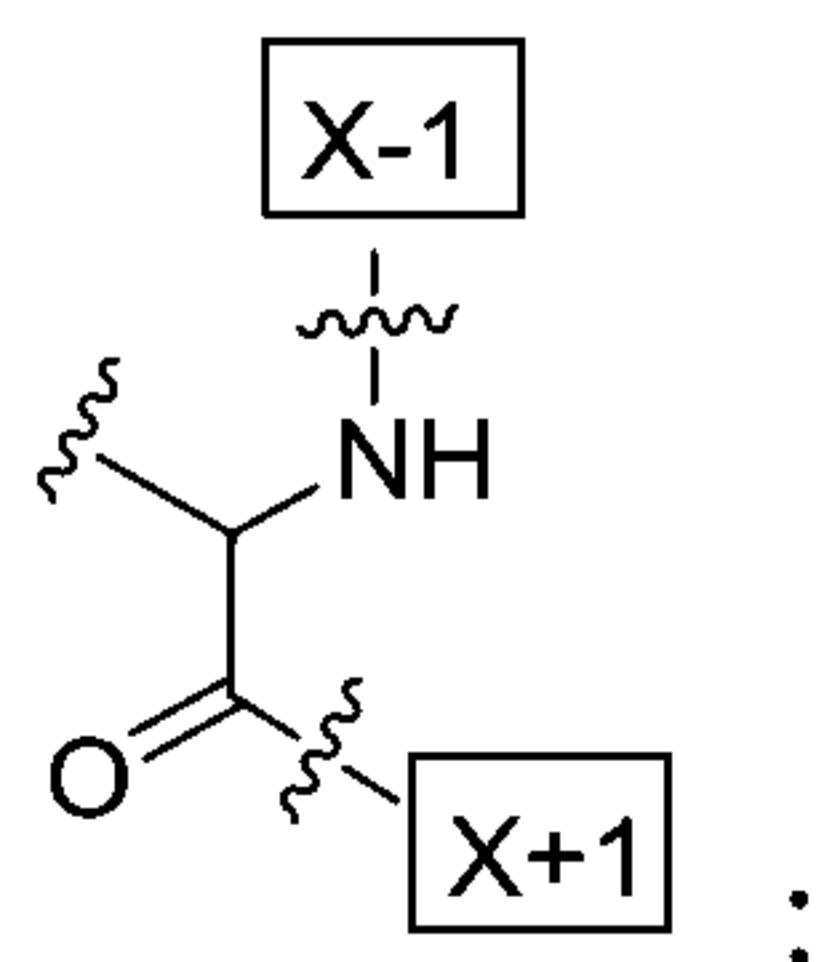


(VII)

其中：

n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 15,000 道爾頓至約 60,000 道爾頓；  
及

X 具有下列結構：



X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

或其醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【1031】 具體實例 588. 如具體實例 587 或 587.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中位於 E61 的胺基酸殘基係經式(VI)或(VII)之結構，或(VI)和(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。

【1032】 具體實例 589. 如具體實例 588 之方法，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 30,000 道爾頓。

【1033】 具體實例 590. 如具體實例 588 或 589 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗或納武單抗。

【1034】 具體實例 591. 如具體實例 590 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。

【1035】 具體實例 592. 如具體實例 590 之方法，其中此一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。

【1036】 具體實例 593. 如具體實例 587 或 587.1 之方法，其中在 IL-2 接合物中位於 P64 的胺基酸殘基係經式(VI)或(VII)之結構，或(VI)和(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為從約 20,000 道爾頓至約 40,000 道爾頓。

【1037】 具體實例 594. 如具體實例 593 之方法，其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30,000 道爾頓。

【1038】 具體實例 595. 如具體實例 593 或 594 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗或納武單抗。

【1039】 具體實例 596. 如具體實例 595 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。

【1040】 具體實例 597. 如具體實例 595 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。

【1041】 具體實例 598. 如具體實例 1-597 中任一例之方法，其中該 IL-2 接合物為一醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。



【1042】 具體實例 599. 一種 IL-2 接合物，係用於如具體實例 1-598 中任一例之方法。

【1043】 具體實例 600。 一種 IL-2 接合物之用途，係用於製造醫藥品供根據具體實例 1-598 中任一例之方法治療癌症。

### 實例

【1044】 這些實例僅提供做為說明性目的且並非限制文中所提供的請求項之範圍。

【1045】 在實例 2 至 8 中所揭示的各化合物係利用 SEQ ID NO：4 和 [AzK\_PEG]基團，其中在 IL-2 接合物中經取代的胺基酸位置係參照 SEQ ID NO：4 中的位置。

【1046】 例如，在表 3A 和 3B 中標示「P65\_5kD」的化合物係使用類似實例 2 中所揭示的方法所製備，其中首先係製備具有 SEQ ID NO：4 之蛋白，其中在位置 65 的脯胺酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)(SEQ ID NO：10)置換。然後讓含有 AzK-蛋白於點擊化學條件下與包括具有 5kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應，得到具有包括式(II)、式(III)或式(II)和(III)之混合物的 SEQ ID NO：20 之產物，其中 W 為一具有 5kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團。

【1047】 在另外的實例中，用於實例 4、實例 5、實例 6 及實例 11(在實例 11 中亦稱為「IL-2\_P65[AzK\_PEG30kD]」且就實例 11 及圖示中係稱為「化合物 A」)中，在表 3A 和 3B 中標示「P65\_30kD」的化合物，首先係先藉由製備具有 SEQ ID NO：4 之蛋白所製備，其中在位置 65 的脯胺酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)(SEQ ID NO：10)置換。然後讓含有 AzK-蛋白於點擊化學條件下與包括具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應，得到具有包括式(II)、式(III)或式(II)和(III)之混合物的 SEQ ID NO：25 之產物，其中 W 為一具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO：4 之胺基酸序列，其中在位置 65 的脯胺酸(P65)係經式(VI)或(VII)之結構或(VI)和(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團具有約 30 kDa 之分子量。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO：4 之胺基酸序列，其中在位置 65 的脯胺酸(P65)係經式(X)或(XI)之結構

或(X)和(XI)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團具有約 30 kDa 之分子量。

【1048】在另外的實例中，在表 3A 和 3B 中標示「P62\_5kD」的化合物首先係先藉由製備具有 SEQ ID NO：4 之蛋白所製備，其中在 SEQ ID NO：4 位置 62 的麩胺酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸 AzK (SEQ ID NO：11)置換。然後讓含有 AzK-蛋白於點擊化學條件下與包括具有 5kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應，得到具有包括式(II)、式(III)或式(II)和(III)之混合物的 SEQ ID NO：21 之產物，其中 W 為一具有 5kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團。

【1049】在另外的實例中，在表 3A 和 3B 中標示「E62\_30kD」且亦用於實例 4 中的化合物首先係先藉由製備具有 SEQ ID NO：4 之蛋白所製備，其中在位置 62 的麩胺酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)(SEQ ID NO：11)置換。然後讓含有 AzK-蛋白於點擊化學條件下與包括具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應，得到具有包括式(II)、式(III)或式(II)和(III)之混合物的 SEQ ID NO：26 之產物，其中 W 為一具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO：4 之胺基酸序列，其中在位置 62(E62)的麩胺酸係經式(VI)或(VII)之結構或(VI)和(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團具有約 30 kDa 之分子量。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO：4 之胺基酸序列，其中在位置 62(E62)的麩胺酸係經式(X)或(XI)之結構或(X)和(XI)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團具有約 30 kDa 之分子量。

【1050】在另外的實例中，在表 3A 和 3B 中標示「K35\_30kD」且亦用於實例 8 中的化合物首先係先藉由製備具有 SEQ ID NO：4 之蛋白所製備，其中在位置 35 的離胺酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK) (SEQ ID NO：14)置換。然後讓含有 AzK-蛋白於點擊化學條件下與包括具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應，得到具有包括式(II)、式(III)或式(II)和(III)之混合物的 SEQ ID NO：20 之產物，其中 W 為一具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO：4 之胺基酸序列，其中在位置 35 的離胺酸(K35)係經式(VI)或(VII)之結構或(VI)

和(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團具有約 30 kDa 之分子量。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列，其中在位置 35 的離胺酸(K35)係經式(X)或(XI)之結構或(X)和(XI)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團具有約 30 kDa 之分子量。

【1051】實例 9 和 10 係利用包括 SEQ ID NO: 50 之化合物「IL-2\_P65\_[AzK\_L1\_PEG30kD]-1」，其中在位置 64 的脯胺酸係經 AzK\_L1\_PEG30kD 置換，其中 AzK\_L1\_PEG30kD 係定義為式(IV)或式(V)之結構或式(IV)和(V)之混合物及 30 kDa 直鏈 mPEG。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 亦可定義為包括 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列，其中在位置 64 的脯胺酸(P64)係經式(VIII)或(IX)之結構或(VIII)和(IX)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團之分子量為約 30 kDa。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 亦可定義為包括 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列，其中在位置 64 的脯胺酸(P64)係經式(XII)或(XIII)之結構或(XII)和(XIII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團之分子量為約 30 kDa。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 在實例 12 和其後實例中及在圖示中係稱為「化合物 B」。此化合物係使用類等揭示於實例 2 中的方法所製備，其中係先製備具有 SEQ ID NO: 3 之蛋白，其中在位置 64 的脯胺酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸 AzK (SEQ ID NO: 35)置換。然後讓含有 AzK-蛋白於點擊化學條件下與包括具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應。

【1052】實例 11 係利用上述的化合物「IL-2\_P65[AzK\_PEG30kD]」(文中亦稱為「P65\_30kD」)。

## 實例 1

### 【1053】激酶和細胞激素受體二聚化分析

#### 細胞處理

【1054】將 PathHunter 細胞株從冷凍儲液根據標準程序擴增。將細胞以 20  $\mu$ L 的總體積植入白色孔壁、384-孔微量盤並在檢測前培養適當的時間。

#### 促效劑模式

【1055】關於促效劑測定，係將細胞與樣本培養，誘發反應。進行樣本儲液之中間稀釋，產生溶於分析緩衝液之 5X 樣本。將約 5  $\mu$ L 的 5X 樣本加到細胞中並依分析而定，於 37°C 培養 6 至 16 小時。媒劑濃度為 1%。

#### 訊號偵測

【1056】關於促效劑和拮抗劑分析，係分別經由單次加入 12.5 或 15  $\mu$ L (50 % v/v) 的 PathHunter 偵測試劑混合液，係產生分析訊號，接著於室溫培養 1 小時。就某些分析，係使用高敏感性偵測試劑(PathHunter Flash 套組)偵測活性，用以提升分析效能。在這些分析中，係於孔槽中加入等體積的偵測試劑(25 或 30  $\mu$ L)，接著於室溫培養 1 小時。在訊號產生後以 PerkinElmer Envision<sup>TM</sup> 儀器讀取微量盤讀數進行化學發光訊號偵測。

#### 數據分析

【1057】使用 CBIS 數據分析套件(ChemInnovation, CA)分析化合物活性。就促效劑分析，係使用下列公式計算活性百分比：

活性%=100% x (試驗樣本的平均 RLU-媒劑對照組的平均 RLU)/(對照配體的平均 MAX RLU- 媒劑對照組的平均 RLU)。

【1058】關於拮抗劑模型分析，係使用下列公式計算抑制百分比：

抑制%=100% x (1 - (試驗樣本的平均 RLU-媒劑對照組的平均 RLU)/(EC80 對照組的平均 RLU-媒劑對照組的平均 RLU))。

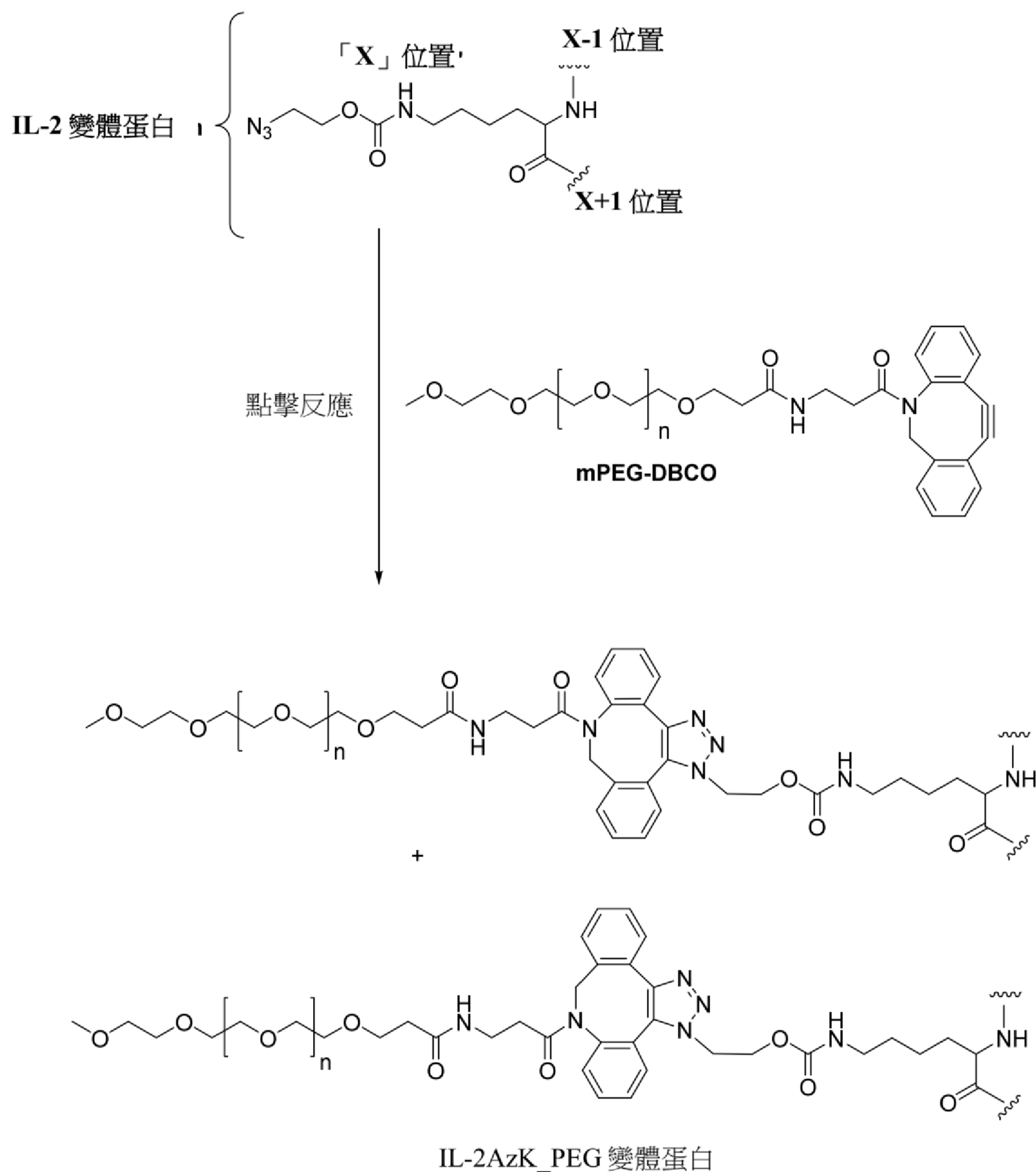
#### 實例 2

【1059】用於鑑別未連結 IL-2R $\alpha$  之聚乙二醇化 IL-2 化合物的以細胞為主之篩選

【1060】將例示的 IL-2 接合物進行功能性分析：K35、F42、K43、E62 和 P65。將 IL-2 接合物於大腸桿菌中使用文中所揭示的方法表現為包涵體，其中係製備編碼此帶有所欲胺基酸序列之蛋白的表現質體，其係含有(a)包括第一非天然核苷酸和第二非天然核苷酸之非天然鹼基對，用以提供在所欲位置之密碼子，在該位置係併入一非天然胺基酸 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)及一在 tRNA 的相配反密碼子，(b)一編碼衍生自馬氏甲烷八疊球菌之 tRNA 的質體且其係包括一非天然核苷酸用以提供一相配的反密碼子取代其天然序列，(c)一編碼巴氏甲烷八疊球菌衍生的吡咯離胺醯基-tRNA 合成酶

(*Mb* PyIRS)之質體及(d)N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)。編碼所欲 IL-2 變體之胺基酸序列的雙股寡核苷酸，在例如編碼具有 SEQ ID NO: 3 之蛋白序列的位置 34、37、40、41、42、43、44、61、64、68 或 71，或編碼具有 SEQ ID NO: 4 之蛋白序列的位置 35、38、41、42、43、45、62、65、69 或 72 含有一密碼子 AXC，其中 X 為如文中所揭示之非天然核苷酸。在某些具體實例中，此細胞進一步係包括可為蛋白表現質體之質體或編碼來自馬氏甲烷八疊球菌的正交 tRNA 基因之另外質體，其係包括一與 AXC-相配之反密碼子 GYT 取代其天然序列，其中 Y 為如文中所揭示之非天然核苷酸且其可與密碼子中的非天然核苷酸為相同的或不同的。X 和 Y 係選自如文中所揭示之非天然核苷酸 dTPT3、dNaM 和 dCNMO。使用標準程序純化此表現蛋白，之後使用 DBCO-媒介的無銅點擊化學將穩定的共價 mPEG 基團與 AzK 相連接進行含有 AzK-之 IL-2 產物位點專一性聚乙二醇化(流程 1)。

【1061】 流程 1 例示的 AzK\_PEG 介白素變體之合成(其中 n 係指重複的 PEG 單元之數目)。AzK 基團與 DBCO 炔基基團的反應可得到一位置異構物產物或位置異構物產物之混合物。



【1062】於 Discoverx (Fremont, CA) 使用 PathHunter IL-2 細胞激素受體分析進行 IL-2 接合物之功能活性篩選。此分析係使用表現 IL-2 受體  $\beta$  (IL-2R $\beta$ ) 和  $\gamma$  (IL-2R $\gamma$ ) 亞單位之重組的人類 U2OS 細胞株，其各自係與一半的分裂報導子酵素  $\beta$ -半乳糖苷酶融合。第二細胞株已進一步工程化用以表現 IL-2R $\alpha$  亞單位。這二株細胞株之平行檢測能評估 IL-2 受體  $\alpha\beta\gamma$  以及基礎  $\beta\gamma$  複合物之變體活化。IL-2  $\beta\gamma$  受體複合物上的 IL-2 促效劑刺激受體二聚化及報導子  $\beta$ -半乳糖苷酶重建，產生化學發光訊號。此分析係以促效劑模式運作，用以測定各受試物品之  $EC_{50}$  且比較 IL2R $\alpha$  陽性和陰性細胞類型之間的劑量反應曲線態樣能測定 IL2R $\alpha$  對所觀察的活性之貢獻。

【1063】 表2 係顯示在以細胞為主之篩選中對 10kD(除非有標註)PEG 化 IL-2 接合物之 IL-2 受體促效作用的 EC50 數據。

表 2.

位置	$\beta\gamma$ EC50 (nM)	$\alpha\beta\gamma$ EC50 (nM)	$\beta\gamma/\alpha\beta\gamma$ 比率
天然	1.68	0.074	23
理想	1.68	1.68	1
K35	6.75	0.15	45
F42	6.09	0.515	12
K43	9.84	0.131	75
E62	3	1.5	2
P65*	23.8	4.44	5
R38	4.16	0.165	25
T41	6.37	0.0489	130
E68	7.70	0.0893	86
Y45*	9.06	0.110	83
V69*	9.99	0.083	121

\*係指 30kD PEG 化 IL-2 接合物。

#### 【1064】 PEG 化 IL-2 與人類 IL-2 受體亞單位之生化相互作用

【1065】 使用表面電漿共振(SPR)於 Biosensor Tools LLC (Salt Lake City, UT)測定 PEG 化 IL-2 化合物與人類 IL-2 受體亞單位相互作用的動力學。就這些研究,係將人類 IgG1 Fc-融合 IL-2 R $\alpha$ (Sino Biological #10165-H02H)和  $\beta$ (Sino Biological #10696-H02H)胞外區捕捉至 Biacore 蛋白 A-塗覆 CM4 感應晶片之表面。這些表面係以雙重複,以二-倍連續稀釋以 2 $\mu$ M 的天然 IL-2(野生型 IL-2; Thermo # PHC0021)、P65\_30kD、P65\_5kD、E62\_30kD 或 E62\_5kD 開始,使用 Biacore 2000 SPR 儀器探測。注射試驗樣本歷時 60 秒用以測量結合,接著僅注射緩衝液(清洗)歷時 30 秒用以測量解離。將反應單位(RU, Y-軸)對時間(s, X-軸)作圖。

【1066】 就評估 IL-2 受體  $\alpha$  亞單位對 IL-2 結合  $\beta$  之效應，係以相對於  $\beta$  約二-倍超量捕捉  $\alpha$ 。於這些表面，以三-倍連續稀釋於 2.5 $\mu$ M 開始，施以天然 IL-2(野生型 IL-2)、P65\_30kD、P65\_5kD、E62\_30kD 或 E62\_5kD。將包括大變動之結合數據與 1:1 相互作用模型擬合且摘要動力學參數係彙整於表 3A 和表 3B 中。如表 3A 和表 3B 中所示，小的 PEG 消除 IL2R $\alpha$  結合，但對 IL2R $\beta$  結合具有較低非專一性效應。

表 3A. IL-2 變體與個別 IL-2 受體亞單位表面-IL-2 受體  $\alpha$  表面相互作用的動力學參數

	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ ( $\mu$ M)
IL-2 天然	$4.5 \pm 0.3 \times 10^7$	$0.410 \pm 0.01$	$0.009 \pm 0.002$
P65_30kD	$114 \pm 36 \times 10^7$	$0.018 \pm 0.008$	$158 \pm 21$
P65_5kD	$797 \pm 226 \times 10^7$	$0.033 \pm 0.004$	$42 \pm 7$
E62_30kD	$333 \pm 88 \times 10^7$	$0.050 \pm 0.01$	$162 \pm 7$
E62_5kD	$1010 \pm 41 \times 10^7$	$0.035 \pm 0.002$	$34.4 \pm 0.3$

表 3B. IL-2 變體與個別 IL-2 受體亞單位表面-IL-2 受體  $\beta$  表面相互作用的動力學參數

	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ ( $\mu$ M)
IL-2 天然	$1.3 \pm 0.2 \times 10^6$	$0.185 \pm 0.009$	$0.145 \pm 0.005$
P65_30kD	$1.8 \pm 0.2 \times 10^5$	$0.370 \pm 0.01$	$2.09 \pm 0.09$
P65_5kD	$9.0 \pm 0.4 \times 10^5$	$0.270 \pm 0.01$	$0.305 \pm 0.002$
E62_30kD	$1.8 \pm 0.4 \times 10^5$	$0.208 \pm 0.006$	$1.14 \pm 0.01$
E62_5kD	$6.6 \pm 0.8 \times 10^5$	$0.281 \pm 0.004$	$0.428 \pm 0.00$

【1067】 在初級人類白血球滅除系統(LRS)-衍生的 PBMC 樣本中 IL-2 化合物之活體外免疫反應剖析

【1068】 為了測定 IL-2 P65\_30kD、K64\_30kD、K43\_30kD、K35\_30kD 和 F42\_30kD 之差異性受體專一性如何達到初級免疫細胞亞群族之活化，係使用多色流式細胞分析於人類 LRS-衍生的週邊血液單核細胞(PBMC)樣本中進



行淋巴細胞活化的濃度反應剖析。這些研究係於 PrimityBio LLC (Fremont, CA) 進行。將新鮮 LRS-衍生的樣本以天然 IL-2、L-2 P65\_30kD、K64\_30kD、K43\_30kD、K35\_30kD 及 F42\_30kD 以 5-倍連續稀釋由 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的最高濃度開始進行處理。培養 45 min 後，將樣本固定並以抗體染色，偵測轉錄因子 STAT5(pSTAT5)(一種上游結合標記)之磷酸化形式和 IL-2 受體訊號傳遞複合物的活化及一組表面標記用以追蹤特異性 T 細胞和天然殺手(NK)細胞亞群族中 pSTAT5 形成。用於 LRS-衍生的 PBMC 樣本之流式細胞研究的染色板組係包括效應子 T 細胞(Teff: CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD127<sup>+</sup>)、NK 細胞(CD3<sup>-</sup>、CD16<sup>+</sup>)及調節 T 細胞(Treg: CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>-</sup>、IL-2R $\alpha$ <sup>+</sup>、CD127<sup>-</sup>)標記。

【1069】就不同 T 和 NK 細胞亞組在濃度反應模式之活化，將分析流式細胞術數據，以天然 IL-2 處理後，讀取 pSTAT5 累積量。由於 IL-2 R $\alpha$  之 Treg-專一性表現，相較於 CD8 Teff 和 NK 細胞，天然 IL-2 展現在 Treg 中對 pSTAT5 刺激之增強效力。相較於天然化合物，PEG 化的變體在 CD8 T 細胞和 NK 細胞群族上展現中度降低的效力，但在有關天然 IL-2 之 IL-2 R $\alpha$  表現 Treg 細胞的效力上顯現差異的下降。

【1070】表 4 係提供在人類 LRS 樣本或經所示的 IL-2 變體處理之 CTLL-2 增生中 pSTAT5 訊號傳遞(EC50)的劑量反應 EC50。

表 4. 在人類 LRS 樣本或經所示的 IL-2 變體處理之 CTLL-2 增生中 pSTAT5 訊號傳遞(EC50)的劑量反應 EC50

處理	NK 細胞	Treg 細胞	CD8+T 細胞	CD8/Treg 比率	CTLL-2
天然 IL-2	5150.5	62.5	25703.5	411.3	846
E62_30kD	12834	37213	66644	1.8	398,012
E62_5kD	5327.5	18146	41552.5	2.3	275,590
E62K	10305	11086	64037	5.8	58,213
P65_30kD	15741	40740.5	113638	2.8	677,198
P65_5kD	1920	6324.5	13769.5	2.2	194,924
K35_30kD	14021	358	63023	176.0	N.D.
F42_30kD	16397	36856	107944	2.9	123,936
K43_30kD	9004	4797	50504	10.5	N.D.

N.D. = 未測定

【1071】 從 MFI 作圖產生的劑量反應曲線計算 EC50 值(pg/mL)。

### 實例 3

【1072】 **PEG 和殘基取代促成 No- $\alpha$  藥理學**

【1073】 就測定 PEG 和殘基取代是否會影響 IL-2 E62 之 no- $\alpha$  藥理學，係使用多色流式細胞術在人類 LRS-衍生的週邊血液單核細胞(PBMC)樣本中進行淋巴細胞活化的濃度反應剖析。這些研究係以 PrimityBio LLC (Fremont, CA)進行。將新鮮 LRS-衍生的樣本以天然 IL-2、E62K 或 E62\_30kD 以 5-倍連續稀釋由 30  $\mu$ g/mL 的最高濃度開始進行處理。培養 45 min 後，將樣本固定並以抗體染色，偵測轉錄因子 STAT5 (pSTAT5)(一種上游結合標記)之磷酸化形式和 IL-2 受體訊號傳遞複合物的活化及一組表面標記用以追蹤特異性 T 細胞和天然殺手(NK)細胞亞群族中 pSTAT5 形成。用於 LRS-衍生的 PBMC 樣本之流式細胞研究的染色板組係包括標記 CD4、CD4+記憶中心、CD4+記憶效用、CD4+記憶 T 細胞、CD4+原生 T 細胞、CD4+ T 細胞、CD8, CD8+記憶中心、CD8+記憶效用、CD8+記憶 T 細胞、CD8+原生 T 細胞、CD8+T 細胞、NK 細胞及 T 調節細胞。

### 實例 4

【1074】 **在純淨(naïve)(E3826-U1704)和帶有 B16-F1 腫瘤 (E3826-U1803)C57BL/6 小鼠中之 PK/PD 研究**

【1075】 此研究設計係彙整於表 5 和表 6 中，其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量之蛋白組份的質量來計算。在所指的點經由心臟穿刺收集終端血液樣本。研究 E3826-U1704，包括 13 個時間點(0.13、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48、72、96 和 120 h)在每個時間點殺死 3 隻小鼠，及研究 E3826-U1803 係包括 9 個時間點(2、8、12、24、48、72、120、168 和 240 h)每個時間點殺死 4-7 隻小鼠。在 E3826-U1803 研究中收集血漿和血液細胞(在二個研究中)和腫瘤進行 PK 和 PD 分析。

【1076】 使用定性人類 IL-2 ELISA 分析(Abcam, Cambridge, UK)進行血漿樣本的生物分析。使用 ELISA 分析測定阿地介白素(Aldesleukin)、E62\_30kD 和 P65\_30kD 和在衍生自血漿的樣本中的內標準之濃度。以 NW

Solutions (Seattle, WA)進行 PK 數據分析。將 PK 數據輸入 Phoenix WinNonlin v6.4 (Certara/Pharsight, Princeton, NJ)進行分析。以非房室法使用 IV 團注給藥模型，分析各組平均血漿濃度對時間的數據。

**表 5.** 編號 E3826-U1704–純淨 C57/BL6 小鼠中對照和試驗治療組之 PK/PD 研究

治療	劑量*(mg/Kg)	途徑，時程	時間點	N
對照組	0	IV，單一劑量	13	3
阿地介白素	0.3	IV，單一劑量	13	3
P65_30kD	0.3	IV，單一劑量	13	3
E62_30kD	0.3	IV，單一劑量	13	3

\*劑量係指 P65\_30kD IL-2 多肽量，其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量之蛋白組份的質量來計算。

**表 6.** PK/PD 研究編號 E3826-U1803–對照組和試驗治療組-帶有 B16F-10 黑色素瘤小鼠(其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量之蛋白組份的質量來計算)。

治療	劑量*(mg/Kg)	途徑，時程	時間點	N
無(預投予)	0 mg/kg	無	1	6
媒劑對照組	0 mg/kg	IV，單一劑量	9	3
P65_30kD	1 mg/kg	IV，單一劑量	9	4
P65_30kD	3 mg/kg	IV，單一劑量	9	4

【1077】 在研究 E3826-U1704 中，如表 7 中所彙整的，相對於阿地介白素，P65\_30kD 和 E62\_30kD 二者展現優越的 PK 樣貌。在單一 IV 團注之阿地介白素劑量後，在投予後 0.03 h(投予後第一個測量點)觀察到  $T_{max}$  且平均血漿濃度係在投予後 4 h 測量出。在單一 IV 團注投予 P65\_30kD 和 E62\_30kD 後，在投予後 0.03 h 觀察到  $T_{max}$  且平均血漿濃度係在投予後 120 h(最後測量時間點)測量出。在一個別的研究中，在 IV 投予 E62\_5kD 後，在投予後 0.133 h 觀察到  $T_{max}$  且平均血漿濃度係在投予後 12 h 測量出。

【1078】以  $C_{max}$  和  $AUC_{0-t}$  為基準的暴露係如下：P65\_30kD >E62\_30kD >> E62\_5kD>阿地介白素。帶有較小 PEG 之 E62\_5kD 具有較接近 rIL-2 之 PK 樣貌(表 7)。以  $C_{max}$  和  $AUC_{0-t}$  為基準，P65\_30kD 暴露比阿地介白素分別高 5.5 和 200 倍。此外，相較於阿地介白素，P65\_30kD 展現 23-倍延長的  $t_{1/2}$ (13.3 h 對 0.57 h)和約 198-倍降低的 CL (6.58 對 1300 mL/h/Kg)。就 P65\_30kD 和 E62\_30kD 二者，相對於阿地介白素，分布量(分別為 82.4 和 92.3 mL/Kg)為約 4.2 至 4.7-倍下降且類似於小鼠中的血容量(85 mL/Kg；[Boersen 2013])。此項顯示 P65\_30kD 和 E62\_30kD 大部份分布在全身的循環內。

表 7. C57BL/6 雌性小鼠中 P65\_30kD PK 參數

參數	單位	P65_30kD	E62_30kD	E62_5kD	阿地介白素
$T_{max}$	h	0.030	0.030	0.133	0.030
$C_{max}$	ng/mL	4,870	4,230	936	884
$AUC_{0-t}$	h*ng/mL	45,600	37,100	798	229
$R^2$		0.992	0.986	0.851	0.900
$AUC_{INF}$	h*ng/mL	45,600	37,100	807	230
$t_{1/2}$	h	13.300	14.500	2.56	0.573
CL	mL/h/Kg	6.580	8.07	372	1300
$V_{ss}$	mL/Kg	82.4	92.3	404	390

備註： $R^2$  為各濃度對時間圖式之末期的適合度(goodness-of-fit)參數  
所有的參數顯示 3 個顯著圖式。

### 實例 5

#### 【1079】週邊血液腔室中的藥效動力學觀察

【1080】使用 STAT5 磷酸化作用和誘發細胞增生作用(早期分子標記 Ki-67 和細胞計數)作為藥效動力學讀數，用以評估 P65\_30kD 相對於其藥物動力學之藥理學樣貌。就 P65\_30kD 和阿地介白素二者在 CD8+ 效應子 T 細胞中，STAT5 PD 標記顯示與 PK 的良好相關性(表 7)。在 NK 和 CD8+T 細胞中觀察到持久性升高的 pSTAT5 高達 72 h 及在 Treg 中高達 24 h。在以阿地介白素投予的小鼠中 pSTAT5 誘發在僅 2 h 後回到基線。STAT5 磷酸化作用轉譯成 CD8+

效應子 T 細胞和 NK 細胞之增生反應(72 – 120 hrs)，但 T reg 則無，CD8+效應子 T 細胞之表型分析顯露了在此群族內實質的 CD44+記憶細胞擴增。

**【1081】** 在帶有 B16-F10 腫瘤(E3826-U1803)C57BL/6 小鼠中腫瘤腔室之藥效動力學觀察

**【1082】** 表 8 係顯示在 3 mg/kg 之單一劑量的 P65\_30kD 後，在帶有 B16-F10 腫瘤小鼠中的血漿和腫瘤藥物濃度，其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量的蛋白組份之質量所計算。腫瘤半衰期為血漿半衰期的二倍(24.4 對 12.6)，其表示 P65\_30kD 穿透腫瘤且停留在腫瘤中。曲線交叉的尾端顯示血漿消除比腫瘤快(數據未顯示)。腫瘤：就 1 和 3 mg/kg 劑量，血漿 AUC 比率分別為 9.7%和 8.4%。

**表 8.** P65\_30kD 血漿和腫瘤 PK 參數帶有 B16-F10 腫瘤 C57BL/6 雌性小鼠

參數	P65_30kD (3 mg/kg)	
	血漿	腫瘤
T <sub>max</sub> (h)	*2.00	8
C <sub>max</sub> (ng/mL)	40000	1550
t <sub>1/2</sub> (h)	12.60	24.4
AUC <sub>0-t</sub> (h*ng/mL)	656,000	55200
R <sup>2</sup>	0.974	0.988
AUC <sub>INF</sub> (h*ng/mL)	656,000	55200

**【1083】** Balb/c 小鼠 E3826-U1802 中的 MTD 研究

**【1084】** 以純淨雌性 Balb/c 小鼠於 Crown Biosciences, Inc.(San Diego, CA)進行 P65\_30kD 之劑量範圍研究。研究設計係如表 9 中所示，其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量的蛋白組份之質量所計算。經由頷下靜脈於 8 個時間點抽取血液樣本(0.25、1、4、12、24、34、48 & 72 h)。收集血漿和血液細胞進行 PK 和 PD 分析。

**【1085】** 使用市售 ELISA 套組，將所有的血漿樣本進行人類 IL-2 以及小鼠 IL-2、TNF- $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-5 和 IL-6 細胞激素之分析。

表 9. PK/PD 和 MTD 研究編號 E3826-U1802–純淨 Balb/C 小鼠中對照組和試驗治療組

治療	劑量(mg/kg)	途徑，時程	時間點	N
純淨	0 mg/kg		0	3
媒劑對照組	0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
阿地介白素	0.01 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
阿地介白素	0.03 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
阿地介白素	0.1 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
阿地介白素	1.0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
阿地介白素	3.0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
阿地介白素	5.0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
P65_30kD	0.01 mg/kg	IV，單一劑量	3	3
P65_30kD	0.03 mg/kg	IV，單一劑量	3	3
P65_30kD	0.1 mg/kg	IV，單一劑量	3	3
P65_30kD	1.0 mg/kg	IV，單一劑量	3	3
P65_30kD	3.0 mg/kg	IV，單一劑量	3	3
P65_30kD	5.0 mg/kg	IV，單一劑量	3	3
#P65_30kD	0.3 mg/kg	IV，單一劑量	8	3

\*除了 72 hr 時間點以外，所有的時間點係經由頷下靜脈收集血液。72 hr 時間點為終末採血。

#僅使用 0.3 mg/kg 劑量的 P65\_30kD 進行 PK/PD 評估。

**【1086】 使用 Balb/c 小鼠在 MTD 研究中之毒理學觀察**

**【1087】** 與高劑量阿地介白素有關的主要毒性為血管滲漏症候群和相關的細胞激素釋放症候群(CRS)。就評估此效應在小鼠中的潛在性，係以劑量範圍從 0.01-5.0 mg/kg 劑量之單一 IV 投予 P65\_30kD 來進行(表 9)，其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量的蛋白組份之質量所計算。所進行的分析為血液學、組織學、器官重量和細胞激素分析。相對於媒劑對照組小鼠，投予 P65\_30kD 或阿地介白素的小鼠在血液學、組織學或重量無觀察到異常。有關細胞激素的分析，從 1 mg/kg 開始至 5 mg/kg 觀察到阿地介白素提升血漿 IL-5

量。就 P65\_30kD，僅在 5 mg/kg 劑量見到中度增加的 IL-5(但相較於阿地介白素為較低的)。在阿地介白素和 P65\_30kD 中觀察到全身 IFN $\gamma$  量之暫時性升高。

### 實例 6

**【1088】 食蟹獼猴(Cynomolgus monkeys)中的 PK/PD—研究編號：20157276**

**【1089】** 以非純淨食蟹獼猴在 0.3 mg/kg 的單一靜脈內劑量給藥後評估 P65\_30kD 的藥物動力學和藥效動力學，其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量的蛋白組份之質量所計算。該研究係在 Charles River Laboratories, Inc.(Reno, NV)進行且 PK 數據分析係於 NW Solutions (Seattle, WA)進行。在投予前及 15 個時間點收集血液樣本(投予後 0.5、1、2、4、8、12、24、36、48、72、120、144、168、192 和 240 he)。收集血漿和血液細胞二者進行 PK 和 PD 分析。使用所選的時間點進行 PK、PD、細胞群族和血液學分析。

**【1090】** 使用市售 ELISA 套組對所有的血漿樣本進行人類 IL-2(PK 讀出)分析。

**【1091】 表 10** 係顯示食蟹獼猴中的 P65\_30kD PK 參數。

表 10.

			0.3 mg/kg		
			動物 2699	動物 2705	平均
ROA	參數	單位	估算值		
IV	T <sub>max</sub>	hr	0.500	0.500	0.500
	C <sub>max</sub>	ng/mL	11000	11400	11200
	AUC <sub>0-t</sub>	hr*ng/mL	121000	120000	121000
	t <sub>1/2</sub>	hr	13.4	13.9	13.6
	CL	mL/hr/kg	2.47	2.49	2.48
	V <sub>ss</sub>	mL/kg	29.0	32.1	30.5

【1092】 單一 IV 大劑量投予後，投予後 0.5 h 觀察到 T<sub>max</sub>(投予後第一次測量時間點)及在投予後 168 h 測量出平均血漿濃度(最後一次測量)。P65\_30kD 的 t<sub>1/2</sub> 和 AUC 分別為 13.6 h 和 121000 hr\*ng/mL。

【1093】 血液學參數-食蟹獼猴-研究編號：20157276

【1094】 就血液學參數，評估時間係相當於第-1 天投予前，以及投予後 1、3、6、8、10、12、14、17、19、21 天。

【1095】 實例 7

【1096】 例示的 IL-2 化合物在初級人類白血球滅除系統(LRS)-衍生的 PBMC 樣本中之活體外免疫反應剖析

【1097】 為了測定例示的 IL-2 化合物之差異性受體專一性如何達到初級免疫細胞亞群之活化，係使用多色流式細胞術於人類 LRS-衍生的週邊血液單核細胞(PBMC)樣本中進行淋巴細胞活化之濃度-反應剖析。藉由 SEQ NO. 1 之修飾合成表 12 之接合物。這些研究係於 PrimityBio LLC (Fremont, CA) 進行。將衍生自人類 LRS 樣本的初級淋巴細胞以例示的 IL-2 化合物之連續稀釋液處理並使用表 11 中所示的小組以各淋巴細胞類型中的 pSTAT5 訊號傳遞為基準定量。

表 11. 關鍵指標細胞群族

標記	細胞群族
CD3	T 細胞
CD4	細胞
CD8	T 效應子細胞
CD45RA	純淨 T 細胞
CD56	NK 細胞
CD14/19	單核細胞/B 細胞
CD25	Treg 或有經驗 T 細胞
CD127	非 Treg



CD62L	記憶 T 與效應子記憶 T 細胞
pSTAT5 (Y694)	活化標記

【1098】以濃度-反應模式，以例示的 IL-2 變體 K9\_30kD 治療後讀取 pSTAT5 累積，將流式細胞術數據進行不同 T 和 NK 細胞亞組之活化分析。

【1099】表 12 係顯示以所指的 IL-2 變體治療後，在人類 LRS 樣本或 CTLL-2 增生作用中 pSTAT5 訊號傳遞(EC50)之劑量反應 EC50。

表 12. 以所指的 IL-2 變體治療後，在人類 LRS 樣本或 CTLL-2 增生作用中 pSTAT5 訊號傳遞(EC50)之劑量反應 EC50

化合物	NK 細胞	CD8+ T 細胞	Treg 細胞	CD8+/Treg 比率	Treg EC50 對比天然 IL-2 之增加倍數	CTLL-2 增生作用
原生 IL-2	4586	31024	75	414	1	455.8
K9_30kD	169578	1100679	2217	496	30	504
H16_30kD	2545257	12070108	34976	345	466	80755
L19_30kD	6756768	22436430	93205	241	1243	3510
D20_30kD	2643930	9505217	1129455	8	15059	689939
M23_30kD	143620	539824	1030	524	14	1102
N26_30kD	258531	1188859	2459	483	33	2594
N88_30kD	3298113	11111537	323201	34	4309	66606
E100_30kD	35088	195823	483	405	6	1676
N119_30kD	34010	143380	535	268	11	1215
T123_30kD	33396	152928	269	569	6	255
Q126_30kD	3676807	19722480	29454	670	393	3584
S127_30kD	20210	92190	150	615	3	123
T131_30kD	24207	132922	258	515	3	641
N88R/D109_30kD	2780819	12503386	175805	71	3663	59577
V91K	20537	102255	142	720	3	99.5

N88R	2312847	15025734	11082	1356	148	363
------	---------	----------	-------	------	-----	-----

\*在各個別實驗中相較於天然 IL-2(野生型 IL-2)之 Treg 效力變化。

【1100】 從 MFI 作圖產生之劑量反應曲線計算 EC50 值(pg/ml)。

### 實例 8

【1101】 C57BL/6 小鼠中的 PK 研究

【1102】 實驗詳情係彙整於表 13 中，其中劑量係參考不包括 PEG 基團質量的蛋白組份之質量所計算。

表 13.

組別	動物的數目	檢測/對照物(劑量)	途徑，投予療法	療效評估點
1	9	原生 IL-2(野生型) (3.0 mg/kg) 濃度：0.6 mg/mL	IV，第 0 天 T=0 以 5 mL/kg 單一劑量	於投予後 0.08、 0.25、0.5、1、2、 4、8、12 及 24 小 時收集血液
2	9	K35_30kD (3.0 mg/kg) 濃度：0.6 mg/mL	IV，第 0 天 T=0 以 5 mL/kg 單一劑量	
3	9	K35_30kD (0.3 mg/kg) 濃度：0.6 mg/mL	IV，第 0 天 T=0 以 5 mL/kg 單一劑量	
額外	6	N/A	N/A	空白基質收集 (未計時)
總計	33			

【1103】 以二種劑量評估例示的 PEG 化 IL-2 化合物 K35\_30kD 之藥物動力學性質。將凍乾試驗物以 PBS 重建並就各劑量組以 0.3 和 3 mg/kg 經由靜脈內尾靜脈注射投予 9 隻 C57BL/6 雄性小鼠(參見下文收集詳情)。於投予後 0.08、0.25、0.5、1、2、4、8、12 及 24 小時收集血液樣本。使用來自 Abcam (ab100566)不會與天然小鼠 IL-2 交叉反應之 hIL-2 ELISA 套組進行試驗物之偵測和定量。就調整天然和 PEG 化的化合物套組之 ELISA-專一性差異敏感性，係使用試驗物稀釋緩衝液產生天然 IL-2 和 K35\_30kD 試驗物標準曲線並就個

別標準曲線分析數據。作圖之數據係代表如上述三個個別樣本之平均值和 SEM(生物性重複)且 K35\_30kD 試驗品之 PK 參數係摘錄及彙整於表 14 中。

表 14。

分析物		單位	劑量	
			0.3 mg/kg	3 mg/kg
			估算值	
IL-2 K35-mPEG30kD	$T_{max}$	hr	0.250	0.250
	$C_{max}$	ng/mL	6080	57700
	$AUC_{0-t}$	hr*/ng/mL	38500	425000
	$R^2$		0.994	0.947
	$AUC_{1/2extrap}$	%	35.3	37.4
	$AUC_{0-\infty}$	h*ng/mL	59600	679000
	$t_{1/2}$	hr	18.2	19.5
	$C_{max}/D$	kg*ng/mL/mg	20300	19200
	$AUC_{0-t}/D$	hr*ng/mL	128000	142000

### 實例 9

#### 【1104】與人類 IL-2R $\alpha$ 和 IL-2R $\beta$ 結合之特性

【1105】進行一研究找出例示的 IL-2 接合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 與人類 IL-2R $\alpha$  和 IL-2R $\beta$  之結合特性。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 係如先前之描述並包括 SEQ ID NO: 50，其中位置 64 的脯胺酸係經 AzK\_L1\_PEG30kD 置，其中 AzK\_L1\_PEG30kD 係定義為式(IV)或式(V)之結構或式(IV)和式(V)之混合物及一 30 kDa 直鏈 mPEG 鏈。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 亦定義為包括 SEQ ID NO: 3 之化合物，其中位置 64 的脯胺酸係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30 kDa。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 亦定義為包括 SEQ ID NO: 3 之化合物，其中位置 64 的脯胺酸係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30 kDa。

【1106】 使用類似該等實例 2 中所揭示的方法製備化合物，其中首先製備一具有 SEQ ID NO：3 的蛋白，其中位置 64 的脯氨酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸 AzK(SEQ ID NO：35)置換。然後讓含有 AzK-的蛋白於點擊化學條件下與包括一具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應。簡言之，將用於生物接合的 IL-2 使用文中所揭示的方法於大腸桿菌中表現為包涵體，該方法係使用：(a)一表現質體，其係編碼(i)具有所欲胺基酸序列的蛋白，其基因含有一第一非天然鹼基對，用以在所欲位置提供一密碼子，在該位置併入非天然胺基酸 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸 (AzK)，及(ii)一衍生自馬氏甲烷八疊球菌 *Pyl* 的 tRNA，其基因係包括一第二非天然核苷酸用以提供一相配反密碼子取代其原生序列；(b)一編碼衍生自巴氏甲烷八疊球菌吡咯離胺醯基-tRNA 合成酶(*Mb PylRS*)的質體，(c)AzK；及(d)核苷酸三磷酸轉運體 PtNTT2 之剪切變體，其中全長蛋白的前 65 個胺基酸殘基係經刪除。編碼該 IL-2 變體之胺基酸序列的雙股寡核苷酸係含有一密碼子 AXC 為此序列的密碼子 64，該序列係編碼具有 SEQ ID NO：3 之蛋白，其中 P64 係經文中所述的非天然胺基酸置換。編碼來自馬氏甲烷八疊球菌之正交 tRNA 基因的質體係包括一與 AXC-相配的反密碼子 GYT 取代其原生序列，其中 Y 為如文中所揭示的非天然核苷酸。X 和 Y 係選自如文中所揭示的非天然核苷酸 dTPT3 和 dNaM。使用標準程序從包涵體萃取表現蛋白並再摺疊，之後使用 DBCO-媒介的無銅點擊化學將穩定共價 mPEG 基團(具有 30kDa 之平均分子量的甲氧基直鏈 PEG 基團)與該 AzK 相連接，將含有 AzK-的 IL-2 產物進行位點專一性 peg 化(如上述流程 S6 所概述)。

【1107】 試驗物樣本與 IL-2R $\alpha$  結合。將試驗物樣本溶液進行 IL-2R $\alpha$  受體表面結合之試驗。使用 Scrubber-2 (Biologic Software Pty Ltd)藉由減去來自無受體之參照表面的訊號以及緩衝注射液之平均值來處理反應數據。將 rhIL-2 系列濃度之反應與 1：1 包括質量轉移之相互作用模型全面擬合)。結合常數之彙整係提供於表 15 中。

表 15.

	$K_D$ (nM)	
	IL-2 R $\alpha$	IL-2 R $\beta$
rhIL-2	11 $\pm$ 1	0.7 $\pm$ 1
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1	n.d.	3.1 $\pm$ 0.3

【1108】於塗覆蛋白的 CM4 感測晶片上捕捉 Fc-標記 IL-2R $\beta$ 。將 CM4 感測晶片與 Biacore 4000 光學生物感測器相接合並以 HBS-P 電泳緩衝液 (HBS-P 為添加 0.005% 聚山梨醇酯(Tween)-20 之 1X HBS-N) 啟動儀器三次。使用標準 NHS/EDC 偶合條件將蛋白 A 偶合。IL-2R $\beta$ -Fc 在水中解離至 0.1 mg/ml 的濃度及然後以電泳緩衝液稀釋 1/1000。注射 IL-2R $\beta$ -Fc 歷經不同的時間長度，製造 2 種不同密度的受體表面(~750 RU 和 1500 RU，數據未顯示)。

【1109】樣本與 IL-2R $\beta$  結合的特性。將試驗物樣本溶液進行 IL-2R $\beta$  受體表面結合之試驗。使用 Scrubber-2 (Biologic Software Pty Ltd) 藉由減去來自無受體之參照表面的訊號以及緩衝注射液之平均來處理反應數據。將以雙重複試驗的 rhIL-2 (4 uM 最高濃度 2-倍稀釋) 和 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 樣本(8 uM 最高濃度 2-倍稀釋) 之反應與 1:1 包括質量轉移之相互作用模型全面擬合。結合常數之彙整係提供於表 15 中。

【1110】結果。將 His-標記 IL-2R $\alpha$  以不同密度捕捉至 Biacore SPR 感測系統內載有鎳的 NTA 感測晶片。以不同密度將 Fc-標記 IL-2R $\beta$  捕捉至塗覆蛋白 A 的 CM4 感測晶片上。將反應數據與 1:1 相互作用模型擬合用以測定各相互作用的常數。重組的人類 IL-2 (rhIL-2) 係以約~11 nM 的親和力與 IL-2R $\alpha$  結合，而 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 樣本與 IL-2R $\alpha$  可能偵測出為無結合。rhIL-2 以~700 nM 的親和力與 IL-2R $\beta$  結合，而 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 在這些條件下係以~3 uM 的親和力與 IL-2R $\beta$  結合。

### 實例 10

【1111】進行一研究以測定 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 與重組人類介白素-2(hIL-2) 對磷酸化形式的轉錄因子 STAT5(pSTAT5) 訊號傳遞效力人類初級免疫細胞類型之效力和差異性細胞類型專一性。化合物

IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 係如先前描述並包括 SEQ ID NO : 50，其中位置 64 的脯胺酸殘基係經 AzK\_L1\_PEG30kD 置換，其中 AzK\_L1\_PEG30kD 係定義為式(IV)或式(V)之結構或式(IV)和式(V)之混合物及 30 kDa 直鏈 mPEG 鏈。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 亦定義為包括 SEQ ID NO:3 之化合物，其中位置 64(P64)的脯胺酸係經式(VIII)或式(IX)之結構或式(VIII)和式(IX)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30 kDa。化合物 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 亦定義為包括 SEQ ID NO : 3 之化合物，其中位置 64 脯胺酸殘基係經式(XII)或式(XIII)之結構或式(XII)和式(XIII)之混合物置換且其中為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30 kDa。使用類似該等實例 2 中所揭示的方法製備化合物，其中先製備一具有 SEQ ID NO : 3 的蛋白，其中位置 64 的脯胺酸係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸 AzK (SEQ ID NO : 35)置換。然後讓含有 AzK-的蛋白於點擊化學條件下與包括一具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應。

**【1112】 人類 PBM 樣本處理方法。**將 IL-2(對照組，1 mg/mL)及 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1(「批件 1」:1.27 mg/mL;「批件 2」:2.29 mg/mL)儲液以冷凍儲液儲存於-20°C。

**【1113】**將 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 批件 1 和批件 2 化合物以 PBS 稀釋及使用 PBS + 0.1% BSA 將 IL-2 稀釋，製造 10X 儲液。依照實驗，10X IL-2 儲液濃度為 5ug/ml GLP-1 而 GLP-2 儲液係介於 6-300 µg/ml。將 10X 儲液以 5-倍稀釋度連續稀釋，製造 10-點劑量效價。依照實驗，最高 IL-2 劑量為 5 µg/ml 而批件 1 和批件 2 儲液係介於 6-300 µg/ml。將 10 µl 的各儲液加到 90 µl 的細胞樣本，達到 IL-2 最終最高濃度為 500 ng/ml 及各自批件 1 和批件 2 為 0.6-30 µg/ml。

**【1114】 樣本刺激。**為刺激，係將上述之 10 µl 的劑量效價加到 90 µl 預平衡至 37°C 的血液樣本。將樣本於 37°C 培養 45 分鐘。在培養時間結束時，將紅血球溶解並同時如下固定細胞：

**【1115】**將 100 µl 細胞轉置於 00 µl 的 BD Lyse/固定緩衝液(Beckton Dickinson, Cat# 558049)及立刻旋轉。就在加入前藉由以細胞培養水以 1 : 5 稀

釋儲液，製備 BD Lyse/Fix。將樣本於室溫培養 10 分鐘，然後以 450 x g 離心 5 分鐘成細胞團。將細胞團以 PBS+0.5% BSA 清洗並儲存於-37°C 直到分析。

### 【1116】 染色法

步驟 1.於室溫融化細胞。步驟 2.加入 Fc Block(TruStain FcX™)。步驟 3.於室溫培養 5 分鐘。步驟 4.加入下表 16 的抗體：

表 16. 用於人類版組的抗體.

	螢光團
CD4	BUV737
CD56	BV711
CD16	BV711
CD8	BUV805
CD27	BV786
CD45RA	BUV395
CD127	FITC
CD25	生物素

【1117】 步驟 5.於室溫培養 20 分鐘。步驟 6.以 PBS+0.5% BSA 清洗細胞二次。步驟 7.於 1 體積量的細胞中加入 10 體積量的甲醇通透細胞。步驟 8.於 4°C 培養細胞 10 分鐘。步驟 9.以 PBS 清洗。步驟 10.以 PBS w/ 0.5% BSA 清洗細胞。步驟 11.加入 Fc Block(TruStain FcX™)。步驟 12.加入下表 17 的通透後染色版組。

表 17. 染色試劑.

	螢光團
CD3	PE-Cy7
STAT5	Ax647
鏈黴親和素 (Streptavidin)	BV421
FOXp3	PE

【1118】 流式細胞術和數據分析。將樣本置於 Becton Dickinson Fortessa 和 LSR II 儀器上以五種雷射運作(372 nM、405 nM、488 nM、561 nM 及 640 nM)。

此等儀器係配置 20 個包括散射參數之偵測器。將此等儀器使用 Becton Dickinson Cytometer Setup & Tracking Beads 規律地校正。將含有染色樣本的 96 孔盤以 8,000 個細胞/秒使用孔高通量取樣器運作。

【1119】將數據以.fcs 檔案輸出到網路磁碟機及補償給用以說明外溢的螢光團且加註解在 fcs 檔案。然後閘控此等 fcs 檔案。首先使用 FSC-A 藉由 FSC-H 以單態閘控細胞，用以排除任何聚集物或雙態。在此閘控內，係以中度至高度前散射(FSC-A)和側面散射(SSC-A)閘控此等細胞，用以排除紅血球、碎片及粒細胞。然後閘控 T 細胞為 CD3+、CD56/16 陰性群族第 3 組。NK 細胞經鑑別為 CD3 陰性、CD56/16 高群族，第 3 組。然後將 T 細胞分成 CD4+T 細胞和 CD8+T 細胞。然後從 CD4+T 細胞閘控 Treg 細胞，為 CD25<sup>高</sup> x C127<sup>低</sup> 群組。

【1120】衍生 EC50 值之統計和作圖。從偵測磷酸化之通道中的訊號計算各細胞群族、捐贈者和化合物治療的中位數螢光強度(MFI)。使用 Spotfire 分析統計學。在 Spotfire 內，數據就化合物劑量係以 log 尺度而就 MFI 讀數係以線性尺度作圖。使用 4-參數邏輯回歸方程式擬合這些數據。計算 EC50 為此曲線之反曲點。

【1121】結果。將人類 IL-2 和 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 樣本稀釋並以三重複對各如上述三個個別捐贈者進行試驗。所計算的半數最大有效濃度(EC50)值係列表 19 中。結果驗證了 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 在人類淋巴細胞中為一有效的 IL-2 受體訊號傳遞促效劑。與之前試管內結合研究相符，相較於並非結構上表現高量的 IL-2R $\alpha$  之 Teff 和 NK 細胞，其顯示 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 專一性結合 IL-2R 亞單位並不與 IL2R $\alpha$  結合，其驗證了在 Treg 細胞中專一降低的訊號傳遞效力其係依賴 IL-2R $\alpha$  結合才有效。

表 18. hIL-2 和 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-批件 1 對抗來自人類捐贈者之初級 CD8+T 細胞、NK 細胞及 Treg 細胞亞群之效力特性

人類 EC50 (ng/mL)					
物質	CD8+ T	記憶 CD8+ T	NK	Treg	CD8/Treg 比率



人類 IL-2	12.4 ± 1.29	11.3 ± 1.63	2.88 ± 1.63	0.027 ± 0.005	460
批件 1*	224 ± 25.3	240 ± 27.3	54.7 ± 6.55	114 ± 20.3	2.0
批件 2*	265 ± 12.4	284 ± 18.3	55.7 ± 8.62	132 ± 24.0	2.0

數據為從三個獨捐贈者之三重複試驗樣本所計算的平均值±平均值之標準差 (SEM)。

\*IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1.

### 實例 11

【1122】 使用化合物 A 加上檢查點抑制劑治療帶有 CT-26 腫瘤的 Balb/c 小鼠。根據文中所揭示的方法藉由先製備具有 SEQ ID NO : 4 的蛋白來製備化合物 IL-2\_P65[AzK\_PEG30kD](在文中亦稱為「P65\_30kD」及在圖式中係稱為「化合物 A」)，其中位置 65 的脯胺酸殘基係經 N6-((2-疊氮乙氧基)-羰基)-L-離胺酸(AzK)(SEQ ID NO : 10)置換。然後讓含有 AzK-的蛋白於點擊化學條件下與包括一具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團的 DBCO 反應，得到具有包括式(II)、式(III)或式(II)和式(III)混合物之 SEQ ID NO : 25 的產物，其中 W 為一具有 30kDa 平均分子量之甲氧基直鏈 PEG 基團。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO : 4 之胺基酸序列，其中位置 65(P65)的脯胺酸殘基係經式(VI)或式(VII)之結構或式(VI)和式(VII)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30 kDa。此化合物亦可定義為包括 SEQ ID NO : 4 之胺基酸序列，其中位置 65(P65)的脯胺酸殘基係經式(X)或式(XI)之結構或式(X)和式(XI)之混合物置換且其中 n 為一整數使得 PEG 基團的分子量為約 30 kDa。

【1123】 化合物 A 作為單一療法及與抗-PD-1 抗體組合之研究係於 Balb/c 雌性小鼠中進行。Balb/c 雌性小鼠 6-8 週大，具有 16 g 至 21 g 平均體重，係購自 Jackson Laboratories (Sacramento, CA)用於研究 1 和 2。Balb/c 雌性小鼠，7-8 週大，具有 18 g 至 22 g 平均體重，係由 HD Biosciences 購自 Taconic Biosciences 用於研究 3。低溫保存的 CT-26 大腸癌細胞小瓶係購自 American Tissue Type Collection (ATCC, Manassas, VA)。將細胞融化並根據製造商的方法培養。在腫瘤細胞接種當天，將細胞以無血清培養基清洗，計數及以每 0.1 mL

250,000 個(研究 1 和 2)或 300,000 個(研究 3)活細胞的濃度再懸浮於無血清培養基。將 CT-26 細胞(0.1 mL)以皮下注射至個別小鼠的側腹並讓腫瘤生長。

【1124】就其中使用化合物 A 和抗-PD-1 抗體之組合的研究 1 和 2，所用的抗體為抗小鼠 PD-1(BioXcell；RMP1-14)及對照抗體為 IgG1 同型抗體(BioXcell；catalog #BP0089, lot #2A3)。就其中使用抗-PD-1 抗體的研究 3，所用的抗體為抗小鼠 PD-1 (BioXcell；產品編號#BP0146，RMP1-14，批號 #695318A1)及對照抗體為 IgG1 同型抗體(BioXcell；產品編號#BP0089，批號 #2A3)。

【1125】將凍乾化合物 A 以 0.1 M 乙酸重建成 10 mg/mL 儲液。然後將其以 1x 磷酸緩衝食鹽水(PBS)進一步稀釋成操作濃度。在投予動物的 1 小時內將化合物重建及稀釋並置於冰上直到投予。使用前將凍乾的化合物儲存於 -80°C。媒劑係儲存於 4°C。

【1126】使用帶有 CT-26 腫瘤 Balb/c 小鼠進行三個個別效用研究。研究 1 的設計，其係評估化合物 A 作為單一藥劑之劑量依賴的效用，係概述於表 19 中。研究 2 和 3 之設計，其係評估化合物與抗-PD-1 抗體組合之效用，係分別概述於表 20 和表 21 中。化合物 A 的給藥途徑為靜脈內(IV)。小鼠中之 IV 投予係經由尾靜脈進行。抗體係以腹膜內(IP)給藥。所有的藥劑係以每次投予之前立即取得的各動物之個別體重為基準來給藥。投予療法之詳情係描述於下。

表 19. 研究#1：帶有 CT-26 腫瘤小鼠中之對照組和試驗治療組

藥劑	劑量(mg/kg)	途徑，時程	小鼠數目
媒劑對照組	0	IV，QWx3	10
化合物 A	0.3	IV，QWx3	10
化合物 A	0.3	IV，Q2Wx2	10
化合物 A	1	IV，QWx3	10
化合物 A	1	IV，Q2Wx2	10
化合物 A	3	IV，QWx3	10
化合物 A	3	IV，Q2Wx2	10

IV = 靜脈內；QWx3 = 每週一次總計 3 個劑量；Q2Wx2 = 每 2 週一次總計 2 個劑量

表 20. 研究#2：帶有 CT-26 腫瘤小鼠中之對照組和試驗治療組

藥劑	劑量(mg/kg)	途徑，時程	小鼠數目
媒劑對照組+ IgG 同型對照	0 + 10	IV，QWx3 + IP, BIWx3	14
化合物 A	3	IV，QWx3	14
化合物 A	6	IV，QWx3	14
抗-PD-1 抗體	10	IP，BIWx3	14
化合物 A + 抗-PD-1 抗體	6 + 10	IV，QWx3 + IP, BIWx3	14

BIWx3 = 每週 2 次進行 3 週總計 6 個劑量；IP = 腹膜內；IV = 靜脈內；QWx3 = 每週一次總計 3 個劑量

表 21. 研究#3：帶有 CT-26 腫瘤小鼠中之對照組和試驗治療組

藥劑	劑量(mg/kg)	途徑，時程	小鼠數目
媒劑對照+IgG 同型對照	0 + 10	IV，QWx3 + IP, BIWx3	14
化合物 A	1	IV，QWx3	14
化合物 A	3	IV，QWx3	14
化合物 A	6	IV，QWx3	14
化合物 A	9	IV，QWx3	14
抗-PD-1 抗體	10	IP, BIWx3	14
化合物 A + 抗-PD-1 抗體	1 + 10	IV，QWx3 + IP, BIWx3	14
化合物 A + 抗-PD-1 抗體	3 + 10	IV，QWx3 + IP, BIWx3	14
化合物 A + 抗-PD-1 抗體	6 + 10	IV，QWx3 + IP, BIWx3	14

BIWx3 = 每週 2 次進行 3 週總計 6 個劑量；IP = 腹膜內；IV = 靜脈內；QWx3 = 每週一次總計 3 個劑量；Q2Wx2 = 每 2 週一次總計 2 個劑量

【1127】在研究 1 中，帶有 CT-26 腫瘤小鼠，係在腫瘤接種後第 4 天當平均腫瘤體積為~80 mm<sup>3</sup> 時開始係以媒劑 IV 治療每週一次總計 3 個劑量(QWx3)或化合物 A 以 0.3、1 或 3 mg/kg IV，每週一次總計 3 個劑量(QWx3)，或每 2 週次總計 2 個劑量(Q2Wx2)。

【1128】在研究 2 中，帶有 CT-26 腫瘤小鼠係在腫瘤接種後第 5 天當平均腫瘤體積為~80 mm<sup>3</sup> 時治療。投予為以媒劑 IV QWx3 + IgG 同型對照 IP 或化合物 A 以 3 或 6 mg/kg IV 以 QWx3 投予時程，或抗-PD-1 抗體以 10 mg/kg IP，或化合物 A 以 6 mg/kg IV QWx3 + 抗-PD-1 抗體以 10 mg/kg 之組合 IP。在所有的案例中，抗體的 IP 投予為每週 2 次進行 3 週總計 6 個劑量(BIWx3)。

【1129】在研究 3 中，帶有 CT-26 腫瘤小鼠係在腫瘤接種後第 7 天當平均腫瘤體積為~70 mm<sup>3</sup> 時治療。投予為 IV QWx3 + IgG 同型對照 IP BIWx3；或化合物 A 以 1、3、6 或 9 mg/kg IV 以 QWx3 投予時程，或抗-PD-1 抗體以 10 mg/kg IP BIWx3；或化合物 A 以 1、3 或 6 mg/kg IV QWx3 + 抗-PD-1 抗體以 10 mg/kg IP BIWx3 之組合。

【1130】全部三個研究之概要係如表 22 所示。每天一次觀察動物的臨床症狀。依照 IACUC 指南，當腫瘤體積長到超過 2000 mm<sup>3</sup> 或觀察到具有持續惡化症狀或顯現明顯嚴重痛苦及/或疼痛時將動物人道安樂死。

【1131】監測各小鼠的存活歷時超過 100 天，將研究 2 和 3 中存活的無腫瘤動物納入再挑戰持續研究歷時 2 個週期，相隔 2 個月。特言之，將無腫瘤動物經由在另一側下腹接種相同類型的腫瘤細胞(CT-26)再挑戰。對照動物為年齡相符的無用過藥小鼠(naïve mice)同時在另一側下腹接種相同數目的 CT-26 癌細胞。

【1132】每 3 至 4 天使用數位卡尺測量監測腫瘤生長，直到研究結束。計算腫瘤體積為寬度<sup>2</sup>x 長度/2，其中寬度為最小直徑而長度為最大直徑。原始腫瘤數據係呈現在研究報告中。

【1133】 將各組的平均腫瘤體積數據對時間作圖附帶平均之標準誤差 (SEM)長條圖。另外，將動物安樂死之前最後一天的個別腫瘤體積數據作圖附帶平均值和 SEM 長條圖，用以檢測數據的分布。

【1134】 使用 GraphPad Prism v.7.0 進行動物安樂死前最後一天的腫瘤體積數據之統計分析。使用單因子 ANOVA 分析數據之顯著性。使用杜凱氏檢定(Tukey's test)程序(2-側)配對比較。提報各個別比較之 p-值。

【1135】 各治療組對比對照組的腫瘤生長抑制百分比(%TGI)係計算為：

$$[(\text{對照組}-\text{對照組基線})-(\text{治療組}-\text{治療組基線})]/(\text{對照組}-\text{對照組基線}) \times 100\%。$$

【1136】 記錄各小鼠的存活並產生 Kaplan-Meir 圖用以顯示治療組的存活並以對數等級檢定[log-rank (Mantel-Cox) test]評估顯著性。在研究#1、#2 及 #3 中以及在研究#2 和#3 中二個存活無腫瘤小鼠之再挑戰週期期間，於治療開始後監測存活歷時超過 100 天。使用 GraphPad Prism version 7.0 進行分析。

**表 22.** 以化合物 A 作為單一治療及與抗-小鼠 PD-1 抗體組合於小鼠中的腫瘤生長

	化合物 A 劑量 [抗體劑量 <sup>a</sup> ] (mg/kg)	%TGI (相對於媒劑對照組)			
		研究#1		研究#2	研究#3
		QWx3	Q2Wx2	QWx3	QWx3
化合物 A 單一治療	0.3	19	20	-	-
	1	31	27	-	30
	3	51*	45*	56	59***
	6	-	-	36*	86***
	9	-	-	-	85***
	抗體[10]	-	-	44 <sup>#</sup>	44 <sup>#</sup>
組合治療 <sup>b</sup>	6 + [10]	-	-	75**	84**

<sup>a</sup>BIW 投予進行 3 週(總計 6 個劑量)；<sup>b</sup>1 和 3 mg/kg 化合物 A 組合組之數據未顯示。

%TGI 係於第 15 天(研究 1)和第 17 天(研究 2 和 3)所計算。

結果為平均值±SEM

【1137】 QWx3 = 每週 1 次總計 2 個劑量；Q2Wx2 = 每 2 週一次總計 2 個劑量；TGI = 腫瘤生長抑制。\*  $p < 0.052$  對媒劑對照組；\*\*  $p < 0.05$  對單一治療(化合物 A 或抗體)；\*\*\*  $p < 0.001$  對媒劑或抗體同型對照組；#  $p < 0.01$  對抗體同型對照組。

【1138】 在研究 1 中，評估帶有皮下建立的 CT-26 大腸腫瘤之雌性 Balb/c 小鼠中化合物 A 作為單一藥劑的劑量依賴效用。根據 IACUC 所述的人類療效評估終點，當對照組中的數個腫瘤體積達到超過 2000 mm<sup>3</sup> 時，此研究正規地在治療開始後第 15 天結束。圖 1 係顯示以化合物 A QWx3 投予治療組，隨時間變化的平均腫瘤體積。圖 2 係顯示以化合物 A QWx3 投予治療之各動物，在治療後第 15 天的腫瘤體積。圖 3 係顯示以化合物 A Q2Wx2 投予治療組，隨時間變化的平均腫瘤體積。圖 4 係顯示以化合物 A Q2Wx2 投予治療之各動物，在治療後第 15 天的腫瘤體積。

【1139】 就 QWx3 投予時程，化合物 A 展現劑量依賴的單一藥劑抗腫瘤活性，相較於媒劑對照組，就 0.3、1 及 3 mg/kg 劑量組分別產生 31%、19% 及 52% 之 %TGI。同樣地，就 Q2Wx2 投予時程，化合物 A 展現劑量依賴的單一藥劑抗腫瘤活性，相較於媒劑對照組，就 0.3、1 及 3 mg/kg 劑量組分別產生 20%、27% 及 45% 之 %TGI。然而，在二組投予時程中，相較於媒劑對照組，僅 3 mg/kg 劑量為統計上顯著地( $p < 0.05$ )。二組投予時程展現相當的抗腫瘤活性。因此，就此小鼠模型中的後續研究，係選定 QWx3 投予時程。

【1140】 在圖 3、5 及 8 中，黑色箭頭係指化合物 A 投予的天數。圖 1 和 3 中的數據為以化合物 A QWx3 投予和 Q2Wx2 投予之平均腫瘤生長曲線；黑色箭頭係指化合物 A 投予的天數。圖 2 和 4 中的數據係代表以化合物 A QWx3 投予和 Q2Wx2 投予治療後第 15 天的個別腫瘤體積和平均腫瘤體積±平均標準誤差(SEM)(10 隻小鼠/組)。數據係代表個別腫瘤體積；亦顯示平均值±SEM 以及相較於媒劑對照組之 %TGI。

【1141】 圖 3 中的數據係代表以化合物 A Q2Wx2 投予之平均腫瘤體積±平均值標準誤差(SEM)(10 隻小鼠/組)。圖 4 中的數據係代表以化合物 A Q2Wx2

投予治療後第 15 天的個別腫瘤體積和平均腫瘤體積。 $*p<0.05$  對媒劑對照組在第 15 天。

【1142】於帶有 CT-26 大腸腫瘤小鼠中進行二個個別研究(研究 2 和 3)用以評估化合物 A 作為單一藥劑及與鼠類抗-PD-1 檢查點抑制劑抗體組合。化合物 A 的投予範圍係介於重疊的研究之間，其中研究 3 具有較廣的劑量範圍。在二個研究中，化合物 A 係以 QWx3 給藥及相同劑量等級的抗體係以 BIWx3 給藥。

【1143】在研究 2 中，化合物 A 的抗腫瘤活性係以單一藥劑以 3 和 6 mg/kg(QWx3)於帶有皮下建立的 CT-26 大腸腫瘤之雌性 Balb/c 小鼠中評估。另外，組合的抗腫瘤活性係以 6 mg/kg (QWx3)IV 投予的化合物 A 和 10 mg/kg IP (BIWx3)抗-PD-1 抗體來評估。 $\%TGI$  係於治療開始後第 15 天計算，因為對照組中的數個腫瘤體積達到超過  $2000\text{ mm}^3$ 。然而，展現完全腫瘤抑制之治療組中的動物係依循每週一次或二次的頻率測量。

【1144】化合物 A 展現劑量單一藥劑抗腫瘤活性，相較於媒劑對照組，就 3 和 6 mg/kg 劑量組分別產生 56.3%和 35.6%之 $\%TGI$ 。在組合研究中，帶有 CT-26 腫瘤小鼠係於腫瘤接種後 5 天當平均腫瘤體積為 $\sim 80\text{ mm}^3$ 時開始以化合物 A 以 6 mg/kg QWx3 或 IP 以抗-PD-1 抗體 BIWx3，或以相同投予時程之組合治療。**圖 5** 中係顯示以媒劑、6 mg/kg 化合物 A 作為單一藥劑、抗-PD-1 抗體作為單一藥劑及 6 mg/kg 化合物 A 和抗-PD-1 抗體之組合治療的平均腫瘤生長曲線。**圖 5** 中之數據係代表平均腫瘤體積 $\pm$  SEM(14 隻小鼠/組)。上方箭頭係指化合物 A 投予的天數而下方箭頭係指抗-PD-1 抗體投予的天數。相較於單獨的化合物 A 或抗-PD-1 抗體，組合的抗腫瘤活性顯著提升( $p<0.05$ )。**圖 6** 係顯示 $\%TGI$  數據並顯示相較於以媒劑對照組、單獨的化合物 A 或單獨抗-PD-1 抗體治療之組別，以化合物 A 和抗-PD-1 抗體之組合治療的組別在治療後第 15 天顯現顯著的抗腫瘤效用(單獨化合物 A 組為 35.6%；單獨抗-PD-1 抗體組為 44.1%；及化合物 A 和抗-PD-1 抗體組合給藥組為 74.6%)。數據係代表個別腫瘤體積；亦顯示平均值 $\pm$  SEM 和相較於媒劑對照組之 $\%TGI$ 。 $*p<0.05$ ,  $**p<0.01$  及  $***p<0.01$ ；對媒劑對照組。 $^{\dagger}p<0.05$  對抗-PD-1 抗體。 $\#p<0.05$  對化合物 A。各組的中位數存活時間係如**圖 7** 中所示且就對媒劑對照組、化合

物 A、抗-PD-1 抗體及化合物 A+抗-PD-1 抗體組分別為 17、27、27.5 及 38 天。組合組的中位數存活時間明顯比化合物 A( $p<0.05$ )和抗-PD-1 抗體( $p<0.05$ )單一藥劑治療組更長。在治療後 98 天，在各化合物 A 和抗-PD-1 抗體投予組中 14 隻動物中僅 1 隻存活無腫瘤(7%)，而組合組中 14 隻中有 4 隻存活無腫瘤(29%)。圖 7 中的數據係代表各治療組的 Kaplan-Meier 存活曲線。 $*p<0.05$  對媒劑對照組。 $^{\dagger}p<0.05$  對抗-PD-1 抗體。 $\#p<0.05$  對化合物 A。

【1145】在研究 3 中，化合物 A 之單一藥劑抗腫瘤活性係以較廣的劑量範圍(1、3、6 及 9 mg/kg)，與研究 2 相同的 IV QWx3 給藥時程相比較，於帶有 SC CT-26 大腸腫瘤雌性 Balb/c 小鼠中加以評估。圖 8 中的數據係代表當化合物 A 以 1 mg/kg、3 mg/kg、6 mg/kg 及 9 mg/kg 單一藥劑投予時的平均腫瘤生長曲線。數據係代表平均腫瘤體積 $\pm$ SEM(14 隻小鼠/組；9 mg/kg 化合物 A 除外為 12 隻小鼠/組)。黑色箭頭係指化合物 A 投予的天數。單獨以 1 mg/kg、3 mg/kg、6 mg/kg 及 9 mg/kg 的化合物 A 投予亦展現劑量依賴的抗腫瘤活性，相較於媒劑對照組，就 1、3、6 及 9 mg/kg 劑量組分別產生 29.8%、58.8%、86.2% 及 84.8% 之 %TGI(圖 9)。 $\%$ TGI 係於治療開始後第 15 天計算，因為對照組中的數個腫瘤體積達到超過 2000 mm<sup>3</sup>。然而，展現完全腫瘤抑制之治療組中的動物係依循每週一次或二次的頻率測量。圖 9 中的數據係代表在治療後第 15 天之個別腫瘤體積。數據係代表個別腫瘤體積平均值 $\pm$ SEM 且亦顯示相較於媒劑對照組之 %TGI。 $***p<0.01$  對媒劑對照組。最低劑量(1 mg/kg)並未顯示統計上顯著的抗腫瘤活性，而其他 3 個劑量組，相較於媒劑治療組為統計上顯著的( $p<0.001$ )。此數據亦顯示二個高劑量組(6 mg/kg 和 9 mg/kg)之 %TGI 為相類似的，其顯示在 6 mg/kg 劑量時達到最大抗腫瘤活性。在 9 mg/kg 劑量組中，發現 14 隻動物中有 2 隻由於治療在體重減少 $>15\%$ 後死亡。

【1146】在研究之組合期中，化合物 A 係以 1、3 或 6 mg/kg (QWx3)與抗-PD-1 抗體以 10 mg/kg IP (BIWx3)一起投予。帶有 CT-26 腫瘤小鼠係以 IV 以 1、3、6 或 9 mg/kg 之化合物 AQWx3 或 IP 抗-PD-1 抗體 BIWx3，或以相同投予時程之組合，在腫瘤細胞接種後 7 天當平均腫瘤體積為 $\sim 70$  mm<sup>3</sup>時治療。請注意，就 9 mg/kg 的化合物 A 單一藥劑組，發現二隻動物在體重減少 $>15\%$ 之後死亡且不納入分析。就 1 mg/kg 化合物 A + 抗-PD-1 抗體之組合，以存活數



據為基準未觀察到累加的抗腫瘤活性。就化合物 A 的投予後天數，在抗-PD-1 抗體組中 14 隻動物中有 1 隻存活(7%)，而 3 mg/kg 單一藥劑組則無動物存活。然而，在 3 mg/kg 化合物 A + 抗-PD-1 抗體組，14 隻動物中有 2 隻存活(14%)達到化合物 A 天數。如圖 10 中所示，相較於各單獨的單一藥劑，6 mg/kg 化合物 A + 抗-PD-1 抗體之組合造成存活延長。就媒劑對照組、化合物 A (6 mg/kg)、抗-PD-1 抗體 (10 mg/kg) 及化合物 A + 抗-PD-1 抗體組(6 mg/kg 的化合物 A 和 10 mg/kg 抗-PD-1 抗體)，中位數存活時間分別為 21、35、24.5 及 49 天。組合組的中位數存活時間明顯比化合物 A 和抗-PD-1 抗體 ( $p < 0.05$ ) 單一藥劑治療組更長。特言之，就化合物 A 的投予後天數，6 mg/kg 的化合物 A 組中無動物存活，而抗-PD-1 抗體組中 14 隻動物中僅有 1 隻(7%)存活無腫瘤。然而，在組合組中，14 隻動物中有 5 隻(36%)存活無腫瘤( $p < 0.05$ )。圖 10 中的數據係代表治療組的 Kaplan-Meier 存活曲線。\* $p < 0.05$  對媒劑對照組。⊥ $p < 0.05$  對抗-PD-1 抗體。# $p < 0.05$  對化合物 A。

## 實例 12

### 【1147】全血細胞激素釋放分析

【1148】將來自 6 位健康捐贈者之人類全血以連續稀釋的 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1(化合物 B)或 IL-2，單獨或與 PEM(「Pembro」或帕博利珠單抗)或 NIVO(納武單抗)組合培養 24 h。使用 Meso Scale Discovery (MSD) U-plex 套組就 6 種分析物(IFN $\gamma$ 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、TNF $\alpha$ )測量處理後從全血釋放進入上清液中的細胞激素。

### 方法

【1149】來自 6 位健康捐贈者之肝素試管中的血液係得自 Scripps Research Institute (TSRI；San Diego, CA)捐血中心。樣本係於採集當天檢測；捐贈者 1-3 係在同一日而捐贈者 4-6 則在另一日。

【1150】將人類全血以各種濃度的 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 和 90  $\mu\text{g/mL}$  的帕博利珠單抗或 127  $\mu\text{g/mL}$  的納武單抗培養(預計的臨床劑量之  $C_{\text{max}}$  值)。

【1151】首先將全血以 RPMI 1640 培養基稀釋 2-倍。將體積 180  $\mu\text{L}$  的預稀釋全血植入 96-孔組織培養盤。然後，於分析盤中加入 20  $\mu\text{L}$  的 10x 最終

試驗濃度之化合物。試驗條件包括連續稀釋的 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1(4.5 µg/mL、1.5 µg/mL、0.8 µg/mL、0.45 µg/mL 及 0.2 µg/mL)或 IL-2 (0.8 µg/mL、0.45 µg/mL、0.2 µg/mL、0.1 µg/mL 及 0.03 µg/mL)及連續稀釋的 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 或 IL-2 加上 90 µg/mL PEM 或 127 µg/mL NIVO。此外，包括正對照和負對照用以顯示此分析之偵測和規格：使用 100 µg/mL 預塗覆 Ultra LEAF 小鼠抗-人類 CD3 作為分析的正對照。50 µg/mL 預塗覆 Ultra LEAF 小鼠 IgG1, κ 為上述抗-人類 CD3 之同型對照。僅含 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 調配緩衝液為分析的負對照。亦以無治療做為分析的負對照。

【1152】將化合物加到孔槽後，將血液於 37°C 培養。將樣本離心後，收集治療後 24 h 的上清液並在分析前儲存於-80°C。以 MSD U-plex 套組將從此分析所釋放的人類細胞激素(IFN-γ、TNF-α、IL-8、IL-6、IL-5、IL-4)定量。此分析之偵測下限係列於下表中。各盤的偵測極限係從 Discovery workbench 之 MSD 軟體提報。各盤具有些微不同的偵測極限。

#### 材料

表 23. 所用的材料和來源

材料	供應商	型號#	調配物	儲液
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 Pilot 2 #0590-164	Cytovance	N/A	調配物 緩衝液	2.18 mg/mL
調配物緩衝液：10 mM 組胺酸 pH 6.0, 5%山梨醇, 0.01% 聚山梨醇酯 80	Cytovance	N/A	N/A	N/A
IL-2	R&D Systems	202-IL-50 0	0.1M 乙酸	1 mg/mL
Biolegend Ultra-LEAF™ 純化的抗-人類 CD3 (UCHT1)	Biolegend	300438	PBS	1 mg/mL
Biolegend Ultra-LEAF™ 純化的小鼠 IgG1, κ 同型對照 (MOPC-21)	Biolegend	400166	PBS	1 mg/mL

帕博利珠單抗(PEM)	Selleckchem	A200502	PBS	9.97 mg/mL
Ultra-LEAF™純化的人類 IgG4 同型對照重組抗體	Biolegend	403702	PBS	1 mg/mL
U-plex 生物標記組 1(人類 IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、IL-10、IL-6, IL-4、IL-5)	Meso Scale Discovery) (MSD)	K15067L- 2	N/A	N/A
Gibco™ RPMI 1640 培養 基，HEPES	Gibco™	22400089		
Falcon™聚苯乙烯微量盤， 96孔，TC處理	Corning	353072		

### 結果

【1153】 24 hr 處理，IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 和 IL-2 誘發劑量依賴的誘發 IFN- $\gamma$ ，但未誘發此分析中所試驗的其他 5 種細胞激素顯著釋放(IL4、IL5、IL8、TNF $\alpha$ 、IL6)。與 Pem 或 Nivo 組合，IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1 和 IL-2 (R&D)二者皆未造成此研究中所試驗的細胞激素樣貌(IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-5、IL-8、TNF- $\alpha$ 、IL-6)顯著變化。個別捐贈者之數據係列於表 24-32 中。單一捐贈者之代表圖係如圖 11A-11B 中所示。

圖 24. IFN- $\gamma$  和 IL-6 量之控制條件

處理	濃度 ug/ ml	IFN- $\gamma$						IL-6					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
化合物 B 調配物緩 衝液	n/a	43.91	8.77	7.75	9.31	268.77	13.03	2.77	0.68	1.31	0.49	5.60	0.73
無處理 (培養基)	n/a	21.58	5.12	8.35	7.03	288.70	11.78	0.93	0.31	0.99	2.23	4.53	1.28
IgG4 同型 對照	50	33.42	29.17	7.86	12.79	262.93	10.33	4.73	0.47	1.50	0.56	8.54	21.30
小鼠 IgG1, $\kappa$	100	21.75	BDL	7.19	6.44	94.74	132.02	1.64	0.88	0.89	0.71	4.27	1.85
PEM	90	52.78	9.62	8.80	11.71	301.71	10.08	1.09	0.39	0.92	0.65	8.95	1.06
NIVO	127	29.77	9.34	6.61	7.56	256.75	9.51	1.28	0.48	1.09	0.59	3.29	0.62
塗覆抗 -CD3	100	13095.85	110278.12	2890.41	12415.49	46221.98	137695.00	279.20	106.57	20.18	66.79	452.34	1414.77

BDL = 低於偵測極限

表 25。Control conditions for IL-5 和 IL-8 量之控制條件

處理	濃度 ug/ml	IL-8						TNF- $\alpha$					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
化合物 B 調配 物緩 衝液	n/a	48.07	8.77	39.07	39.28	143.62	30.69	4.17	0.68	1.2	1	5.82	1.04
無處 理(培 養基)	n/a	20.56	8.77	7.84	27.93	78.91	23.45	3.03	0.68	1.24	1.11	5.61	1.25
IgG4 同型 對照	50	37.11	12.77	9.58	24.88	91.61	BDL	2.66	1.33	1.82	0.75	6.58	0.91
小鼠 IgG1, $\kappa$	100	20.37	7.42	7.92	22.37	57.12	24.8	1.42	0.27	0.14	0.69	3.44	BDL
PEM	90	22.01	8.48	11.36	23.29	95.5	28.32	2.33	0.68	1.67	0.97	5.88	1.43
NIVO	127	20.59	7.68	7.95	22.61	67.38	19.68	2.35	0.44	1.33	1.21	4.89	BDL

塗覆 抗 -CD3	100	5211.87	1780.7	1346.96	4031.78	5306.3	10117.33	475.92	2519.34	136.1	894.5	1187.77	3780.63
-----------------	-----	---------	--------	---------	---------	--------	----------	--------	---------	-------	-------	---------	---------

BDL = 低於偵測極限

表 26. TNF- $\alpha$  和 IL-4 量之控制條件

處理	濃度 ug/ml	IL-5						IL-4					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
化合物 B 調配 物緩衝液	n/a	0.71	0.06	0.59	BDL	BDL	BDL	0.05	0.06	0.08	0.09	BDL	BDL
無處理(培養基)	n/a	0.81	0.14	0.87	BDL	BDL	BDL	0.11	0.06	0.11	0.05	BDL	BDL
IgG4 同型對照	50	0.26	0.23	0.64	BDL	0.77	BDL	0.05	0.12	BDL	0.12	BDL	BDL
小鼠 IgG1, $\kappa$	100	0.66	0.09	0.56	BDL	BDL	BDL	0.04	0.14	0.16	BDL	BDL	0.09
PEM	90	1.03	0.72	0.79	BDL	BDL	BDL	0.10	0.03	0.03	0.09	BDL	BDL
NIVO	127	2.65	1.50	0.91	BDL	BDL	BDL	0.11	0.11	0.05	0.10	BDL	BDL
塗覆抗-CD3	100	34.49	308.57	7.64	31.81	137.92	656.77	11.33	47.81	1.33	11.65	18.59	82.57

BDL = 低於偵測極限

表 27. 以 IL-2 處理之 IFN- $\gamma$  和 IL-6 量

處理	濃度 $\mu$ g/ml	IFN- $\gamma$						IL-6					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6

IL-2	0.8	115.31	290.42	314.96	81.72	61.31	850.98	22.76	17.26	10.13	19.67	17.12	51.15
IL-2	0.45	105.72	352.81	331.98	85.34	58.16	433.00	18.47	11.07	7.20	12.82	18.02	65.04
IL-2	0.2	104.20	228.19	278.17	104.40	51.97	437.67	15.93	5.48	4.12	6.96	12.56	49.09
IL-2	0.1	95.61	135.05	224.27	68.31	47.44	387.76	13.48	2.66	2.73	4.02	10.94	28.98
IL-2	0.03	64.49	62.13	81.74	45.09	39.50	170.85	7.89	1.07	1.35	2.31	9.18	16.60
IL-2+ 帕博 利珠 單抗	0.8	138.79	274.43	318.86	117.65	51.99	437.11	27.72	17.63	10.91	22.39	32.49	50.58
IL-2+ 帕博 利珠 單抗	0.45	107.58	247.26	354.82	111.66	55.99	430.47	23.19	11.71	7.45	31.52	15.11	55.85
IL-2+ 帕博 利珠 單抗	0.2	112.00	231.40	283.69	76.41	64.28	244.58	20.84	6.54	4.93	7.65	14.72	29.07

IL-2+ 帕博 利珠 單抗	0.1	99.87	151.13	241.42	106.24	50.17	274.30	16.91	3.10	3.44	13.06	13.48	28.87
IL-2+ 帕博 利珠 單抗	0.03	76.19	44.44	87.79	40.85	38.04	131.98	11.01	1.46	1.47	2.10	9.98	15.04
IL-2+ 納武 單抗	0.8	112.83	245.07	396.28	67.50	53.02	344.33	24.21	17.31	12.10	19.46	16.29	50.22
IL-2+ 納武 單抗	0.45	98.79	262.60	335.91	66.15	47.95	457.22	17.85	13.65	7.85	11.72	13.01	40.96
IL-2+ 納武 單抗	0.2	101.09	204.58	260.76	59.56	46.18	238.28	17.54	6.37	4.23	6.38	13.08	30.47



IL-2+ 納武 單抗	0.1	100.69	423.63	230.39	92.71	37.74	206.75	12.71	3.10	3.98	9.98	9.74	20.84
IL-2+ 納武 單抗	0.03	72.59	40.13	76.36	nd	38.22	149.74	8.23	1.22	1.44	29.61	8.51	14.21

各捐贈者之數據(例如，D1-D6)係以其特定的調配物緩衝液值正常化。nd = 未測定。

表 28. 以 IL-2 處理的 IL-8 和 IFN- $\alpha$  量

處理	濃度 $\mu\text{g/ml}$	IL-8						TNF- $\alpha$					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
IL-2	0.8	5.88	6.00	4.53	2.28	5.80	25.94	5.97	14.38	13.84	4.88	16.45	24.31
IL-2	0.45	4.67	5.98	4.98	2.02	5.32	36.29	5.04	14.83	13.27	4.48	16.22	37.41
IL-2	0.2	4.34	5.42	4.01	1.88	4.89	27.24	5.10	12.68	11.74	4.18	15.14	26.06
IL-2	0.1	3.80	5.00	3.76	1.60	4.44	17.45	4.60	11.07	10.68	3.16	12.89	16.94
IL-2	0.03	2.70	2.50	1.42	1.38	3.95	11.11	3.52	3.88	4.45	2.55	10.86	12.96
IL-2+帕博利珠單抗	0.8	7.00	6.95	4.83	2.97	7.84	24.43	6.02	17.35	13.48	6.42	16.66	23.88
IL-2+帕博利珠單抗	0.45	5.77	6.41	4.43	3.71	5.86	27.94	5.46	17.44	12.60	6.33	15.51	25.44
IL-2+帕博利珠單抗	0.2	5.37	6.73	3.59	2.24	6.01	15.52	5.20	15.55	11.03	3.54	15.96	17.18
IL-2 +帕博利珠單抗	0.1	5.39	4.85	3.08	2.73	5.47	18.57	4.85	11.49	10.45	5.06	13.80	16.99

IL-2 帕博利珠單抗	0.03	3.60	2.28	1.52	1.65	4.72	8.60	4.24	4.94	4.19	2.82	11.29	8.91
IL-2+納武單抗	0.8	6.66	6.26	4.31	2.02	6.22	26.11	5.71	17.11	13.39	4.52	14.18	26.91
IL-2+納武單抗	0.45	5.06	6.42	4.04	1.80	5.28	22.75	5.35	15.39	12.10	4.61	13.60	22.81
IL-2+納武單抗	0.2	4.09	4.96	3.16	1.49	4.82	19.00	4.97	11.83	9.17	3.23	12.57	17.17
IL-2 +納武單抗	0.1	3.80	4.31	2.97	3.04	5.09	12.19	4.33	10.74	7.90	5.14	11.43	11.44
IL-2+納武單抗	0.03	2.28	1.88	1.03	2.86	3.65	8.55	3.35	4.04	3.60	5.41	10.15	9.42

各捐贈者之數據(例如，D1-D6)係以其特定的調配物緩衝液值正常化。

表 29. 以 IL-2 處理的 IL-5 和 IL-4 量

處理	濃度 $\mu\text{g/ml}$	IL-5						IL-4					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
IL-2	0.8	9.45	6.04	4.34	0.71	10.86	22.27	0.25	0.21	0.21	0.13	0.85	1.02
IL-2	0.45	10.57	11.00	5.85	BDL	15.40	22.08	0.14	0.34	0.32	0.08	0.68	0.89
IL-2	0.2	14.53	8.79	3.46	0.93	12.29	28.22	0.30	0.42	0.28	0.10	0.77	1.05
IL-2	0.1	5.24	6.79	3.85	0.26	9.57	23.02	0.21	0.32	0.14	0.09	0.75	0.83
IL-2	0.03	7.56	3.73	1.35	0.66	22.70	13.05	0.27	0.18	0.15	0.14	0.74	0.52
IL-2 +帕博利珠單抗	0.8	5.62	8.14	4.45	1.55	14.17	24.07	0.24	0.35	0.33	0.28	0.78	1.15
IL-2 +帕博利珠單抗	0.45	4.54	7.16	3.00	0.93	9.82	21.83	0.16	0.39	0.27	0.26	0.70	1.20
IL-2 +帕博利珠單抗	0.2	8.95	11.58	6.50	0.56	12.53	15.88	0.31	0.31	0.47	0.12	0.82	0.76

IL-2 + 帕博利珠單抗	0.1	7.42	7.03	1.90	BDL	8.53	23.41	0.21	0.27	0.36	0.12	0.64	0.76
IL-2 + 帕博利珠單抗	0.03	5.87	2.86	2.05	0.42	14.25	8.53	0.17	BDL	0.13	0.08	0.82	0.51
IL-2 + 納武單抗	0.8	7.16	7.98	4.18	1.38	20.46	20.83	0.22	0.25	0.44	0.14	1.00	1.21
IL-2 + 納武單抗	0.45	7.14	7.05	4.22	BDL	11.55	18.52	0.21	0.31	0.28	0.17	0.54	0.88
IL-2 + 納武單抗	0.2	7.32	7.45	4.18	1.97	12.97	20.73	0.21	0.34	0.30	0.25	0.74	0.75
IL-2 + 納武單抗	0.1	8.67	5.37	3.43	3.04	10.46	16.09	0.26	0.21	0.18	0.14	0.61	0.62
IL-2 + 納武單抗	0.03	3.77	2.02	1.37	BDL	11.82	12.10	0.17	BDL	0.11	0.19	0.74	0.63

BDL = 低於偵測極限

表 30. 以化合物 B (IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1)處理的 IFN- $\gamma$  和 IL-6 量

處理	濃度 $\mu\text{g/ml}$	IFN- $\gamma$						IL-6					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
化合物 B	4.5	213.24	135.44	233.77	75.99	36.04	611.22	39.77	0.56	2.49	4.94	10.61	38.95
化合物 B	1.5	93.02	96.56	195.89	49.83	31	122.98	11.82	0.84	1.82	1.87	8.33	16.01
化合物 B	0.8	66.82	53.46	119.28	44.78	26.93	92.69	9.38	0.43	1.45	1.71	7.56	11.61
化合物 B	0.45	49.07	35.17	85.18	33.58	21.99	74.08	7.87	0.74	1.06	1.29	6.06	3.41
化合物 B	0.2	32.02	12.82	32.15	27.63	14.39	21.95	4.50	BDL	0.91	1.11	3.84	1.09
化合物 B + 帕博利珠 單抗	4.5	102.42	164.69	263.89	68.16	38.09	275.34	15.12	1.79	3.26	3.03	10.86	36.39

化合物B + 帕博利珠 單抗	1.5	80.56	82.28	161.63	49.21	35.01	98.36	11.90	1.29	1.96	3.01	11.07	9.88
化合物B + 帕博利珠 單抗	0.8	74.09	43.39	130.28	38.2	29.55	62.73	12.28	0.82	1.71	1.31	9.23	6.49
化合物B + 帕博利珠 單抗	0.45	46.77	27.81	86.44	31.51	19.78	37.93	7.53	0.46	1.17	1.52	6.70	1.78
化合物B + 帕博利珠 單抗	0.2	29.43	8.62	25.97	20.27	14.52	17.75	5.59	BDL	0.74	0.93	5.04	0.86
化合物B + 納武單抗	4.5	91.59	126.64	269.98	59.66	38.57	901.52	11.56	1.33	4.23	2.83	9.24	34.57
化合物B + 納武單抗	1.5	82.94	71.26	185.79	50.31	30.37	210.47	10.75	1.04	1.97	1.40	7.14	11.44
化合物B + 納武單抗	0.8	59.41	67.83	124.17	30.37	24.23	41.88	7.60	7.56	1.56	0.87	6.38	2.36

化合物B + 納武單抗	0.45	51.93	21.19	84.35	26.44	18.76	30.17	7.73	0.48	1.17	1.33	4.39	2.01
化合物B + 納武單抗	0.2	32.55	7	25.07	16.26	12.1	18.32	4.57	BDL	0.71	1.06	2.59	0.84

「化合物 B」為 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1。各捐贈者之數據(例如，D1-D6)係以其特定的調配物緩衝液值正常化。BDL = 低於偵測極限

表 31. 以化合物 B (IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1)處理之 IL-8 和 TNF- $\alpha$  量

處理	濃度 $\mu\text{g/ml}$	IL-8						TNF- $\alpha$					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
化合物 B	4.5	7.67	4.09	2.99	2.18	4.24	20.12	6.23	11.39	10.42	4.96	12.33	26.03
化合物 B	1.5	2.83	3.87	3.09	1.66	3.64	11.46	4.43	8.33	8.80	3.30	10.85	13.94
化合物 B	0.8	3.08	2.86	2.20	1.36	3.30	6.84	4.16	6.48	6.68	2.92	9.94	8.02
化合物 B	0.45	2.21	2.61	1.43	1.42	2.69	3.50	3.56	5.28	4.56	3.12	8.20	5.30
化合物 B	0.2	1.48	1.60	0.71	1.27	2.22	1.30	2.64	3.10	2.84	2.24	6.23	2.00
化合物B + 帕博利珠 單抗	4.5	4.19	4.64	2.61	2.13	4.65	21.72	5.10	11.12	8.91	4.49	12.42	20.50

化合物B + 帕博利珠 單抗	1.5	4.10	3.46	2.79	2.66	4.45	15.57	4.87	8.68	8.24	3.80	12.07	15.39
化合物B + 帕博利珠 單抗	0.8	3.36	2.80	2.10	1.53	4.13	5.51	4.41	6.88	6.21	3.15	10.56	6.04
化合物B + 帕博利珠 單抗	0.45	2.35	2.19	1.58	1.69	3.21	2.09	3.51	4.09	4.89	2.52	8.33	3.46
化合物B + 帕博利珠 單抗	0.2	1.66	1.41	0.62	1.20	2.46	1.23	2.97	2.59	2.41	2.69	6.18	2.09
化合物B + 納武單抗	4.5	3.97	4.16	3.22	1.63	4.05	16.97	5.36	9.71	9.57	3.83	12.26	21.81
化合物B + 納武單抗	1.5	2.86	2.62	2.16	1.42	3.70	6.78	4.84	6.45	7.11	3.15	10.53	9.76
化合物B + 納武單抗	0.8	2.97	2.55	1.97	1.19	3.56	1.99	3.95	5.33	5.87	2.87	8.88	3.17

化合物B + 納武單抗	0.45	2.15	1.72	1.19	1.10	2.53	2.05	3.66	3.88	3.94	2.86	7.22	3.38
化合物B + 納武單抗	0.2	1.45	1.30	0.59	0.91	1.86	0.90	2.67	2.35	2.21	1.88	4.85	2.31

「化合物 B」為 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1。各捐贈者之數據(例如，D1-D6)係以其特定的調配物緩衝液值正常化

表 32. 以化合物 B (IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1)處理之 IL-5 和 IL-4 量

處理	濃度 µg/ml	IL-5						IL-4					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
化合物 B	4.5	6.39	6.87	1.39	0.91	8.54	31.80	0.18	0.12	0.18	0.21	0.44	1.07
化合物 B	1.5	3.73	5.22	1.57	1.02	8.15	12.23	0.20	0.13	0.16	0.14	0.60	0.43
化合物 B	0.8	8.67	2.03	1.51	BDL	3.16	4.73	0.20	BDL	BDL	0.06	0.20	0.25
化合物 B	0.45	3.63	1.17	1.03	BDL	1.26	5.18	0.08	0.14	0.10	0.11	0.29	0.25
化合物 B	0.2	0.66	BDL	BDL	BDL	0.31	0.27	0.10	0.08	0.12	0.07	0.04	BDL
化合物 B +帕博利珠單抗	4.5	7.22	8.02	2.77	0.74	9.13	27.48	0.26	0.30	0.20	0.14	0.59	1.10
化合物 B +帕博利珠單抗	1.5	3.91	4.10	1.36	BDL	7.45	5.54	0.21	0.13	0.16	0.09	0.59	0.41
化合物 B +帕博利珠單抗	0.8	4.74	6.45	0.92	BDL	5.71	2.69	0.18	0.10	0.11	0.11	0.48	0.15
化合物 B +帕博利珠單抗	0.45	2.54	0.59	0.82	BDL	2.69	BDL	0.17	0.08	BDL	0.07	0.30	0.08

化合物 B + 帕博利珠單抗	0.2	0.84	BDL	0.71	BDL	0.33	0.35	0.14	BDL	BDL	0.09	0.03	BDL
化合物 B + 納武單抗	4.5	4.76	5.65	3.54	0.20	9.21	20.27	0.23	0.27	0.24	0.15	0.74	1.00
化合物 B + 納武單抗	1.5	3.66	2.11	1.41	0.36	9.57	5.42	0.20	0.09	0.17	0.16	0.69	0.30
化合物 B + 納武單抗	0.8	3.20	BDL	0.90	BDL	3.96	1.10	0.21	BDL	0.14	0.09	0.34	0.07
化合物 B + 納武單抗	0.45	5.11	BDL	1.03	0.11	2.08	1.06	0.16	BDL	0.13	0.08	0.20	0.07
化合物 B + 納武單抗	0.2	2.83	0.60	0.73	BDL	1.97	BDL	0.10	0.14	BDL	0.05	0.07	BDL

「化合物 B」為 IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1。BDL = 低於偵測極限



## 實例 13

## 【1154】 同種異體人類混合之淋巴細胞反應(MLR)分析

【1155】 使用同種異體人類混合之淋巴細胞反應(MLR)分析評估化合物 B(IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1)作為單一藥劑以及與檢查點抑制劑(納武單抗或帕博利珠單抗)組合增進 TCR 活化之能力，作為對呈現專一性抗原或新生抗原之腫瘤細胞的溶細胞反應模型。

表 33. 材料

材料	供應商	型號#	調配物	儲液濃度
化合物 B (IL-2_P65[AzK_L1_PEG 30kD]-1)	Synthorx	批號 #0590- 187	調配物緩 衝液(參見 下文)	2 mg/mL
調配物緩衝液：10 mM 組 胺酸 pH 6.0，5%山梨醇， 0.01%聚山梨醇酯 80	Cytovance	N/A	N/A	N/A
納武單抗(nivo)	Selleckchem	A2002	PBS	5 mg/mL
納武單抗	Bristol-Mey ers Squibb	NDC 0003- 3772-11	N/A	10mg/mL
帕博利珠單抗	Merck & Co.	NDC 0006- 3026-01	N/A	25mg/mL
Ultra-LEAF™純化的人類 IgG4 同型對照重組抗體	Biologend	403702	PBS	1 mg/mL
EasySep 人類 CD4+ T 細 胞分離套組	Stemcell	17952	N/A	N/A
EasySep 人類單核細胞分 離套組	Stemcell	19359	N/A	N/A
人類 IFN- $\gamma$ ELISA 套組	Abcam	Ab46025	N/A	N/A

表 34. 材料 (繼續)

成份	供應商	型號#	儲液濃度	操作濃度
<b>MonoDC 轉分化培養基</b>				
BioWhittaker X-VIVO15 無造血血清培養基	Lonza	04418Q	N/A	N/A
FBS	Corning	35011CV	100%	5%
青黴素-鏈黴素	Fisher Scientific	15140122	100%	1%
MEM 非必須胺基酸溶液	Gibco	11140-050	100x	1x
丙酮酸鈉	Gibco	11360-070	100 mM	1 mM
HEPES	Gibco	15630080	1 M	10 mM
重組的人類 IL-4 蛋白 (/CF)	R&D	204-IL-050	1.5e+6 IU/mL	1500 IU/mL
重組的人類 GM-CSF 蛋 白(/CF)	R&D	215-GM- 050	1.5e+6 IU/mL	1500 IU/mL
<b>MLR 共同培養基</b>				
RPMI 1640 培養基， HEPES	Gibco	22400089	N/A	N/A
FBS	Corning	35011CV	100%	5%
青黴素-鏈黴素	Fisher Scientific	15140122	100%	1%
MEM 非必須胺基酸溶液	Gibco	11140-050	100x	1x
丙酮酸鈉	Gibco	11360-070	100 mM	1 mM
HEPES	Gibco	15630080	1 M	10 mM
2-巰基乙醇	Gibco	21985023	50 mM	50 $\mu$ M

【1156】 使用來自二位正常健康捐贈者的週邊血液單核細胞(PBMC)進行分析操作。藉由使用陰性單核細胞選擇套組(Stemcell)於活體外培養分離自PBMC的單核細胞7天產生MonoDC，其係包括加入1,500 IU/mL的IL-4和1,500 IU/mL的GM-CSF。於第3天和第5天替換培養基。於第7天收集MonoDC。

在該日，從不同的捐贈者以陰性選擇套組(Stemcell)分離 CD4+T 細胞。將 CD4+T 細胞( $1 \times 10^5$ )和同種異體 monoDC ( $1 \times 10^4$ )於 96-孔微量滴定盤中，在單獨的化合物 B 濃度範圍(0.005-100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )，或共同與 5、50 或 500  $\text{ng}/\text{mL}$  的納武單抗、帕博利珠單抗或同型 IgG 對照物之存在下共培養。就各處理條件，每次操作係設定 3 重複。共培養 5 天後，使用酵素連接免疫吸附分析(ELISA)套組(Abcam；型號#Ab46025)分析分泌在培養上清液中的 IFN- $\gamma$ 。來自化合物 B 和帕博利珠單抗組合之 IFN- $\gamma$  量係如圖 12 中所示。來自化合物 B 和納武單抗組合之 IFN- $\gamma$  量係如圖 13 和 14 中所示。使用臨床等級的納武單抗產生圖 13 中所示之數據及使用研究等級的納武單抗(Selleckchem)產生圖 14 中所示的數據。結果顯示化合物 B、納武單抗和帕博利珠單抗，用作為單一藥劑，以濃度依賴的方式誘發 IFN- $\gamma$  釋放。令人驚訝地，(a)化合物 B 和納武單抗及(b)化合物 B 和帕博利珠單抗之組合在 MLR 分析中展現協同效應。圖 12、13 及 14 中所顯示的數據係代表來自一捐贈者成對之 3 重複的平均值 $\pm$ 平均值標準誤差。

#### 實例 14

**【1157】** 在週邊血液中和 CT-26 腫瘤內，化合物 B 誘發 CD8+ T、NK 及 Treg 細胞中 Ki67 的表現，但僅擴增 CD8+ T 和 NK 細胞而未擴增 Treg

**【1158】** 就評估化合物 B 之藥物動力學(PK)和藥效動力學(PD)性質，係將 Balb/c 雌性小鼠(6-8 週大具有 16 至 22 g 之平均體重，Jackson Laboratories 或 Taconic Biosciences)於側腹區域以皮下接種 CT-26 腫瘤細胞(ATCC)。藉由一週三次測量腫瘤來監測腫瘤生長。當腫瘤體積達到約 150  $\text{mm}^3$  時，將小鼠隨機分配為對照組和治療組。在 IV 投予單一劑量 3  $\text{mg}/\text{kg}$  的化合物 B 於帶有 CT-26 腫瘤小鼠後，於投予後第 0 天(2 h、8 h 及 12 h)、第 1 天(每個時間點 N=3 隻小鼠)、第 2、3、5、7、10 及 12 天(每個時間點 N=4 隻小鼠)採集終末血液和腫瘤樣本。使用 ELISA 分析就化合物 B 分析血漿和腫瘤樣本。

#### 藥物動力學分析

**【1159】** 將腫瘤分成二半，一半稱重並以液態氮冷凍供腫瘤 PK 分析。將冷凍的腫瘤樣本以溶解緩衝液(1 錠的蛋白酶抑制劑(SIGMA, 型號 #4693159001)溶於 10 mL 1x PBS)均質化。每 0.1 g 組織係與 0.4 mL 的溶解緩

衝液混合。於各組織收集試管加入 5 mm 不鏽鋼微珠(Qiagen, 型號#69989), 之後以 Tissue Lyser II (Qiagen)以 20 Hz 均質 20 秒。均質後, 將腫瘤溶解物旋轉並收集上清液進行化合物 B PK 分析。

【1160】 化合物 B 的腫瘤暴露為大約血漿暴露的 4%(血漿和腫瘤分別為  $AUC_{0-t}$  429,000 和 15,900 h•ng/mL)如圖 15 中所示。腫瘤  $t_{1/2}$  幾乎為血漿  $t_{1/2}$  的二倍(在腫瘤和血漿中分別為 19.9 h 和 9.8 h), 其顯示化合物 B 分布在腫瘤中且相對於血液腔室滯留一段較長的時間。

#### 藥效動力學分析

【1161】 *流式細胞術*。就全血免疫細胞表型, 係在終末收集後將血液樣本溶解並立即固定。簡言之, 根據製造商的方法, 將樣本以 20 個體積預加熱的 1x 溶解/固定緩衝液(BD phosflow™, 型號#558049)處理。將細胞懸浮液以 Fc block (TruStain fc-X anti CD16/32, BioLegend)阻斷, 之後抗體染色。阻斷後, 先將細胞以下列細胞表面標記染色: Ax488 抗-小鼠 CD3 (17A2)、Bv786 抗-小鼠 CD4 (RM4-5)、Bv711 抗-小鼠 CD8a (53-6.7)、Bv421 抗-小鼠 CD49b (DX5)、生物素抗-小鼠 CD25 (REA568)、Bv605 抗-小鼠 CD335 (29A1.4)。然後將細胞以 4°C 預冷卻的甲醇(Fisher Chemical, A412-4)通透化並以 PE 抗-小鼠 FoxP3(FJK-16s)、PerCP eFluor710 抗-Ki67 及 Ax647 抗-Pstat5 (Py694), 以及以 PEcy7 抗-CD44 (IM7)和用於生物素之 BUV395 鏈黴親和素, 進行內部染色。利用 BD LSRFortess, 藉由以 FlowJo 軟體分析讀取樣本讀數。

【1162】 CD8 細胞經鑑別為 CD3+CD8a+。Treg 細胞經鑑別為 CD3+CD4+CD25+FoxP3+。天然殺手細胞係以 CD3-CD335+CD49b+做為閘控。記憶 CD8 細胞係以 CD3+CD8+CD44<sup>高</sup>來評估。

【1163】 *腫瘤 FACS*。藉由將腫瘤切碎成小塊並以 MACS 小鼠腫瘤解離套組(Miltenyi, 130-096-730)根據製造商的方法消化, 製備小鼠腫瘤樣本之單一細胞懸浮液。以 eFluor 780 可固定活細胞染劑(eBioscience, 65-0865-14)鑑別活細胞。將細胞懸浮液以抗-小鼠 CD16/32 抗體(TruStain FcX, BioLegend, 型號 101319)阻斷, 接著細胞表面標記染色。然後將細胞以 FoxP3/轉錄因子固定/通透化試劑(eBioscience, 型號 00-5521-00)固定並通透化, 及然後進行細胞內標記染色。用於表現抗原之抗體為 PEcy7 抗-小鼠 CD45(30-F11)、BUV395 抗-

小鼠 CD3e(17A2)、BV510 抗-小鼠 CD4(GK1.5)、PE-eF610 CD8a (53-6.7)、BV605 抗-小鼠 CD335(29A1.4)、AF700 抗-小鼠 CD25(PC61)、APC 抗-小鼠 CD49b(DX5)。用於內部抗原之抗體為 PE 抗-FoxP3(FJK-16s)和 AF488 抗-Ki67(11F6)。CD8 細胞群族經鑑別為 CD3+CD8+，而 NK 細胞群族經鑑別為 CD3-CD335+CD49b+。Treg 細胞係以 CD3+CD4+CD25+FoxP3+為閘控。事件係以 BD LSRFortessa 取得及藉由 FlowJo 軟體分析。

【1164】 **結果**。將血液和腫瘤樣本以細胞亞群族(CD8+ T、NK 及 Treg 細胞)進行 PD 讀出分析，包括胞內磷酸化 STAT5 (pSTAT5，一種受體佔據和早期訊號傳遞之標記)、Ki67(一種細胞增生標記)及 CD8+ T、NK 和 Treg 細胞計數。僅於血液中測量各種細胞類型上的 pSTAT5。

【1165】 以 3 mg/kg 的化合物 B 投予之帶有 CT-26 腫瘤小鼠顯示持續誘發週邊血液中 CD8+ T、CD8+記憶 T、NK 和 Treg 細胞群族中的 pSTAT5。週邊血液 CD8+ T 細胞(圖 16A)和 CD8+記憶 T 細胞(圖 16B)中 pSTAT5+細胞的百分比在投予後 2 h 達到高峰且持續保持升高至約 48 h 並在 72 hr 前回到基線。就 NK 細胞(圖 16C)，pSTAT5+細胞在投予後逐漸增加於 48 h 達到高峰，並於 120 h 前回到基線。Treg 細胞中 pSTAT5+的誘發(圖 16D)係依循類似 CD8+ T 細胞的模式。

【1166】 pSTAT5 誘發後，化合物 B 誘發三種細胞群族(CD8+ T、NK 及 Treg 細胞)中顯著的 Ki67 活化從第 1 天至第 7 天達到相同程度( $p < 0.05$ )，之後在第 10 天前回到媒劑對照組的量(圖 17A-17F)。如圖 17A 和圖 17B 中所示，藉由化合物 B 活化 Ki67 從 3 至 12 天轉譯成顯著的 CD8+ T 細胞增生反應( $p < 0.05$  對比對照組)。CD8+ T 細胞之表型分析顯露了在相同的時間期間實質擴增此群組內的 CD44+記憶細胞。對比 CD8+ T 細胞，在投予後 3 天化合物 B 誘發最大 NK 細胞擴增並在第 5 天保持升高( $p < 0.05$  對比對照組)，之後在第 7 天前回到媒劑治療對照組的量(圖 17C 和圖 17D)。對比 CD8+ T 和 NK 細胞二者，在投予後第 3 天化合物 B 僅造成非常短暫及大量降低的 Treg 細胞擴增量(相較於 CD8+T 和 NK 細胞的 15-25%，僅 2.5%)(圖 17E 和 17F)。CD8+ T 細胞之擴增和缺乏明顯 CD4+ Treg 細胞亞群族之擴增使得 CD8+ T/Treg 比例逐漸增加，就 3 mg/kg 劑量組在第 7 天達到高峰(圖 17G)。

【1167】 腫瘤樣本之分析顯露了，以化合物 B 治療後 7 天，CD8+ T 細胞和 NK 細胞在腫瘤內顯著擴增( $p < 0.05$  對比對照組)並保持升高直到第 10 天(圖 18A-18B)。然而，就化合物 B 而言，相對於媒劑，腫瘤內的 Treg 細胞族群並未隨時間顯示明顯擴增(圖 18C)。CD8+ T 細胞的擴增和缺乏 CD4+ Treg 細胞亞群組擴增使得 CD8+ T/Treg 比例逐漸增加，就 3 mg/kg 劑量組在第 7 天達到高峰(圖 18D)。

【1168】 總結。在帶有 CT-26 腫瘤小鼠中，3 mg/kg 化合物 B 誘發所有免疫細胞類型，包括 CD8+T、CD8+記憶、NK 及 Treg 細胞之週邊 pSTAT5 活化，其顯示 IL-2R $\beta/\gamma$  受體複合物之涉入。此外，化合物 B 在此劑量所有這些細胞類型中誘發增生標記 Ki-67，但增生作用僅在 CD8+T 和 NK 細胞中觀察到。此舉造成在此劑量於週邊血液中大約 20 的 CD8/Treg 比率。雖然化合物 B 的腫瘤暴露為大約血漿暴露的 4%，但其停留在腫瘤內為二倍長的時間，使得 CD8T/Treg 比率足以顯現腫瘤生長抑制作用。在 6 和 9 mg/kg 之較高劑量時，觀察到較大的腫瘤生長抑制造成腫瘤消退。

### 實例 15

【1169】 在小鼠 CT-26 腫瘤中化合物 B 增加腫瘤內 T 細胞分量及 TCR 多樣性

【1170】 使用帶有 CT-26 腫瘤小鼠檢測化合物 B 作為單一藥劑及與抗-PD-1 抗體組合對 T 細胞組庫之效應。將 Balb/c 雌性小鼠(6-8 週大具有 16 至 22 g 之平均體重，Jackson Laboratories 或 Taconic Biosciences)於側腹區以皮下接種 CT-26 腫瘤細胞(ATCC)並藉由一周三次測量腫瘤，監測腫瘤生長。當腫瘤達到約 180 mm<sup>3</sup>，將小鼠(每組 N=4)隨機分配到下列組別：對照組(化合物 B 媒劑+同型對照物)，化合物 B(於第 0 天 6 mg/kg 單一 IV 劑量)，小鼠抗-PD-1 抗體(於第 0 天和第 3 天 10 mg/kg 二個劑量，IP)或化合物 B+抗-PD-1 抗體之組合。投予前及於投予後第 5、8、12 及 16 天收集血液和腫瘤樣本並儲存於-80°C 直到分析。將樣本進行腫瘤內 T 細胞分量和 TCR 多樣性分析(aptive Biotechnologies, Seattle, WA)。於浸潤 T 細胞上經由 immunoSEQ™ 進行 TCR 定序。

【1171】如相較於媒劑或單獨抗-PD-1 抗體組( $p = 0.005$ )，藉由事後杜氏檢定(post-hoc Dunn's test)所測，在第 8 天前，以單獨 6 mg/kg 的化合物 B，或與抗-PD-1 抗體組合治療的 CT-26 腫瘤顯示明顯較低的 TCR 細胞組庫單株性(clonality)。單株性係藉由細胞組庫內單株或寡株顯性之程度藉由測量殖株頻數分配之形狀來定量。殖株的多樣性係藉由減低採樣將模板數降至最少來測定。與單株性一致，在第 5 天和第 8 天，TCR 多樣性顯示相反趨勢且在以化合物 B 或化合物+抗-PD-1 抗體組合治療的組別中為較高( $p < 0.05$ )(圖 19)。就化合物 B 或抗-PD-1 抗體組合治療，以 T 細胞組庫衡量標準於第 12 或 16 天未觀察到顯著差異。

【1172】如圖 20 中所示，TCR 定序亦展現化合物 B 單獨或與抗-PD-1 抗體組合( $p < 0.05$ )提升了腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)分量。第 8 天的週邊血液樣本分析顯露化合物 B，相較於媒劑對照組，亦明顯降低( $p = 0.001$ )T 細胞單株性，與腫瘤中的觀察一致(圖 21)。

### 實例 16

【1173】化合物 B 重新編程高  $T_{eff}$  活性、IFN- $\gamma$  誘發及檢查點配體表現之 CT-26 腫瘤微環境

【1174】亦經由 mRNAseq (Ominiseq, Buffalo, NY)剖析來自上述實例 15 之研究的 CT-26 腫瘤樣本並以 GeneCentric (Research Triangle Park, NC)分析，用以鑑別細胞和淋巴細胞浸潤和活化的分子標籤。數據係以對照組(媒劑)、化合物 B (6 mg/kg)、小鼠抗-PD-1 (10 mg/kg)或化合物 B 和小鼠抗-PD-1 之組合(每組 N=10 隻小鼠)治療後第 8 天 CT26 腫瘤樣本的表現熱圖來呈現。所有的標籤和個別基因係以  $K \square W$   $p \square$  值  $< 0.05$  表示(PD-L1 除外， $p = 0.23$ )。化合物 B 和抗-PD1 治療-誘發的免疫活化係以使用編造不同免疫標籤的基因和個別基因的  $\log_2$  中位數居中表現值產生之數值為基礎的熱圖來表示。亦製作顯示個別免疫活化標籤或個別基因表現量的箱線圖。在這些箱線圖中，進行第 8 和 12 天整個對照組和治療組的逐對比較及當 Wilcoxon Rank Sum 檢定的  $p$ -值為  $< 0.05$  時，顯示  $p$ -值)。使用 R program version 3.5.3 產生熱圖和箱線圖。箱線圖係顯示下、中和上四分位數表現數據。Plot whiskers 係顯示表現數據的全整分布。圖 22 中所提供的名稱係相當於人類垂直同源基因。

【1175】圖 22 熱圖的最首行係顯示單一投予化合物 B 後 8 天，CT26 腫瘤經活化的 CD8<sup>+</sup>效應子和記憶 T 細胞及 CD56<sup>dim</sup> (溶細胞表型)NK 細胞浸潤。這些細胞群族進一步係藉由與抗-PD-1 抗體組合來提升。平均數居中 log 2 表現量(圖 23)係顯示，相對於投予前的量，化合物 B 顯著(p<0.05)提升這些腫瘤中活化的和記憶 CD8<sup>+</sup>T 細胞，而相較於投予前的量或對照組，化合物 B 和抗-PD-1 抗體之組合顯著增加 CD56<sup>dim</sup>NK 細胞(p<0.01)。如圖 22 中所示，化合物 B 誘發多重的 IL-2 標記之反應和 T 細胞活化，包括三條 IL-2 受體鏈 CD28、4-1BB 及 CD40。此外，化合物 B 治療造成升高的檢查點抑制受體 PD-1 和 CTLA4 及 PD-1 配體 PD-L1 和 PD-L2 之表現。化合物 B 亦誘發 IFN- $\gamma$  釋放及活化 IFN- $\gamma$  訊號傳遞路徑上的基因報導(圖 24A)。

【1176】為了在帶有 CT-26 腫瘤小鼠中建構對化合物 B 的標籤反應，係在投予後第 8 天於媒劑對照組與化合物 B 治療動物間對 ID 差異表現基因進行監督分析(FDR<0/01)。使用顯著性分析，對比第 8 天化合物 B 治療小鼠和第 8 天媒劑對照組樣本之間的基因表現圖式。使用錯誤發現率(FDR = 0.01)調整多個比較。以 FDR-調整的 p-值將基因排名，就對應的倍數變化係列於表 35 中。倍數變化大於 1 係指基因表現在化合物 B 治療臂中為較高的；倍數變化低於 1 係指基因表現在對照臂中為較高的。

表 35. 鑑別用於開發化合物 B 預測性反應標籤(PRS)之新基因標記的表現變化監督分析

基因	原始 p-值	P-值	倍數	基因	原始 p-值	P-值	倍數
<b>F10</b>	1.12E-6	0.000	3.2	<b>NR4A3</b>	9.24E-6	0.011	2.5
<b><u>IL2RA</u></b>	<u>1.12E-6</u>	<u>0.008</u>	<u>3.8</u>	<b>BCL2L14</b>	9.24E-6	0.011	6.1
<b>CDH1</b>	2.24E-6	0.008	3.0	<b>DCSTAMP</b>	9.24E-6	0.011	4.1
<b><u>GZMK</u></b>	<u>2.24E-6</u>	<u>0.009</u>	<u>4.0</u>	<b><u>CTLA4</u></b>	<u>1.20E-5</u>	<u>0.012</u>	<u>3.7</u>
<b>SEPT3</b>	5.88E-6	0.009	5.3	<b>ARHGEF37</b>	1.20E-5	0.012	3.0



<b>F7</b>	5.88E-6	0.011	5.4	<b>STRIP2</b>	1.57E-5	0.015	4.6
<b>PDCD1</b> <b>LG2</b>	5.88E-6	0.011	4.6	<b>FAM169A</b>	2.24E-5	0.015	1.7
<b>ASGR2</b>	5.88E-6	0.011	4.6	<b><u>CCL22</u></b>	<u>2.41E-5</u>	<u>0.015</u>	<u>3.8</u>
<b>RAMP3</b>	5.88E-6	0.011	3.1	<b>MEX3B</b>	2.55E-5	0.015	1.6
<b>IL12B</b>	5.88E-6	0.011	6.5	<b>HR</b>	2.58E-5	0.015	4.3
<b>FLT3</b>	8.12E-6	0.011	3.9	<b>TACR1</b>	2.69E-5	0.015	2.7
<b><u>CCL17</u></b>	<u>8.96E-6</u>	<u>0.011</u>	<u>7.3</u>				

【1177】 使用 43 個最具差異表現基因中的 42 個進行原型化合物 B PRS。將基因 GT(ROSA)26 從原型 PRS 排除，因為此基因係用作為小鼠中敲入基因座。製造原型化合物 B 細胞並與對照組、化合物 B 及抗-PD1 治療臂比較。進行第 8 天和第 12 天整個對照組和治療組之 PRS 的逐對比較並如箱線圖所示(圖 24A)。顯示藉由逐對 Wilcoxon Rank Sum 檢定所產生的 P-值(p-值 < 0.05)。使用 R program version 3.5.3 產生箱線圖，其係顯示上四分位數、中位數和下四分位數表現數據。Plot whiskers 係顯示中位數加或減 1.5 倍內部四分位數間距 (IQR)，或當最小/最大落在 1.5 倍 IQR 內時，為最小/最大表現數據。

【1178】 相對於對照組，在第 8 天 42 個基因被化合物 B 上調。使用顯示於表 35 中的 23 個人類垂直同源物建立一原型反應標籤。如表 35 概述的內容中所示，偵測到數個具有已知 IL-2 相關生物學之基因。就化合物 B 單一藥劑和與抗-PD-1 抗體之組合，相對於媒劑治療的小鼠，觀察到顯著的標籤細胞(圖 24B)。

### 實例 17

【1179】 在以 CT-26 細胞再注射挑戰的存活動物中，化合物 B 促進持久性記憶 T 細胞反應之建立，防止 CT-26 腫瘤生長

【1180】 在實例 15 中，7 隻小鼠在第 100 天仍為無腫瘤並各包括 1 隻來自 3 mg/kg 化合物 B，6 mg/kg 化合物 B 以及抗-PD-1 抗體組的動物及 4 隻來自 6 mg/kg 化合物 B + 抗-PD-1 抗體組之動物。將這 7 隻小鼠和 7 隻未用過藥的

對照小鼠於第 121 天同時接種相同數目的 CT-26 腫瘤細胞(研究#2)。如圖 25 中所示，先前經化合物 B、抗-PD-1 抗體或其組合治療的 7 隻小鼠並無發生腫瘤，而所有的對照組動物長出腫瘤，其顯示回應最初的治疗建立了持久性記憶 T 細胞群族。而 2 個月後，在第 181 天將 7 隻存活的經治療無腫瘤動物再次與 7 隻對照小鼠一起接種上 CT-26 腫瘤細胞。再一次，7 隻經治療的無腫瘤動物並未發生腫瘤而對照組動物則長出腫瘤(圖 25)。這 7 隻無腫瘤動物存活至第 202 天研究終了時。

【1181】以存活的動物於另外的研究(研究#3)中重複再挑戰實驗。在第 102 天腫瘤完全消退之總計 9 隻存活無腫瘤小鼠(來自 9 mg/kg 化合物 B 和抗-PD-1 抗體組各 1 隻，2 隻來自 3 mg/kg 化合物 B+抗-PD-1 抗體組合組及 5 隻來自 6 mg/kg 化合物 B+抗-PD-1 抗體組合組)以皮下接種 CT-26 腫瘤細胞再挑戰。另外 10 隻無用過藥對照小鼠亦同時接種。如圖 26 中所示，9 隻動物並無發生腫瘤，其顯示回應最初的治疗建立了持久性記憶 T 細胞群族。相反的，全部 10 隻對照動物皆發生腫瘤。二個月後，於第 163 天，於第一次挑戰中存活的相同 9 隻動物中進行第二次再挑戰；另外 9 隻無用過藥動物作為對照組。如同第一次再挑戰的情況，9 隻存活動物並無發生腫瘤，其確認了最初療後記憶 T 細胞反應之持久性，而在對照組動物中長出腫瘤(圖 26)。這 9 隻無腫瘤動物存活至第 184 天研究終了時。

【1182】就測定化合物 B 促進持久性 T 細胞記憶反應的能力，係在第二次再挑戰後 60 天，從研究#2 之 7 隻存活的小鼠收集血液樣本。表現記憶之血液樣本的 FACS 分析揭露了化合物 B 促進建立抗 CT-26 腫瘤之持久性免疫學記憶，如觀察到週邊記憶 T 細胞(CD3+)，包括記憶 CD8+ T 細胞的整體增加(圖 27A-27B)。

【1183】總結。在 6 mg/kg 化合物 B 治療的腫瘤之 TIL 分析中顯露了 T 細胞組庫和活化的 CD8+T 細胞(包括效應子記憶)和 NK 細胞及 IFN $\gamma$  標籤增加，其誘發檢查點配體。免疫檢查點治療已被廣泛使用且在越來越多的癌症中顯現效用，包括轉移黑色素瘤和腎細胞癌(Hodi F.S. et al., N. Engl. J. Med. (2010) 363(8) : 711–723 ; Topalian S.L. et al., N. Engl. J. Med. (2012) 366(26) : 2443–2454 ; Wolchok J.D. et al., N. Engl. J. Med. (2013) 369(2) : 122–133 ; Sharma P.

et al. Cell (2015) 161(2) : 205–214 ; Alsaab H.O. et al., Frontiers in Pharmacology (2017) 8 : 561, 1-15 ; Pardoll D.M. Nat. Rev. Cancer (2016) 12(4) : 252–264)。然而，完全反應率仍相當低。免疫檢查點抑制劑顯露了功能失調的細胞毒性 T 淋巴細胞之裂縫並將其填補，而細胞激素治療，例如 IL-2 可使其活化並增生。此外，以 IL-2 為基礎的治療可擴增和活化 Fc $\gamma$  淋巴細胞，例如 NK 細胞。因此，檢查點抑制劑與 IL-2 之組合彼此互補，媒介對提升抗-腫瘤反應之免疫反應的效應。在目前的研究中，相較於各單一藥劑，化合物 B 和抗-PD-1 之組合治療由於提升活化的細胞毒性 CD8 $\gamma$ T 和 NK 細胞之多樣性和單株性，而產生存活利益。再者，經化合物 B 或組合治療的無腫瘤小鼠具有持久性記憶 T 細胞群組。此項產生於二次相隔二個月以相同的腫瘤細胞再挑戰後，在存活小鼠中注射腫瘤細胞，其中第一次再挑戰為最後化合物 B、抗-PD-1 抗體或組合治療後 100 天。

【1184】在文中已顯示和描述本發明較佳的具體實例之同時，此等具體實例僅以舉例說明的方式提供對熟習本項技術者應為顯而易見的。在不悖離本發明之下，熟習本項技術者現在應能想到許多的變化、改變及取代。應了解，在施行本發行時可應用文中所述的本發明具體實例之各種替代選擇。希望下列請求項係定義本發明之範圍且據此涵蓋這些請求項中的方法和結構及其同等物。文中所引述的所有專利和科學文獻之揭示文明確地係以全文引用的方式併入本文中。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

## 序列表

<110> 美商欣樂克斯公司(SYNTHORX, INC.)

<120> 使用IL-2接合物之免疫腫瘤學組合療法

<130> 01183-0073-00PCT

<150> US 62/887,400

<151> 2019-08-15

<150> US 62/903,187

<151> 2019-09-20

<150> US 62/962,668

<151> 2020-01-17

<160> 98

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 133

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc\_feature

<223> IL-2 (智人(Homo sapiens)) (成熟形式)

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 2

<211> 153

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc\_feature

<223> IL-2 (智人(Homo sapiens)) (前驅物)

<400> 2

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu  
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu  
20 25 30

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

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

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

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

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

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala  
115 120 125

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

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
145 150

<210> 3  
<211> 132  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的：阿地介白素(aldesleukin)

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 4

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_C125S

<400> 4

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 5  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65X

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (65)..(65)  
 <223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 5

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

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

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

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

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



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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

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

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_E62X

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (62)..(62)  
 <223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 6

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 7  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F42X

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲任何非天然胺基酸

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 8  
<211> 133  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_K43X

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (43)..(43)  
<223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 8

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

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

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

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



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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 10  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65[AzK]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (65)..(65)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 11

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_E62[AzK]

<220>

<221> misc\_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa爲[AzK]

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 12  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F42[AzK]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 12

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 13  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 13

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



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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 14  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (35)..(35)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 14

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 15  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_PEG]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (65)..(65)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG]

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 16  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_PEG]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (62)..(62)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG]

&lt;400&gt; 16

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_F42[AzK\_PEG]

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (42)..(42)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG]

<400> 17

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 18

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_PEG]

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG]

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 19  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_PEG]

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (35)..(35)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_PEG]

&lt;400&gt; 19

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_PEG5kD]

<220>

<221> misc\_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 21

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列



&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_E62[AzK\_PEG5kD]

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (62)..(62)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

&lt;400&gt; 21

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_F42[AzK\_PEG5kD]

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (42)..(42)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

&lt;400&gt; 22

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
       130

<210> 23  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_PEG5kD]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 23

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 24  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_PEG5kD]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (35)..(35)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 25  
<211> 133  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_PEG30kD]

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (65)..(65)  
<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 26  
<211> 133  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_PEG30kD]

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (62)..(62)  
<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 26

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 27

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_F42[AzK\_PEG30kD]

<220>

<221> misc\_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 27

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 28  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_PEG30kD]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 28

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

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

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

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

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

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



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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 29

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_PEG30kD]

<220>

<221> misc\_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 29

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 30  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65X-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (64)..(64)  
 <223> Xaa為任何非天然氨基酸

<400> 30

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 31

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_E62X-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 31

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 32  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F42X-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (41)..(41)  
 <223> Xaa爲任何非天然胺基酸

<400> 32

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 33

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_K43X-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 33

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

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

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

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



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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 35  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65[AzK]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (64)..(64)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 35

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 36  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_E62[AzK]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (61)..(61)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 36

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

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



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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 37  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F42[AzK]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (41)..(41)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 37

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 38  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK]

<400> 38

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 39

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_K35[AzK]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa爲[AzK]

<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 40  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (64)..(64)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 41

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_L1\_PEG]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 41

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 42

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_F42[AzK\_L1\_PEG]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 42

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 43

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_L1\_PEG]-1

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 43

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 44  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_L1\_PEG]-1



&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (34)..(34)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

&lt;400&gt; 44

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 132

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG5kD]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 45

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
  130

<210> 46

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_E62[AzK\_L1\_PEG5kD]-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (61)..(61)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

&lt;400&gt; 46

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 132

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_F42[AzK\_L1\_PEG5kD]-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (41)..(41)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

&lt;400&gt; 47

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 48  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_L1\_PEG5kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 49  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_L1\_PEG5kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 49

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 50  
<211> 132  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (64)..(64)  
<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 51

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_L1\_PEG30kD]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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



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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 52  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F42[AzK\_L1\_PEG30kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (41)..(41)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 53  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_L1\_PEG30kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 54  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_L1\_PEG30kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 54

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 55  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG]-2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (65)..(65)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 55

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 56  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_L1\_PEG]-2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (62)..(62)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 56

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 57

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_F42[AzK\_L1\_PEG]-2

<220>

<221> misc\_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 57

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 58  
<211> 133  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_L1\_PEG]-2

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (43)..(43)  
<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG]

<400> 58

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

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

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

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





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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 60

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG5kD]-2

<220>

<221> misc\_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 60

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 61

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_L1\_PEG5kD]-2

<220>

<221> misc\_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 61

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 62  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F42[AzK\_L1\_PEG5kD]-2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 62

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 63  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_L1\_PEG5kD]-2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 63

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 64  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_L1\_PEG5kD]-2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (35)..(35)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG5kD]

<400> 64

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 65  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_L1\_PEG30kD]-2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (65)..(65)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 65

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 66  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_L1\_PEG30kD]-2

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (62)..(62)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

&lt;400&gt; 66

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_F42[AzK\_ L1\_PEG30kD]-2

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (42)..(42)



<223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 67

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 68

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_L1\_PEG30kD]-2

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

<400> 68

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 69  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_L1\_PEG30kD]-2

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (35)..(35)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_L1\_PEG30kD]

&lt;400&gt; 69

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 132

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_PEG]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG]

<400> 70

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
  130

<210> 71

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_E62[AzK\_PEG]-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (61)..(61)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_PEG]

&lt;400&gt; 71

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 132

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_F42[AzK\_PEG]-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (41)..(41)

&lt;223&gt; Xaa爲[AzK\_PEG]

&lt;400&gt; 72

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 73  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_PEG]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG]

<400> 73

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 74  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_PEG]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG]

<400> 74

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

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

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

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

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

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

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

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



Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 75  
<211> 132  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_PEG5kD]-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (64)..(64)  
<223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 75

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 76  
<211> 132  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_PEG5kD]-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (61)..(61)  
<223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 76

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 77  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F42[AzK\_PEG5kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (41)..(41)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 77

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 78  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_PEG5kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 78

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 79  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_PEG5kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG5kD]

<400> 79

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 80  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_P65[AzK\_PEG30kD]-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (64)..(64)  
 <223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 80

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 81

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_E62[AzK\_PEG30kD]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
                   130

<210> 82

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_F42[AzK\_PEG30kD]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 82

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

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

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

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



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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 83

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_K43[AzK\_PEG30kD]-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 83

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 84  
<211> 132  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: IL-2\_K35[AzK\_PEG30kD]-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (34)..(34)  
<223> Xaa爲[AzK\_PEG30kD]

<400> 84

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 85  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F44X

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (44)..(44)  
 <223> Xaa爲任何非天然胺基酸

<400> 85

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 86  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_F44X-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 86

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 87  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_R38X

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Xaa爲任何非天然胺基酸

<400> 87

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 88  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_R38X-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (37)..(37)  
 <223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 88

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

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

Pro Lys Leu Thr Xaa Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys  
 35 40 45

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 89

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_T41X

<220>

<221> misc\_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 89

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 90  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_T41X-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 90



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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 91

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_E68X

<220>

<221> misc\_feature

<222> (68)..(68)

<223> Xaa為任何非天然胺基酸

&lt;400&gt; 91

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 132

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_E68X-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (67)..(67)

<223> Xaa為任何非天然胺基酸

<400> 92

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 93

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_Y45X

<220>

<221> misc\_feature

<222> (45)..(45)

<223> Xaa爲任何非天然胺基酸

<400> 93

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 94

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IL-2\_Y45X-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (44)..(44)

&lt;223&gt; Xaa爲任何非天然胺基酸

&lt;400&gt; 94

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

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

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Xaa Met Pro Lys Lys  
           35                   40                   45

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
 130

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 合成的: IL-2\_V69X

<220>

<221> misc\_feature

<222> (69)..(69)

<223> Xaa爲任何非天然氨基酸

<400> 95

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
      130

<210> 96

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_V69X-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (68)..(68)

&lt;223&gt; Xaa爲任何非天然氨基酸

&lt;400&gt; 96

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

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

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

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

Leu Glu Glu Xaa Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg  
65                   70                   75                   80

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

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

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

Ser Thr Leu Thr  
      130

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的: IL-2\_L72X

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (72)..(72)

&lt;223&gt; Xaa爲任何非天然胺基酸

&lt;400&gt; 97

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
130



<210> 98  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的: IL-2\_L72X-1

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (71)..(71)  
 <223> Xaa爲任何非天然胺基酸

<400> 98

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

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

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

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

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

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

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

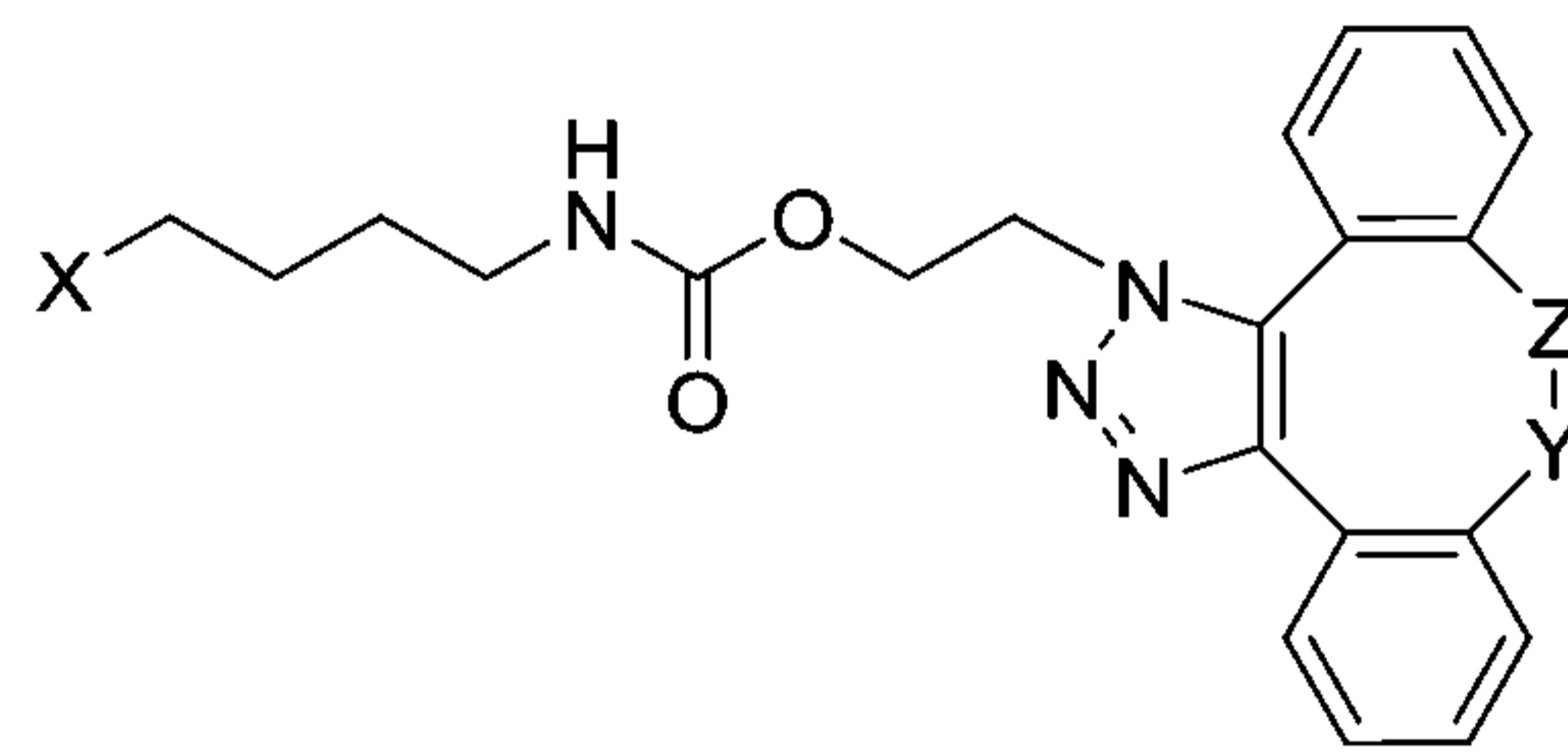
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile  
 115 120 125

Ser Thr Leu Thr  
 130



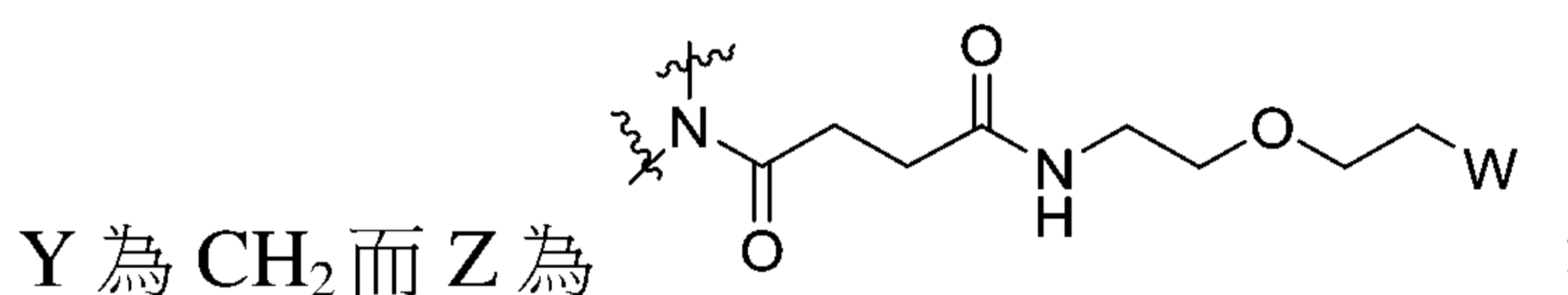
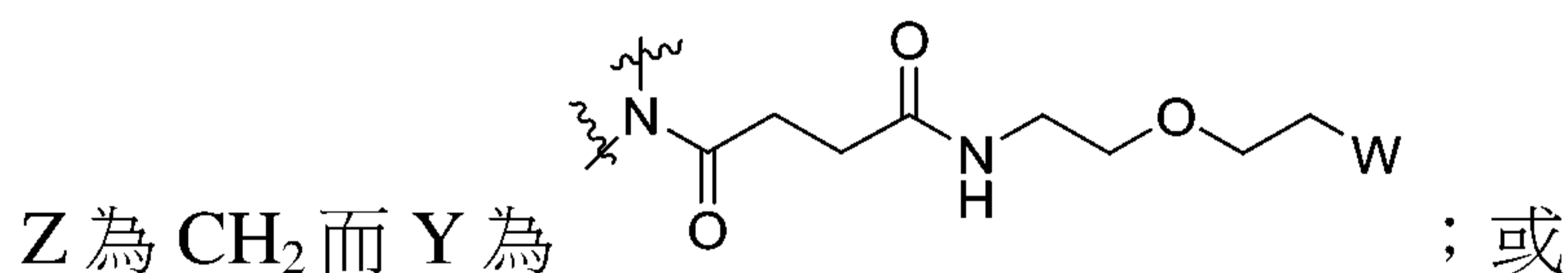
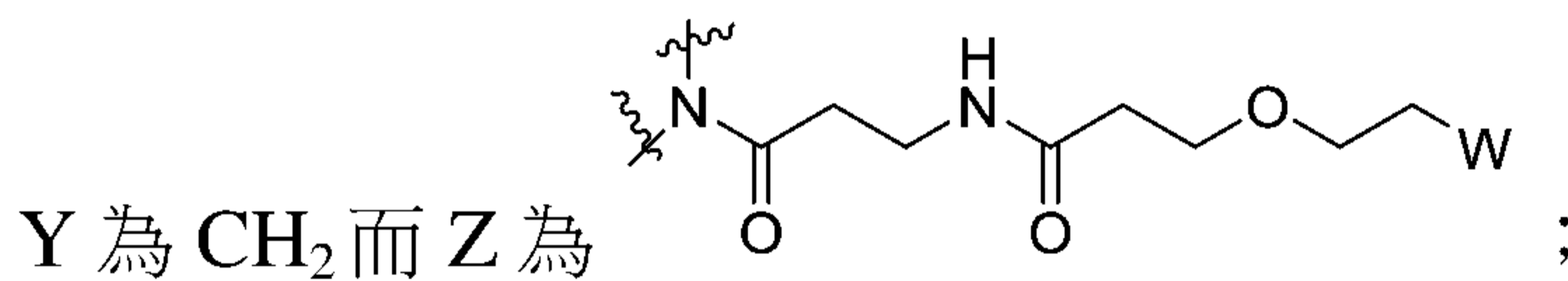
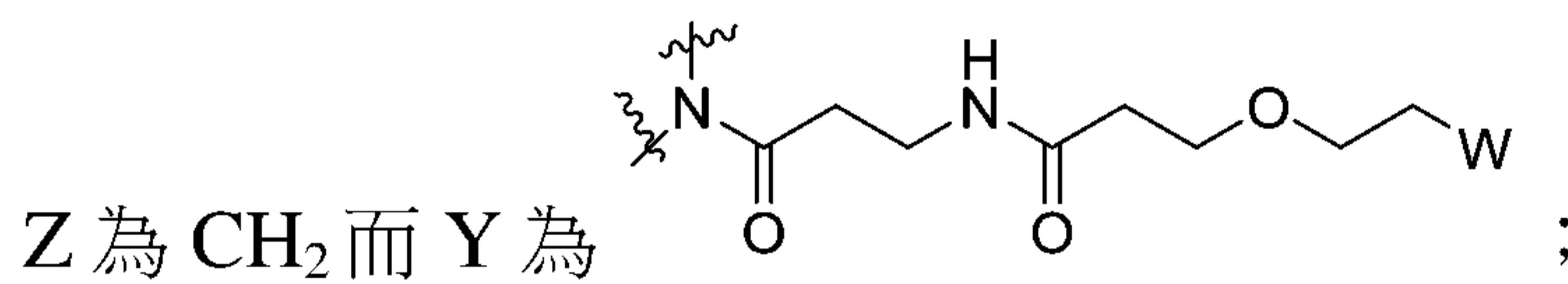
## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種於一有此需要的對象中治療癌症的方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個免疫檢查點抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：3 之胺基酸序列，其中該 IL-2 接合物中至少一個胺基酸殘基係經式(I)之結構置換：



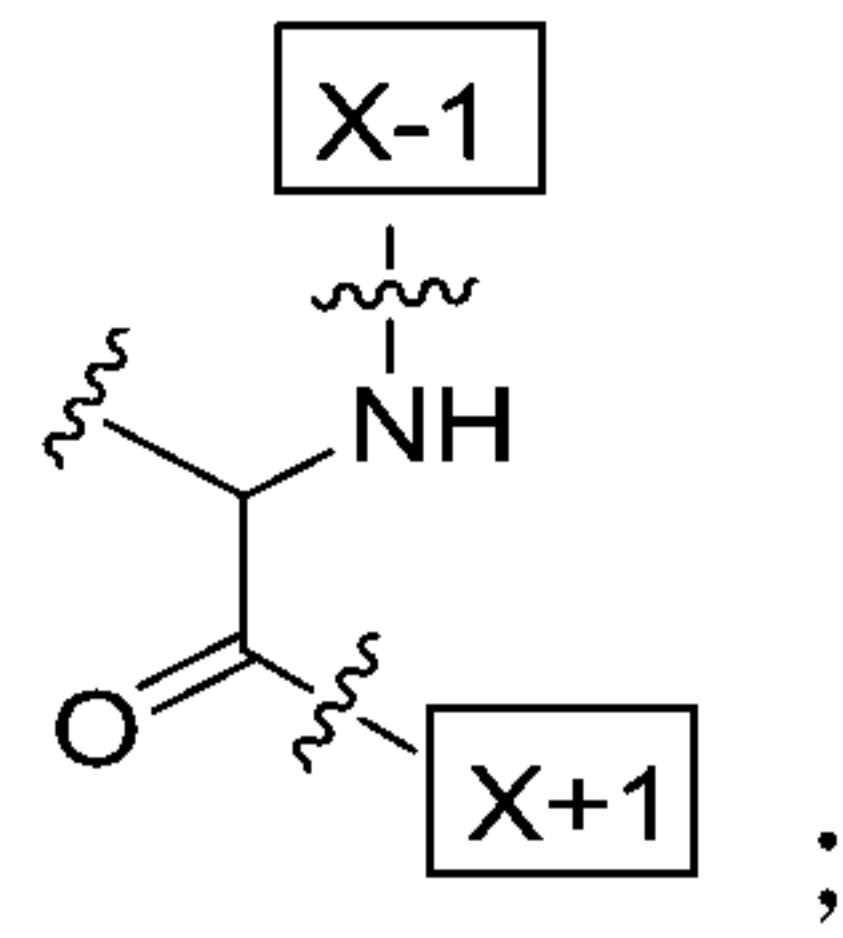
式(I)；

其中：



W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa 及 60 kDa；

X 具有下列結構：

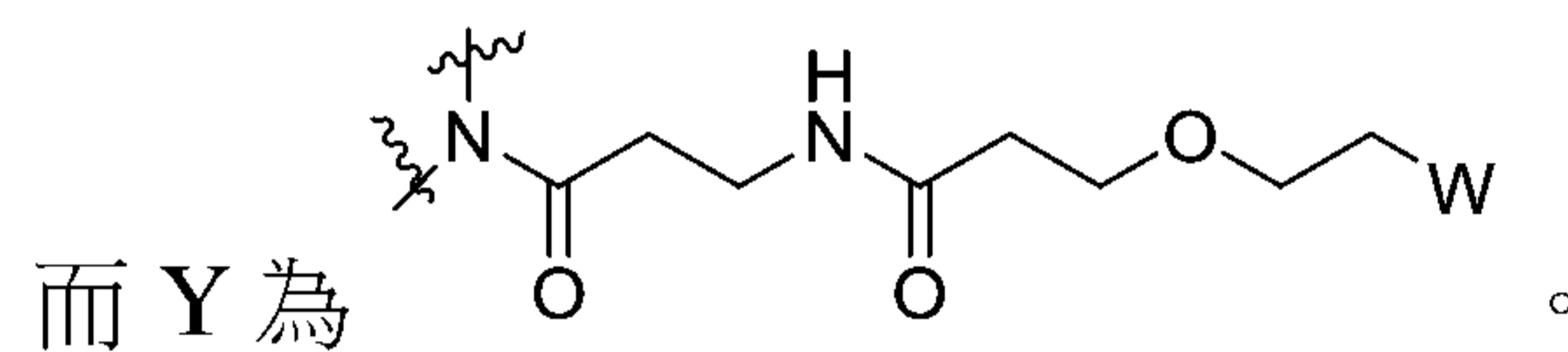


X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

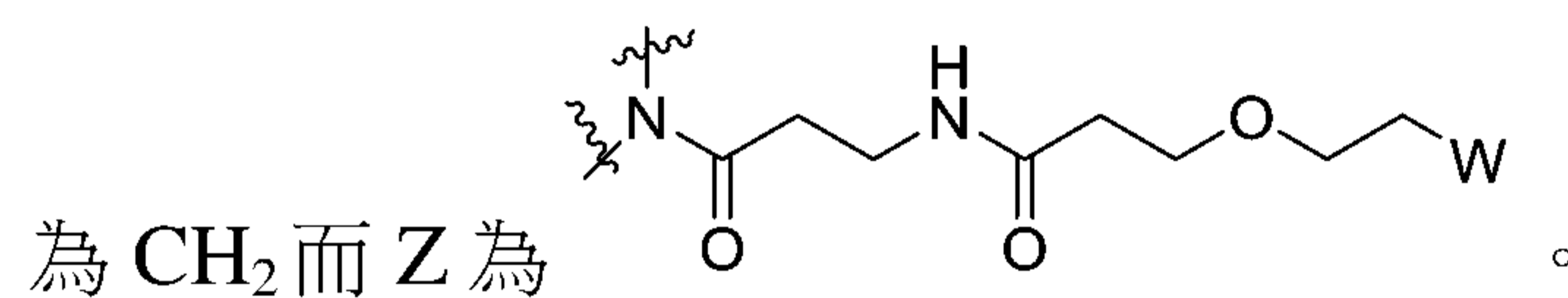
X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點；

其中 SEQ ID NO：3 中式(I)結構之位置係選自 K34、F41、F43、K42、E61、P64、R37、T40、E67、Y44、V68 及 L71。

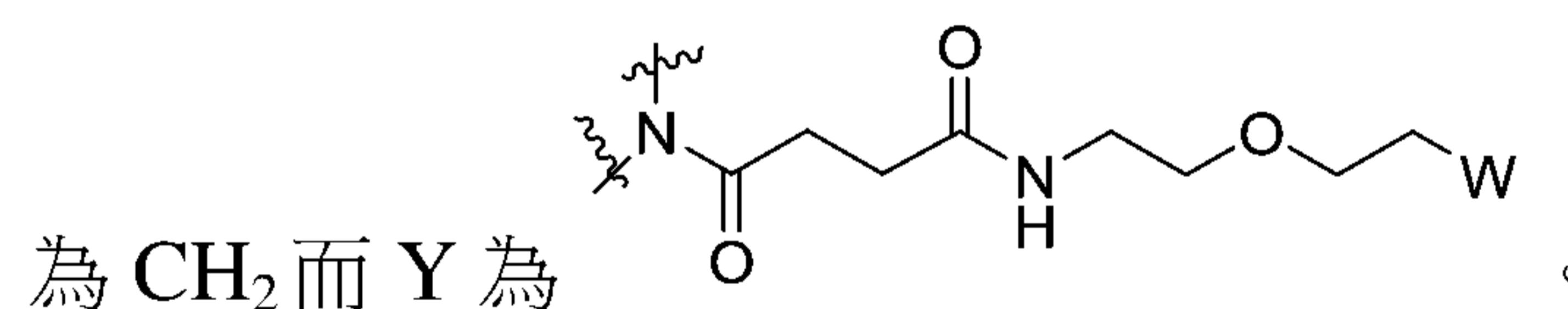
【請求項2】 根據請求項 1 之方法，其中在該 IL-2 接合物中 Z 為 CH<sub>2</sub>



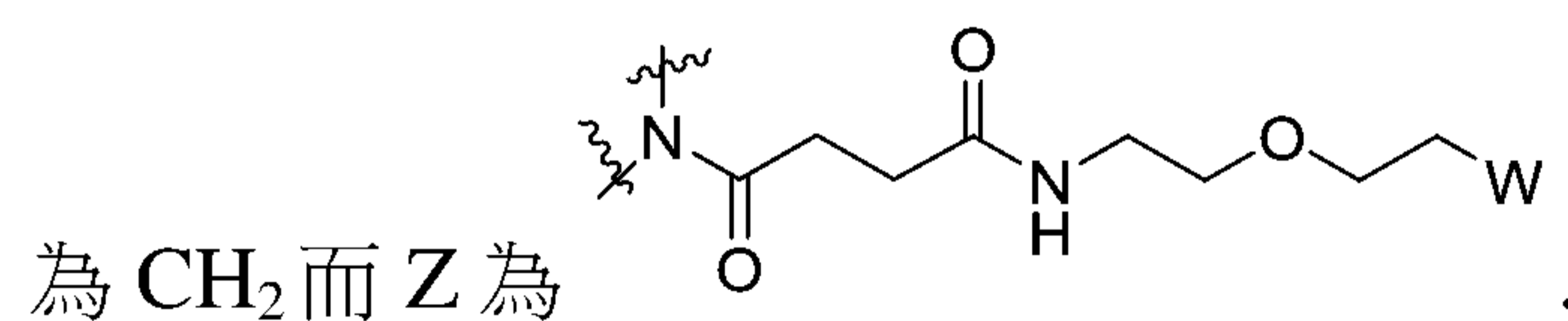
【請求項3】 之方法根據請求項 1 之方法，其中在該 IL-2 接合物中 Y



【請求項4】 之方法根據請求項 1 之方法，其中在該 IL-2 接合物中 Z



【請求項5】 之方法根據請求項 1 之方法，其中在該 IL-2 接合物中 Y

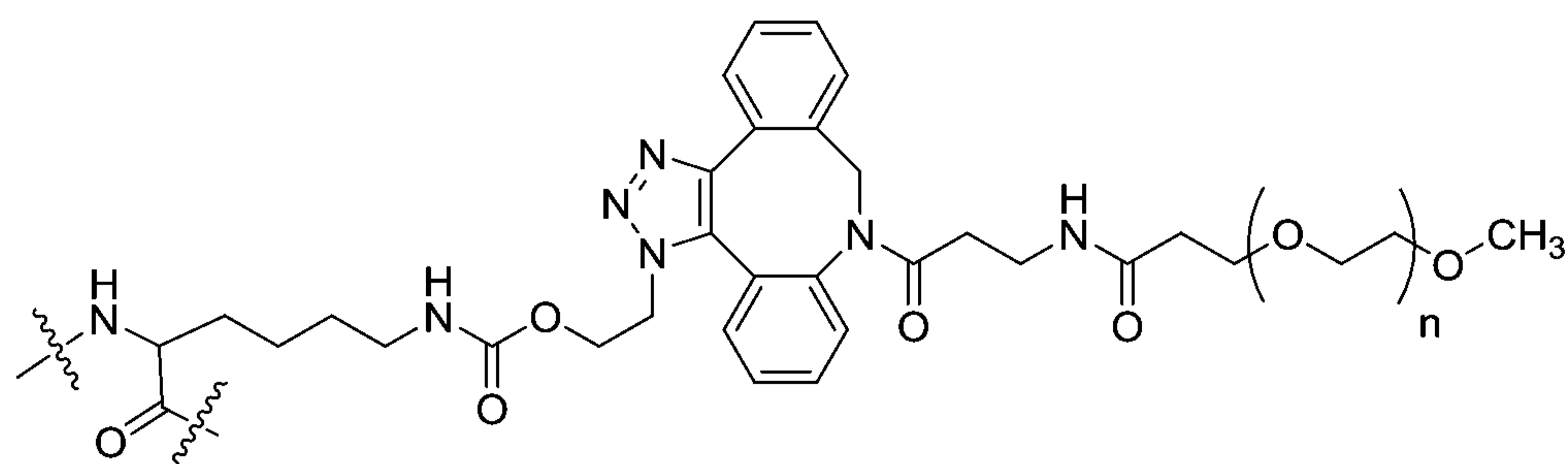


【請求項6】 根據請求項 1-5 中任一項之方法，其中在該 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 之平均分子量。

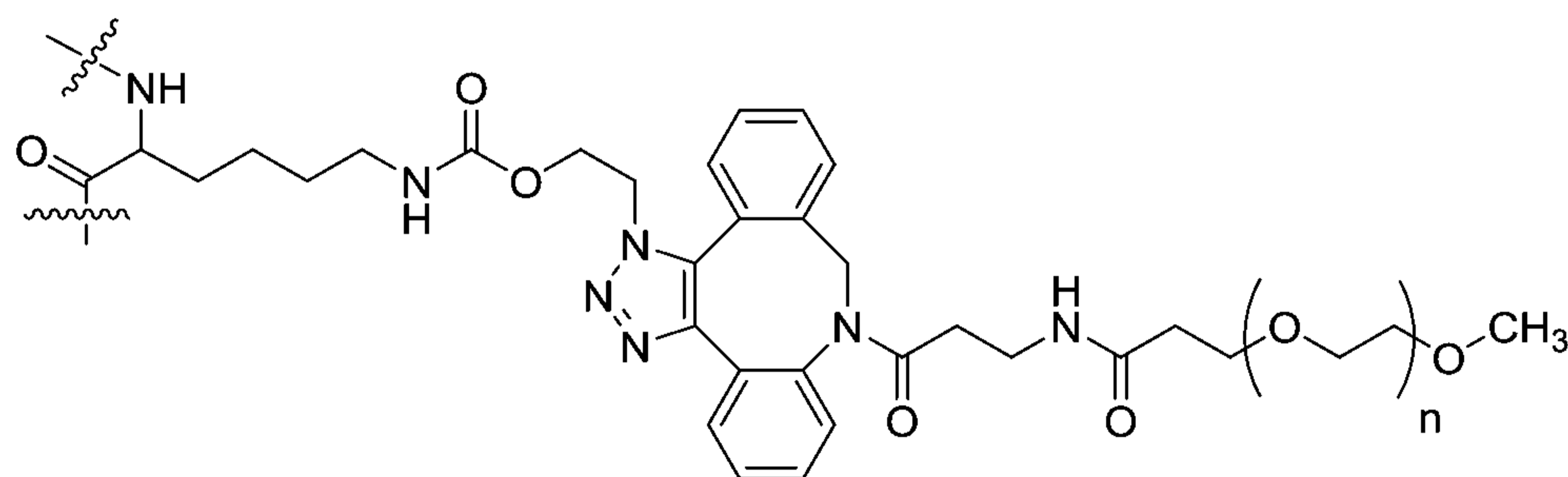
【請求項7】 根據請求項 6 之方法，其中在 IL-2 接合物中該 PEG 基團具有 30 kDa 之平均分子量。

【請求項8】 根據請求項 1-7 中任一項之方法，其中在該 IL-2 接合物中 SEQ ID NO：3 中之式(I)結構的位置為 P64。

【請求項9】 如請求項 1 之方法，其中該式(I)之結構具有式(X)或式(XI)之結構，或為式(X)和式(XI)之混合物：



式(X)；



(XI)；

其中：

n 為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

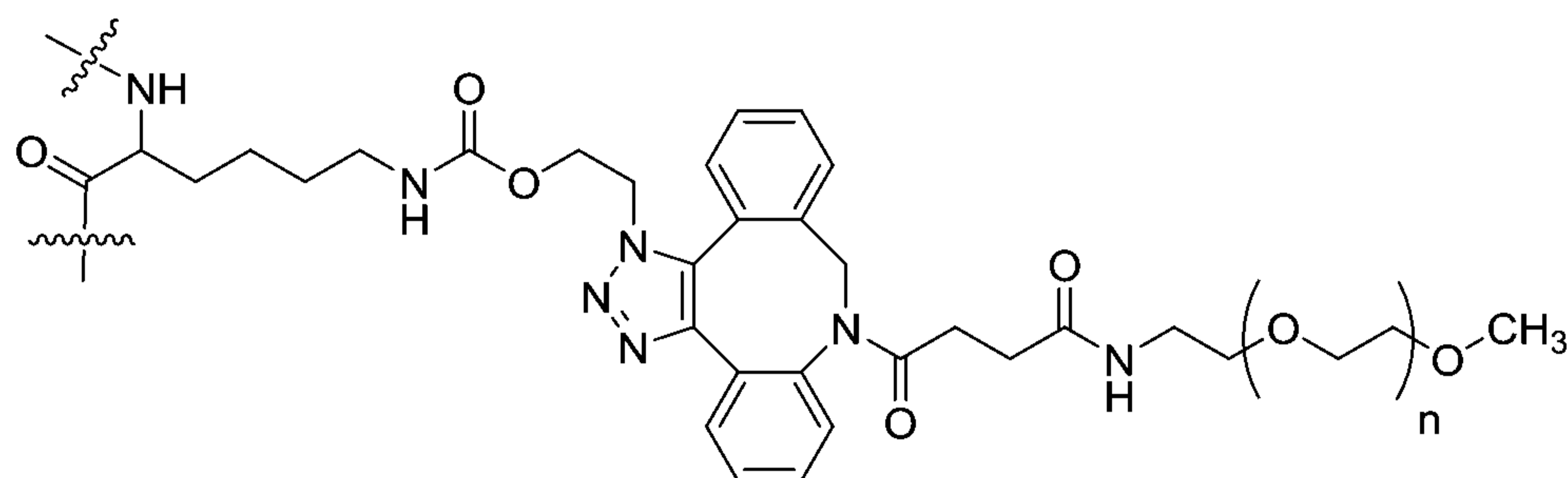
波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

【請求項10】 如請求項 9 之方法，其中在該 IL-2 接合物中 SEQ ID NO：3 中之式(X)或式(XI)結構的位置為 P64。

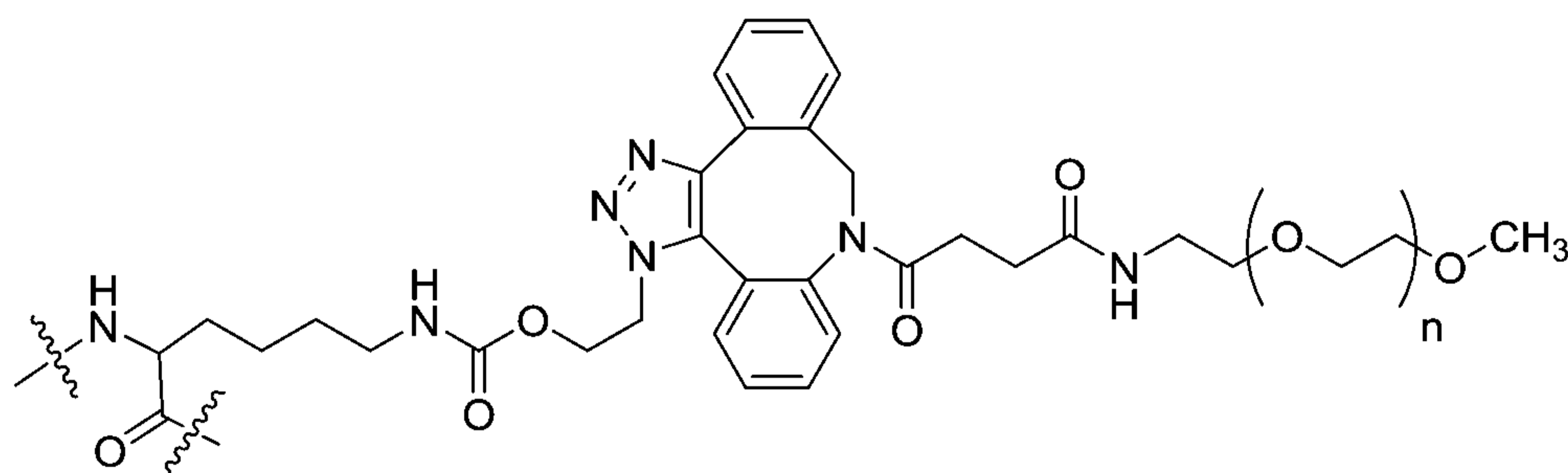
【請求項11】 如請求項 9 或 10，其中在該 IL-2 接合物中 n 為一整數使得  $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$  具有約 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 之分子量。

【請求項12】 如請求項 11 之方法，其中在該 IL-2 接合物中 n 為一整數使得  $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$  具有約 30 kDa 之分子量。

【請求項13】 如請求項 1 之方法，其中式(I)之結構具有式(XII)或式(XIII)之結構，或為式(XII)和式(XIII)之混合物：



式(XII)；



(XIII)；

其中：

$n$  為範圍從約 2 至約 5000 之整數；及

波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

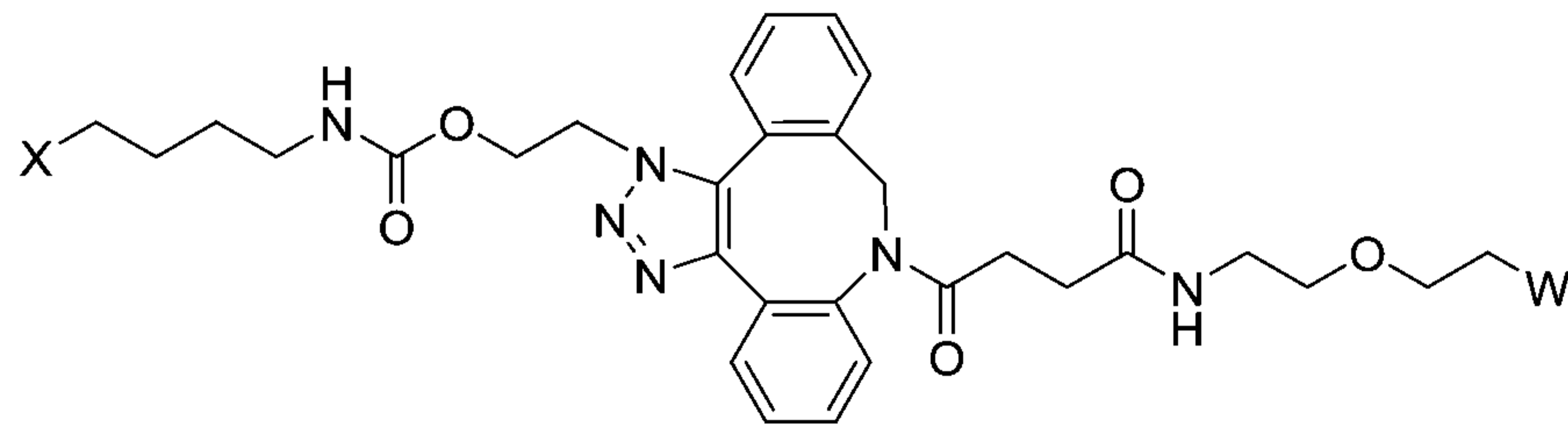
【請求項14】 如請求項 13 之方法，其中在該 IL-2 接合物中 SEQ ID NO：3 中之式(XII)或式(XIII)結構的位置為 P64。

【請求項15】 如請求項 13 或 14 之方法，其中在該 IL-2 接合物中  $n$  為一整數使得  $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$  具有約 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 之分子量。

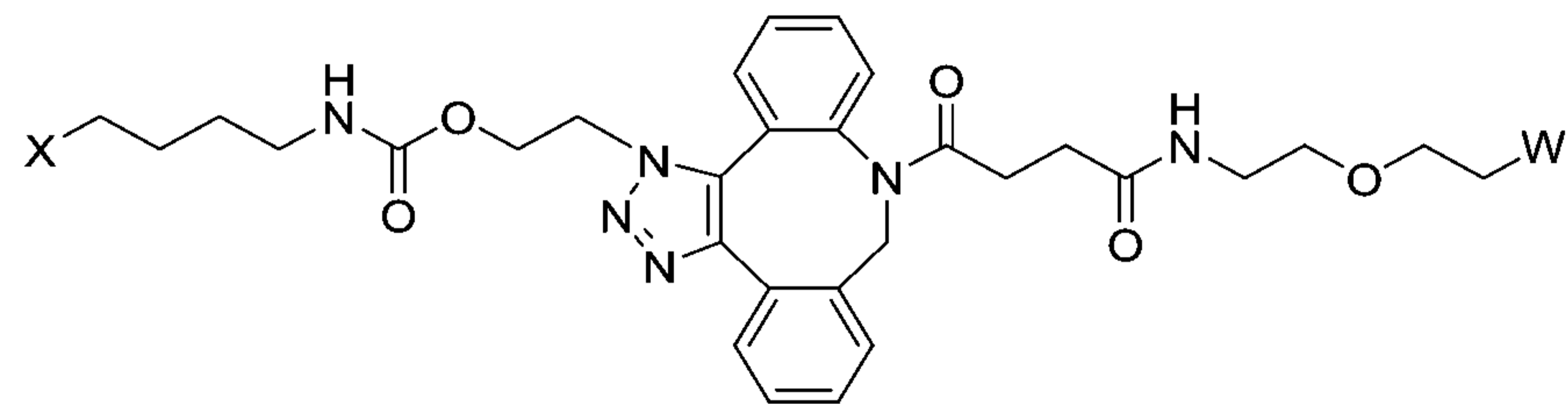
【請求項16】 如請求項 15 之方法，其中在該 IL-2 接合物中  $n$  為一整數使得  $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$  具有約 30 kDa 之分子量。

【請求項17】 一種於一有此需要的對象中治療癌症的方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個免疫檢查

點抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG30kD]具有式(IV)或式(V)之結構，或為式(IV)或式(V)結構之混合物：



式(IV)；

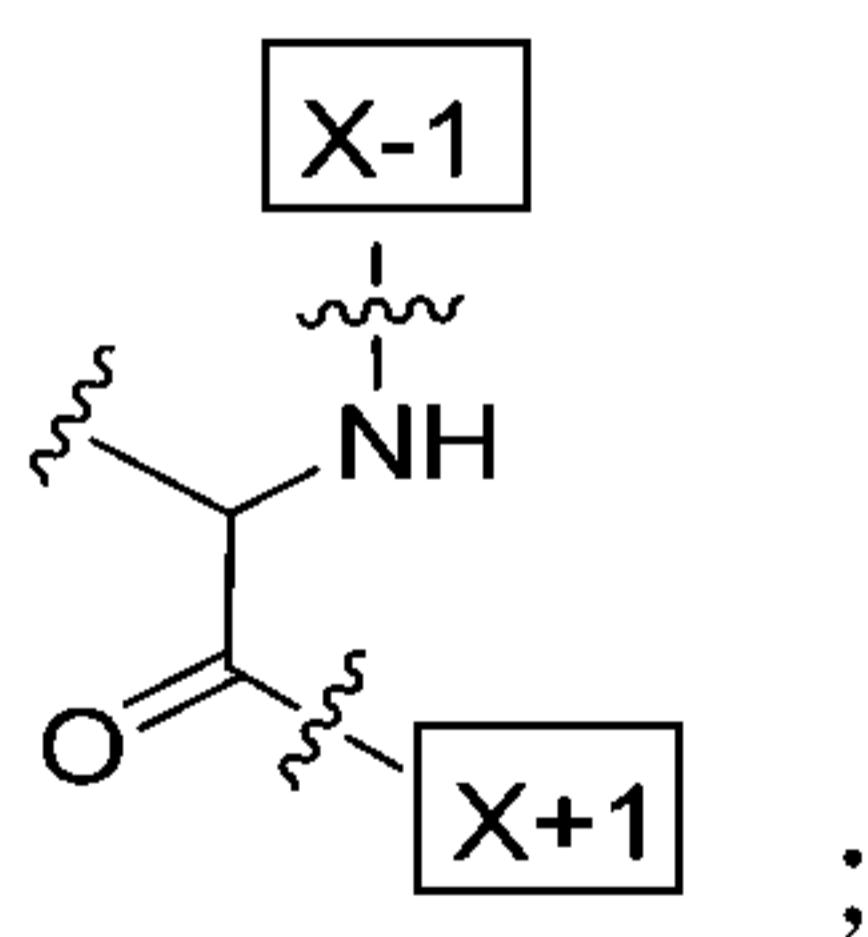


式(V)；

其中：

W 為具有選自下列平均分子量之 PEG 基團：5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa 及 60 kDa；

X 具有下列結構：



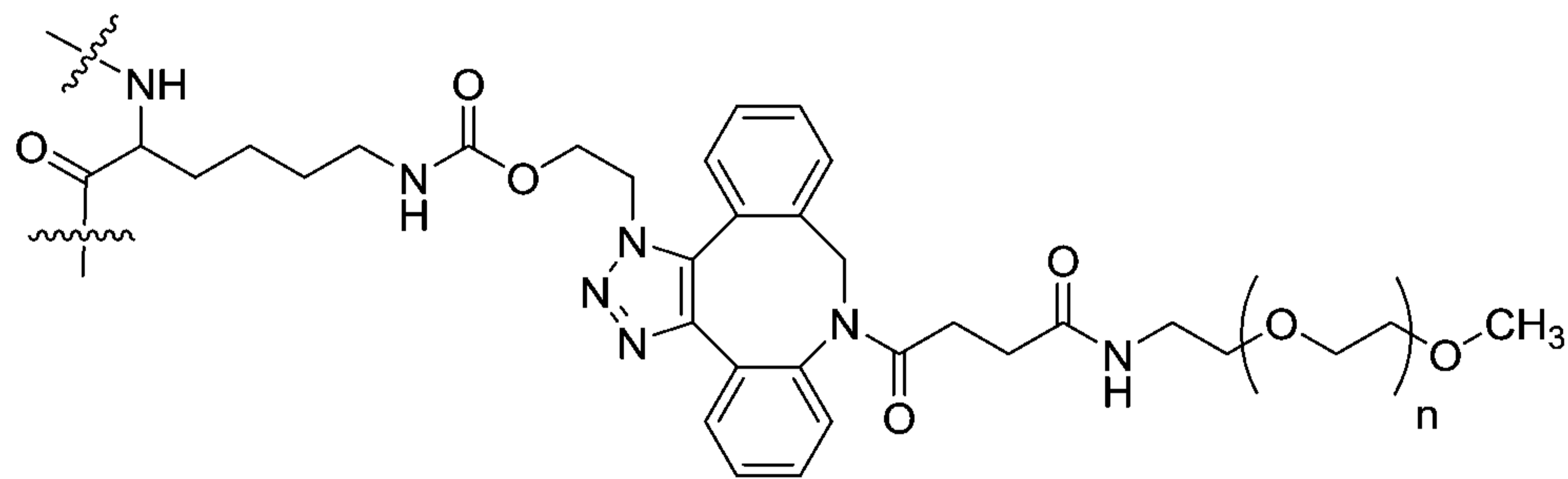
X-1 係指連接前面胺基酸殘基的點；及

X+1 係指連接後面胺基酸殘基的點。

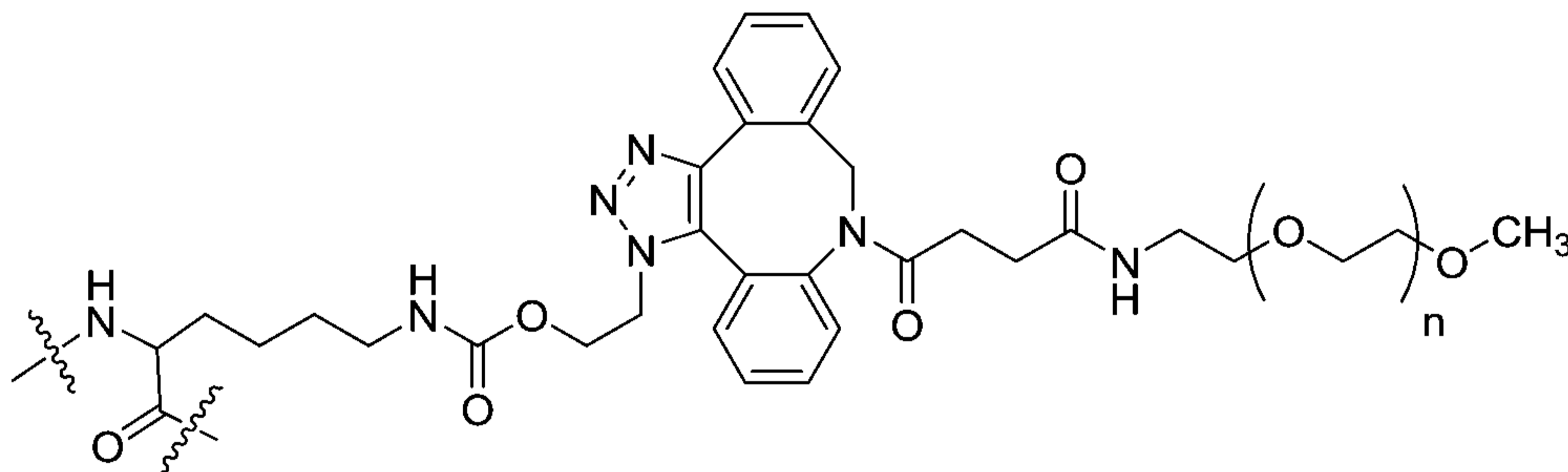
**【請求項18】** 根據請求項 17 之方法，其中 W 為具有選自 25 kDa、30 kDa 或 35 kDa 平均分子量之 PEG 基團。

**【請求項19】** 根據請求項 18 之方法，其中 W 為具有 30 kDa 平均分子量之 PEG 基團。

**【請求項20】** 一種於一有此需要的對象中治療癌症的方法，該方法係包括投予該對象一治療上有效量之(a)IL-2 接合物，及(b)一或多個免疫檢查點抑制劑，其中該 IL-2 接合物係包括 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列，其中[AzK\_L1\_PEG30kD]具有式(XII)或式(XIII)之結構，或為式(XII)和式(XIII)結構之混合物：



式(XII)；



(XIII)；

其中：

n 為一整數使得 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 具有約 30 kDa 之分子量；及  
波形線係指連接 SEQ ID NO：3 內未經置換的胺基酸殘基之共價鍵。

**【請求項21】** 根據請求項 1-20 中任一項之方法，其中該一或多個免疫檢查點抑制劑為一或多個 PD-1 抑制劑。

**【請求項22】** 根據請求項 21 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑係選自帕博利珠單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)及西普利單抗(cemiplimab)。



【請求項23】 根據請求項 22 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為帕博利珠單抗。

【請求項24】 根據請求項 22 之方法，其中該一或多個 PD-1 抑制劑為納武單抗。

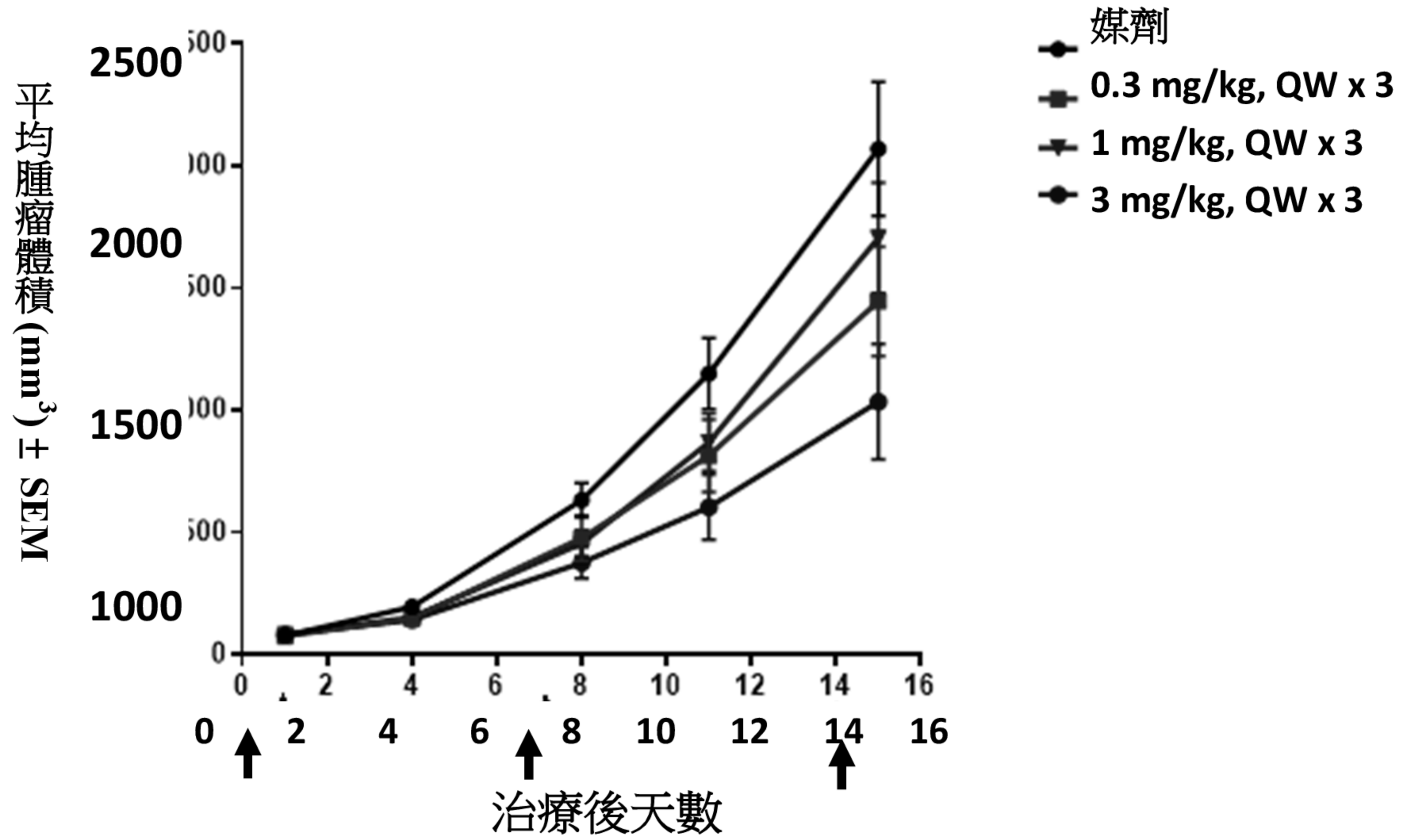
【請求項25】 根據請求項 1-24 中任一項之方法，其中該癌症係選自腎細胞癌(RCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)；頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、經典何杰金氏淋巴瘤(cHL)、原發性縱膈腔大 B 細胞淋巴瘤(PMBCL)、泌尿道上皮細胞癌、微小衛星體的不穩定性癌、微小衛星體的穩定性癌症、胃癌、大腸癌、大腸直腸癌(CRC)、子宮頸癌、肝細胞癌(HCC)、默克細胞癌(MCC)、黑色素瘤、小細胞肺癌(SCLC)、食道癌、食道鱗狀細胞癌(ESCC)、膠質母細胞瘤、間皮瘤、乳癌、三陰性乳癌、前列腺癌、去勢抗性前列腺癌、轉移性去勢抗性前列腺癌、或具有 DNA 損傷反應(DDR)缺陷之轉移性去勢抗性前列腺癌、膀胱癌、卵巢癌、中度至低度突變負荷之腫瘤、皮膚鱗狀細胞癌(CSCC)、鱗狀細胞皮膚癌(SCSC)、低至無表現 PD-L1 之腫瘤、在其原發解剖起源位置以外全身性傳播至肝臟及 CNS 之腫瘤及瀰漫性大 B-細胞淋巴瘤。

【請求項26】 根據請求項 1-25 中任一項之方法，其中該 IL-2 接合物係每週一次，每二週一次，每三週一次，每 4 週一次，每 5 週一次，每 6 週一次，每 7 週一次，或每 8 週一次投予該對象。

【請求項27】 根據請求項 1-26 中任一項之方法，其中該 IL-2 接合物係藉由靜脈內給藥投予對象。

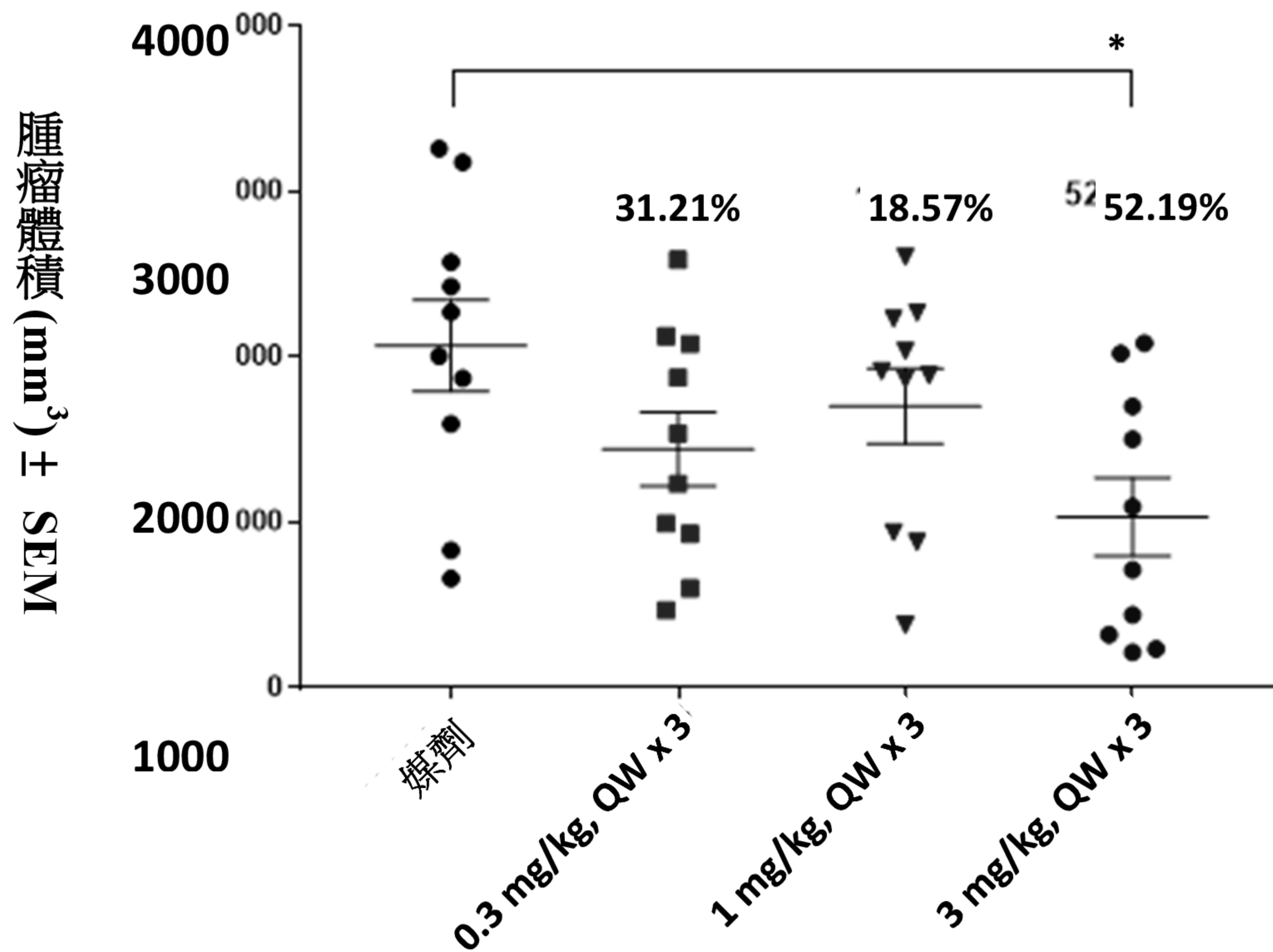
**【請求項28】** 根據請求項 1-27 中任一項之方法，其中該 IL-2 接合物為醫藥上可接受鹽、溶劑合物或水合物。

【發明圖式】

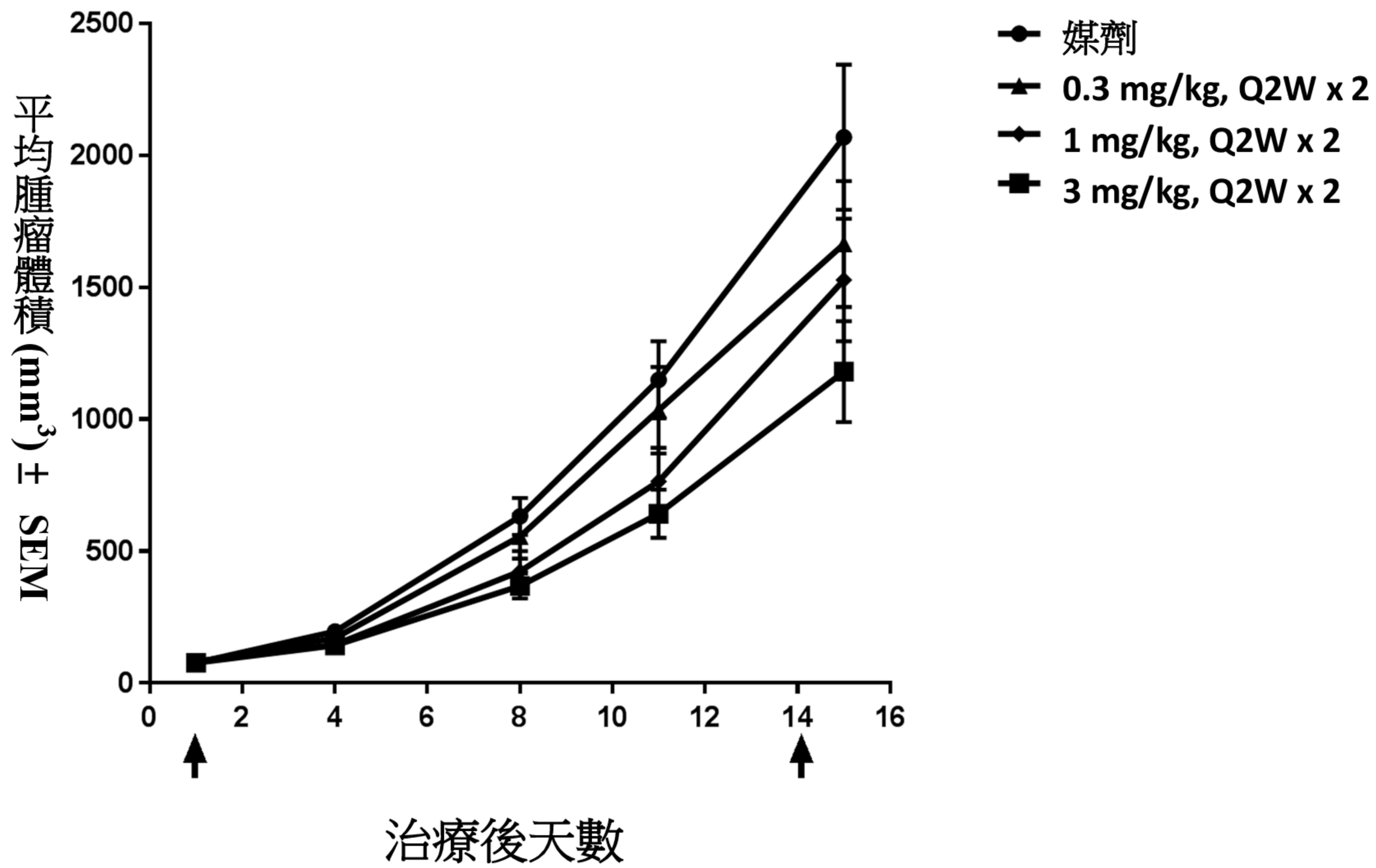


【圖1】

第 15 天之個別腫瘤體積

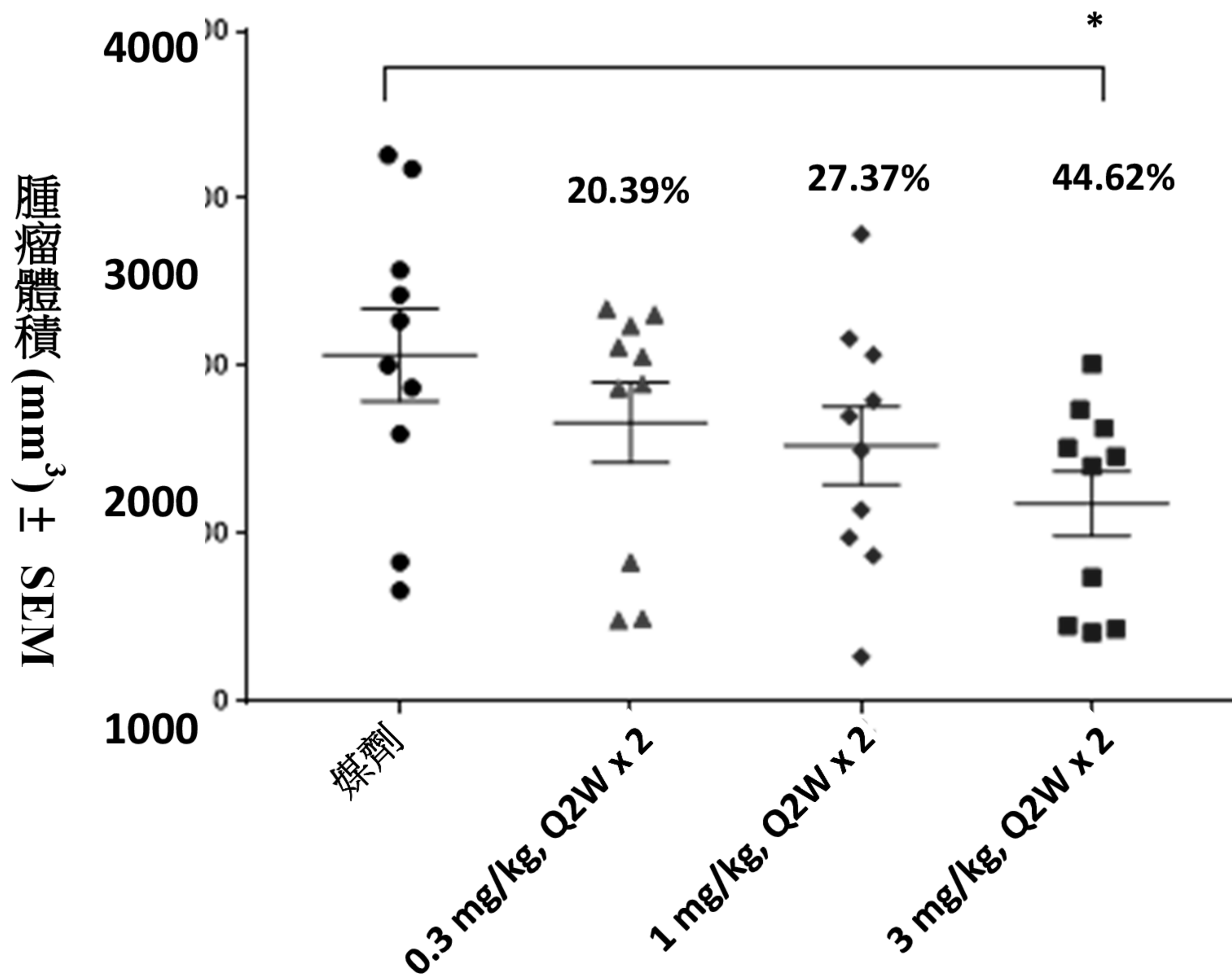


【圖2】

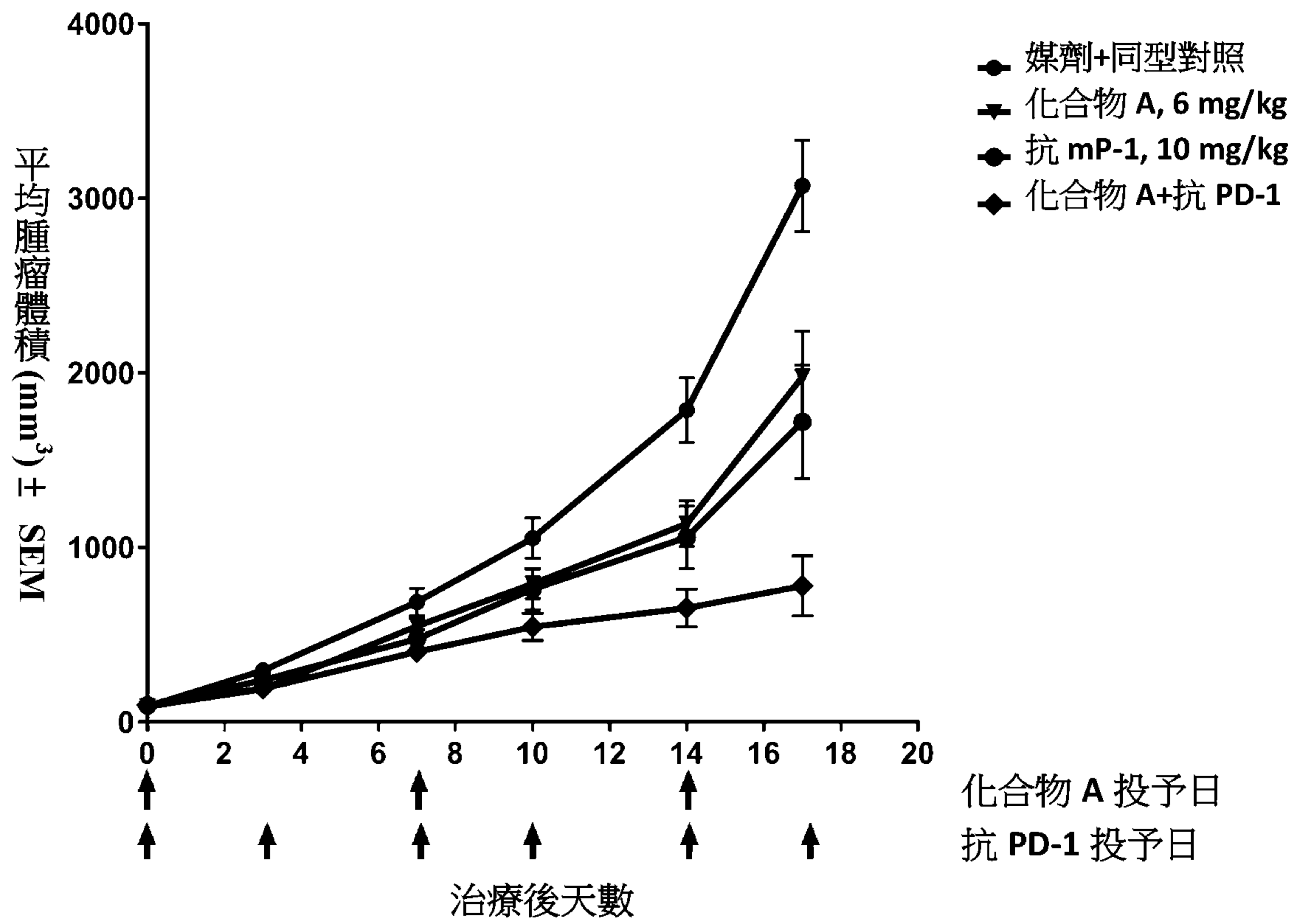


【圖3】

第 15 天之個別腫瘤體積

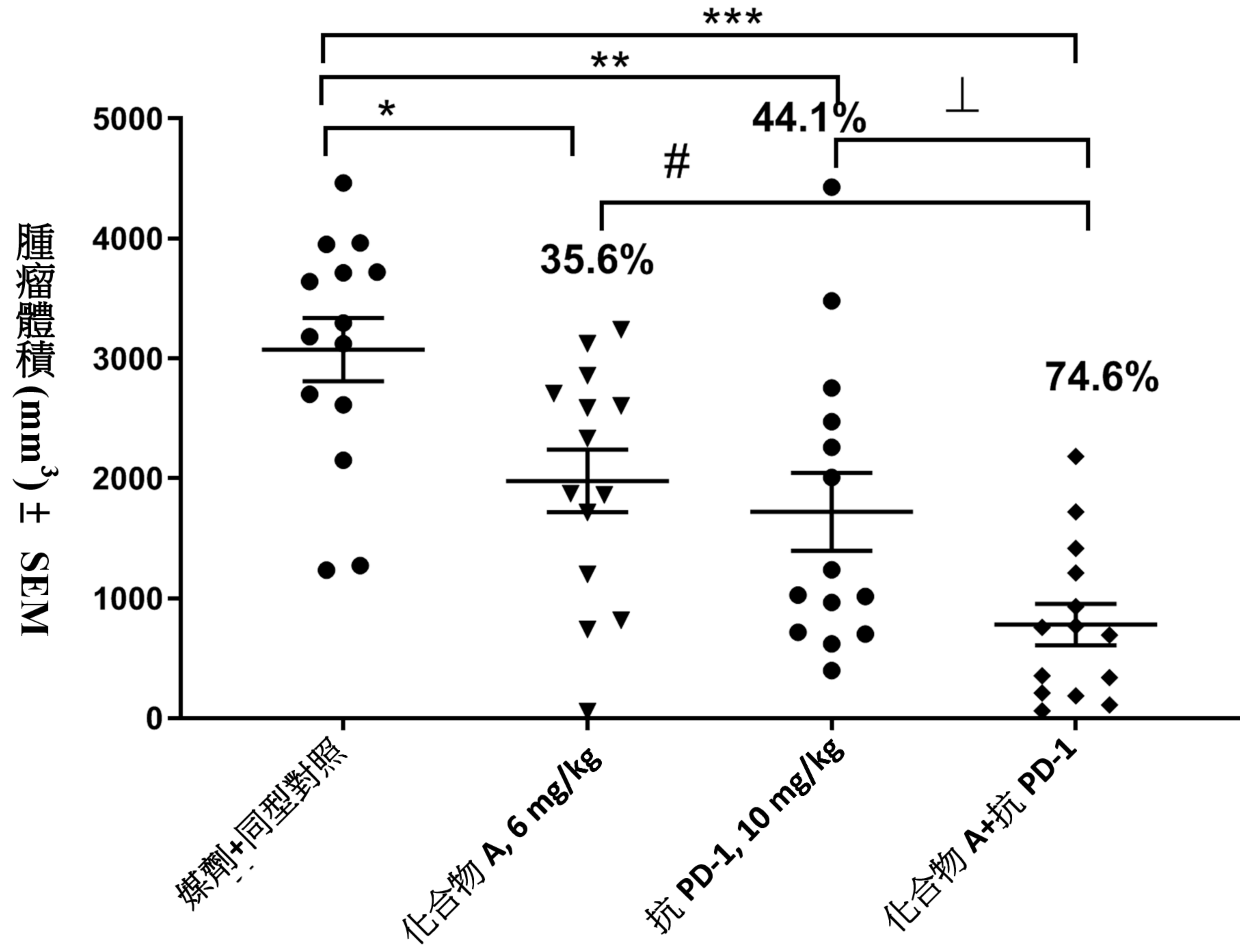


【圖4】

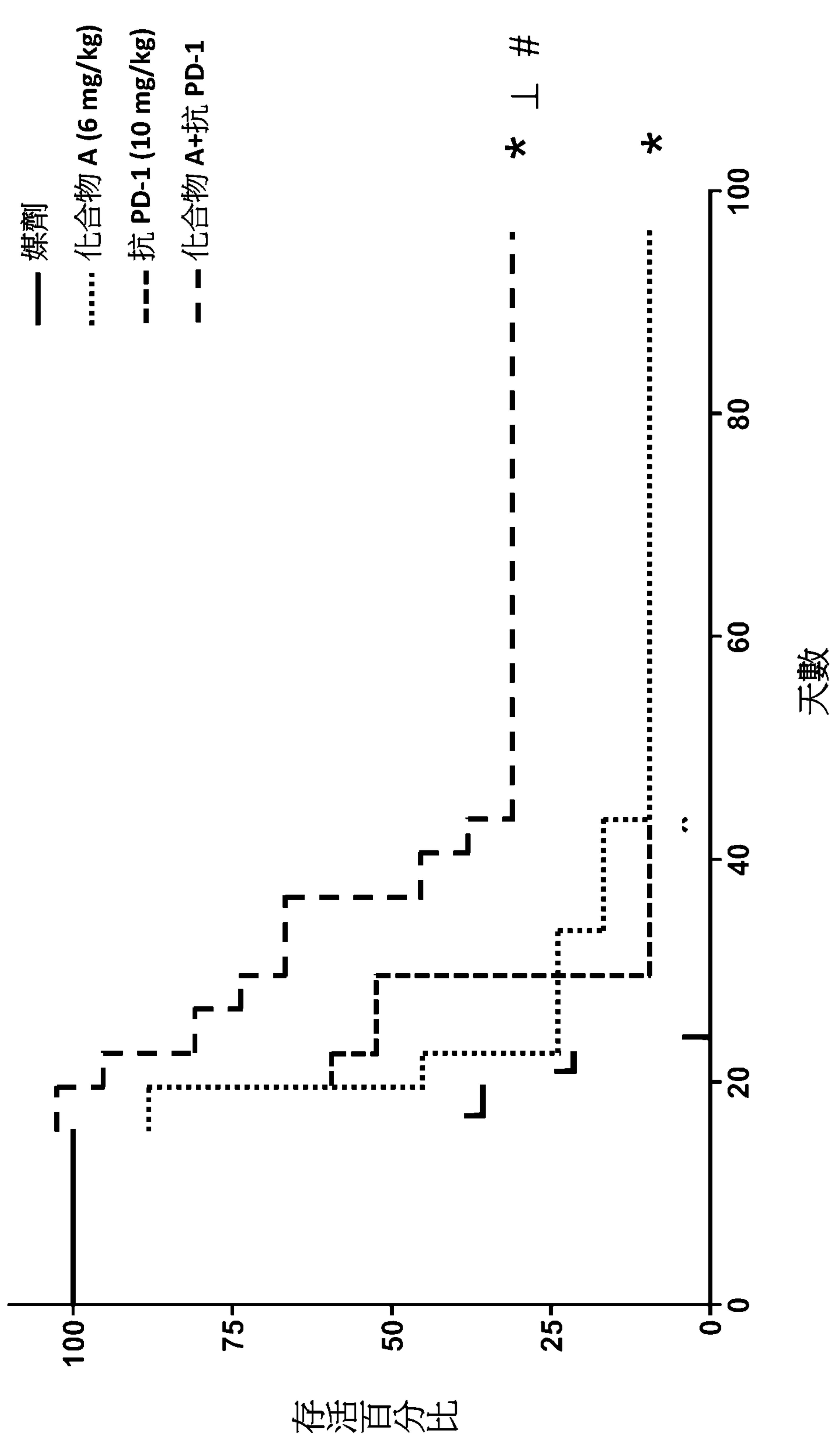


【圖5】

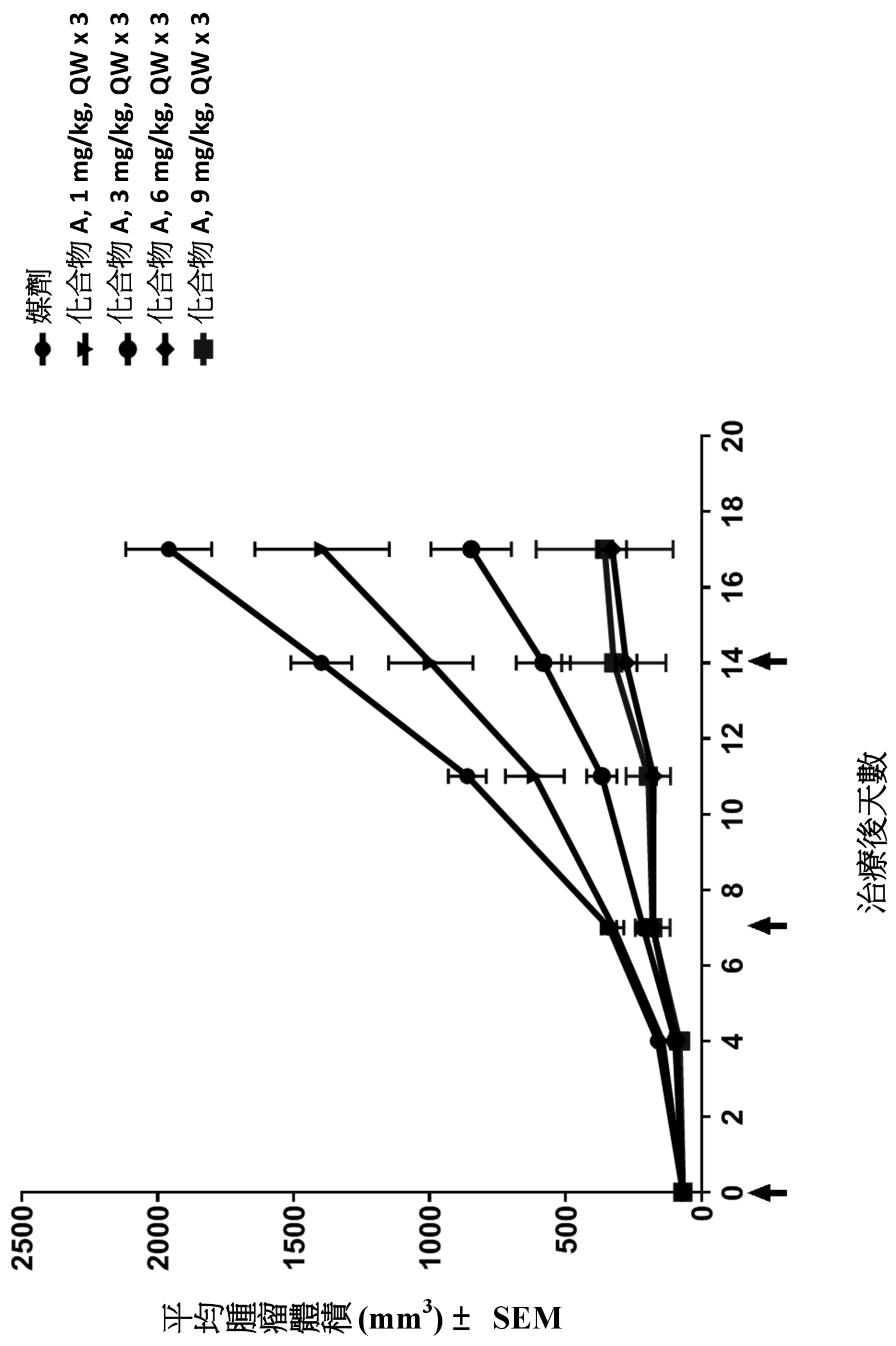
第 17 天之個別腫瘤體積



【圖6】



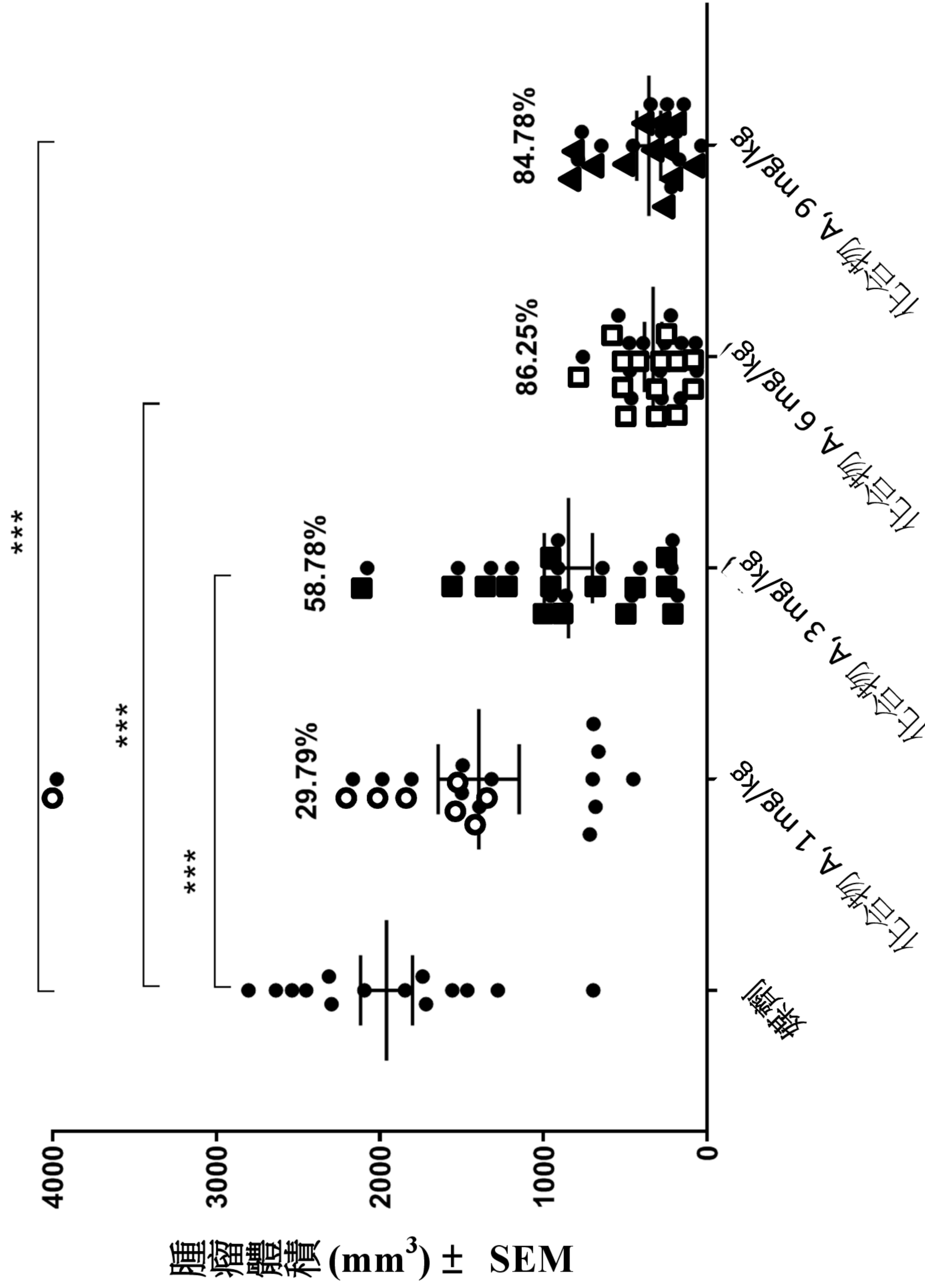
【圖7】



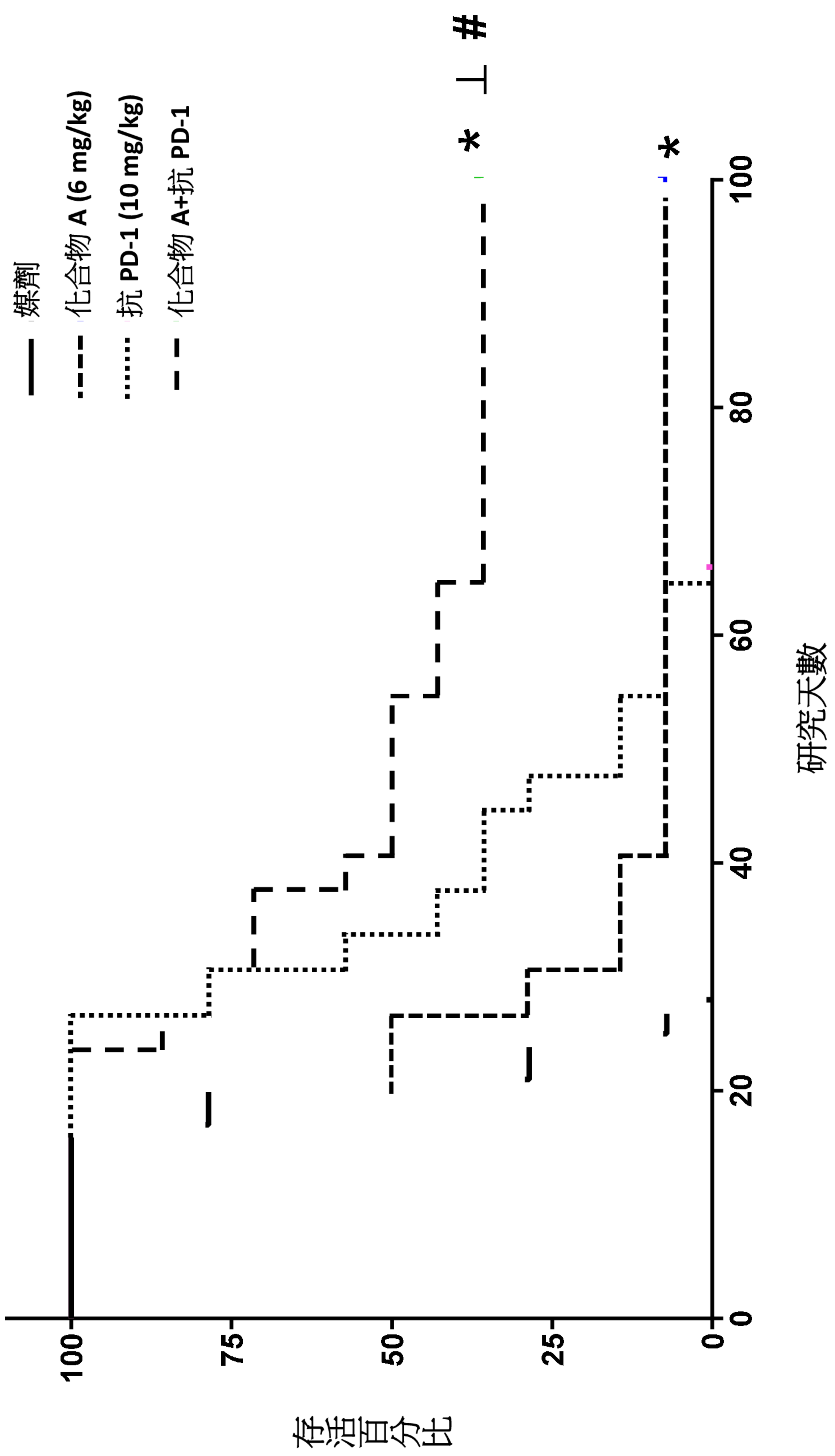
【圖8】



第 15 天之個別腫瘤體積

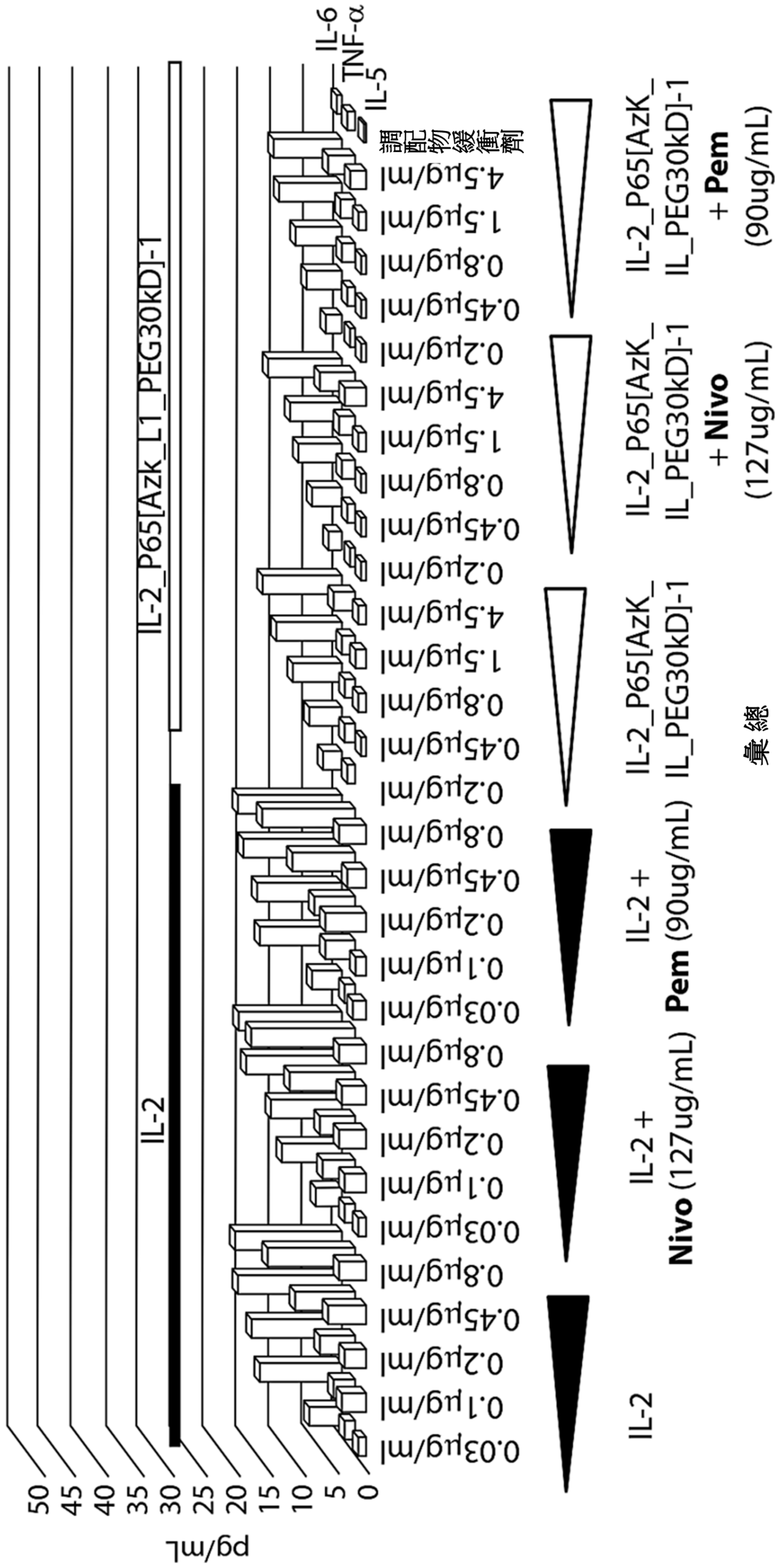


【圖9】



【圖10】





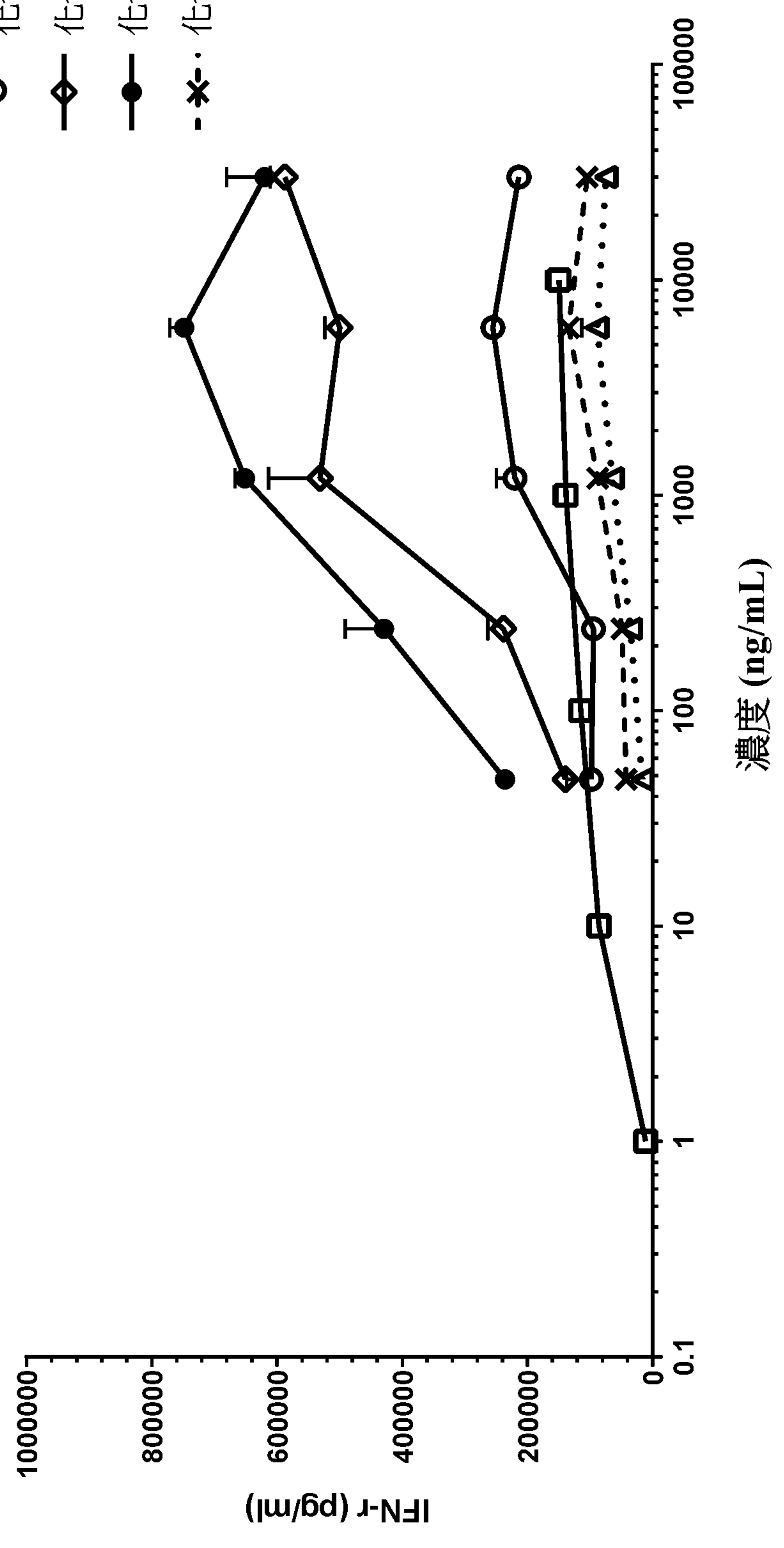
Nivo : 納武單抗  
 Pem : 帕博利珠單抗

【圖11B】

彙總

- 帕博利珠單抗
- △· 化合物 B
- 化合物 B+5 ng/ml 帕博利珠單抗
- ◇— 化合物 B+50 ng/ml 帕博利珠單抗
- 化合物 B+500 ng/ml 帕博利珠單抗
- 化合物 B+500 ng/ml IgG4

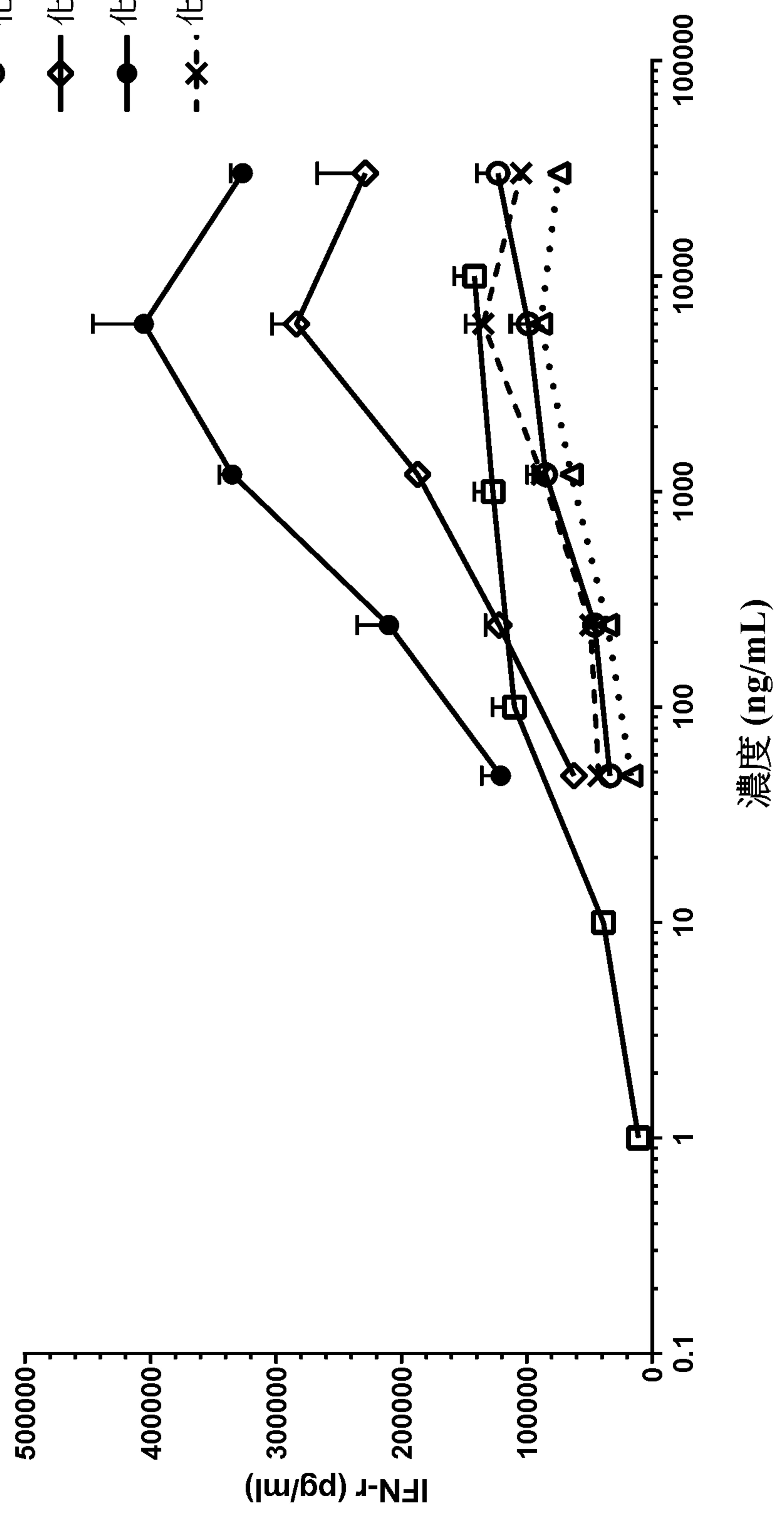
化合物 B+帕博利珠單抗



【圖12】

- 納武單抗
- △·· 化合物 B
- 化合物 B+5 ng/ml 納武單抗
- ◇— 化合物 B+50 ng/ml 納武單抗
- 化合物 B+500 ng/ml 納武單抗
- - \* - - 化合物 B+500 ng/ml IgG4

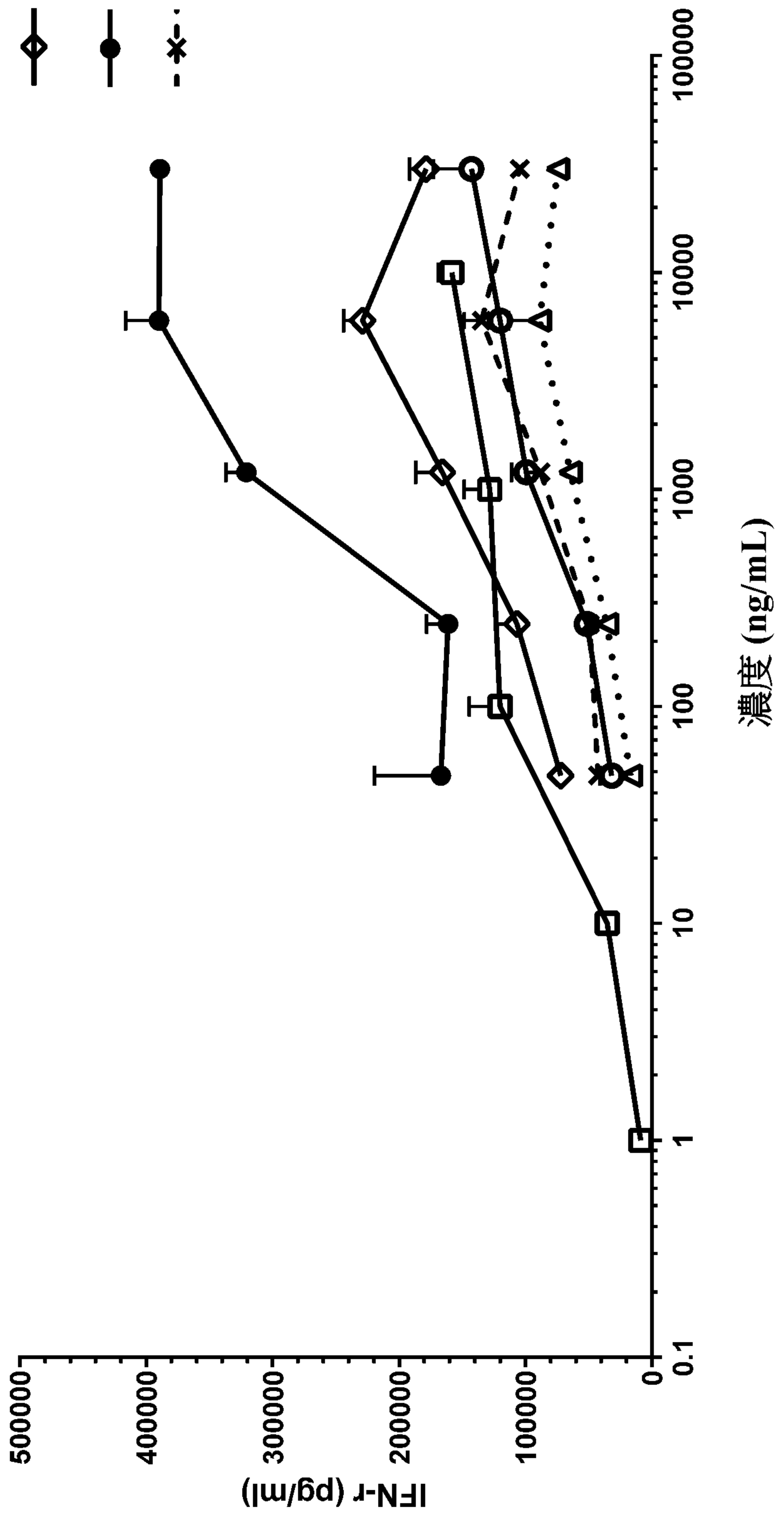
化合物 B+納武單抗



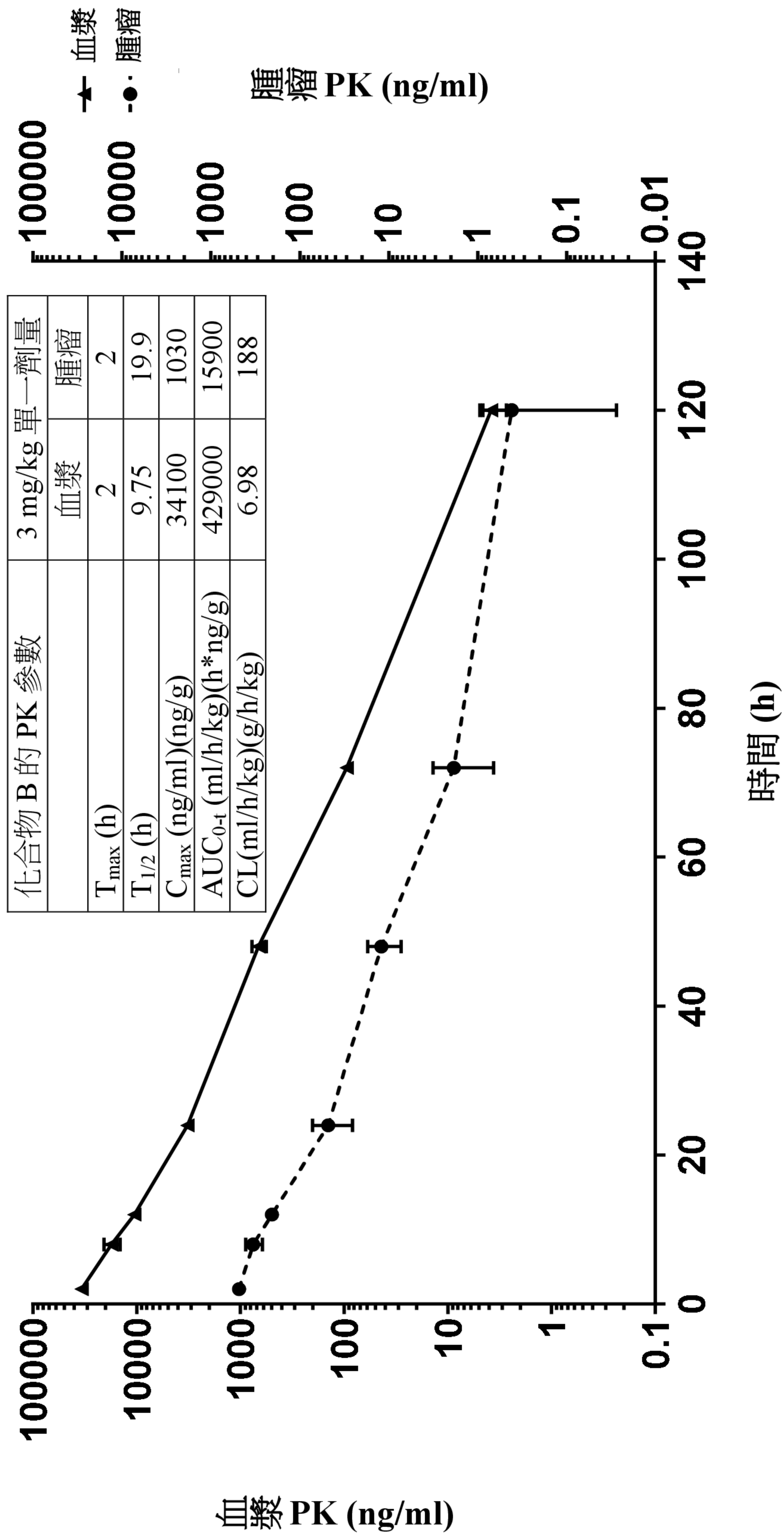
【圖13】

- 納武單抗
- △· 化合物 B
- 化合物 B+5 ng/ml 納武單抗
- ◇— 化合物 B+50 ng/ml 納武單抗
- 化合物 B+500 ng/ml 納武單抗
- - \* - - 化合物 B+500 ng/ml IgG4

化合物 B+納武單抗

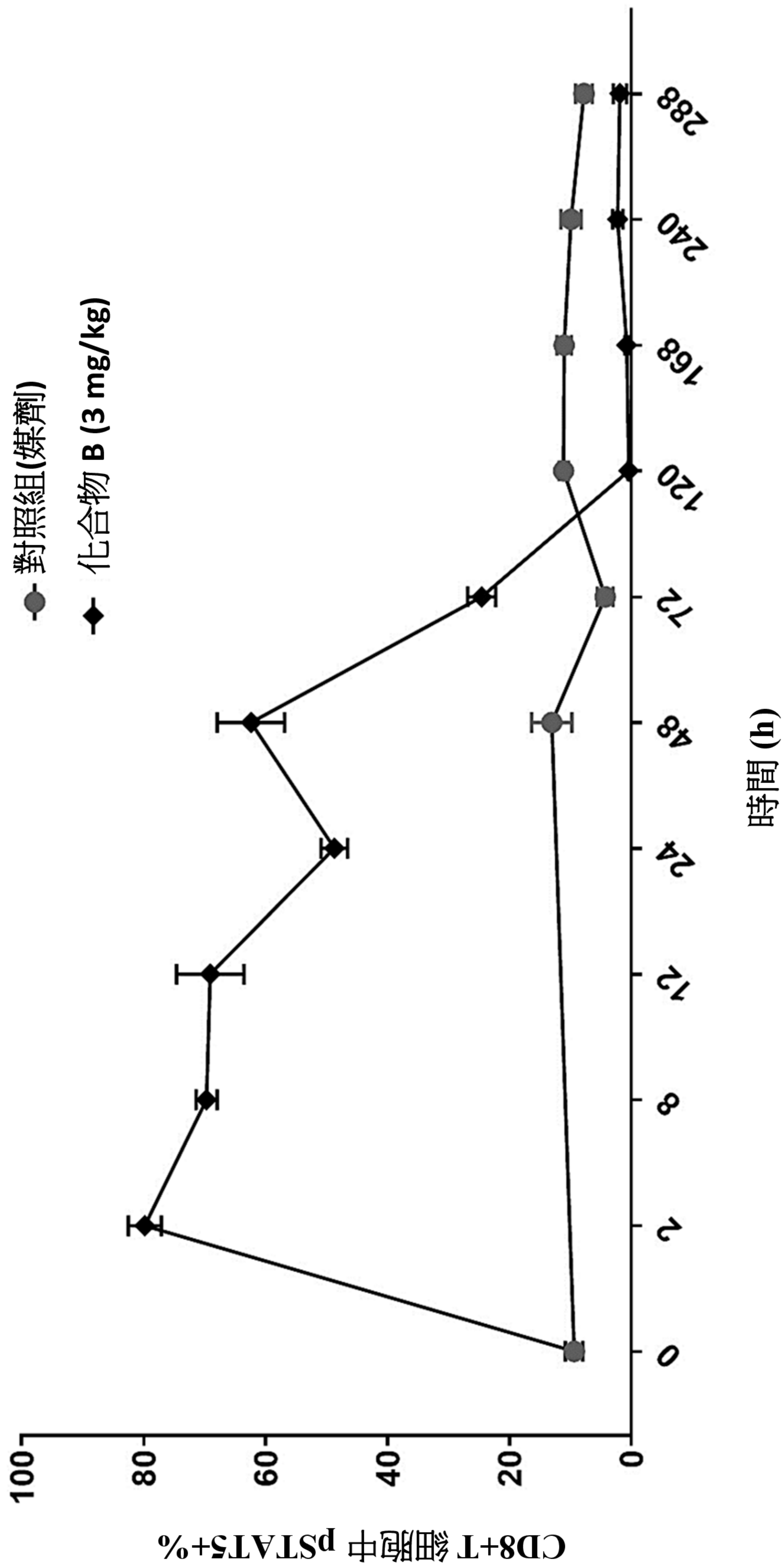


【圖14】

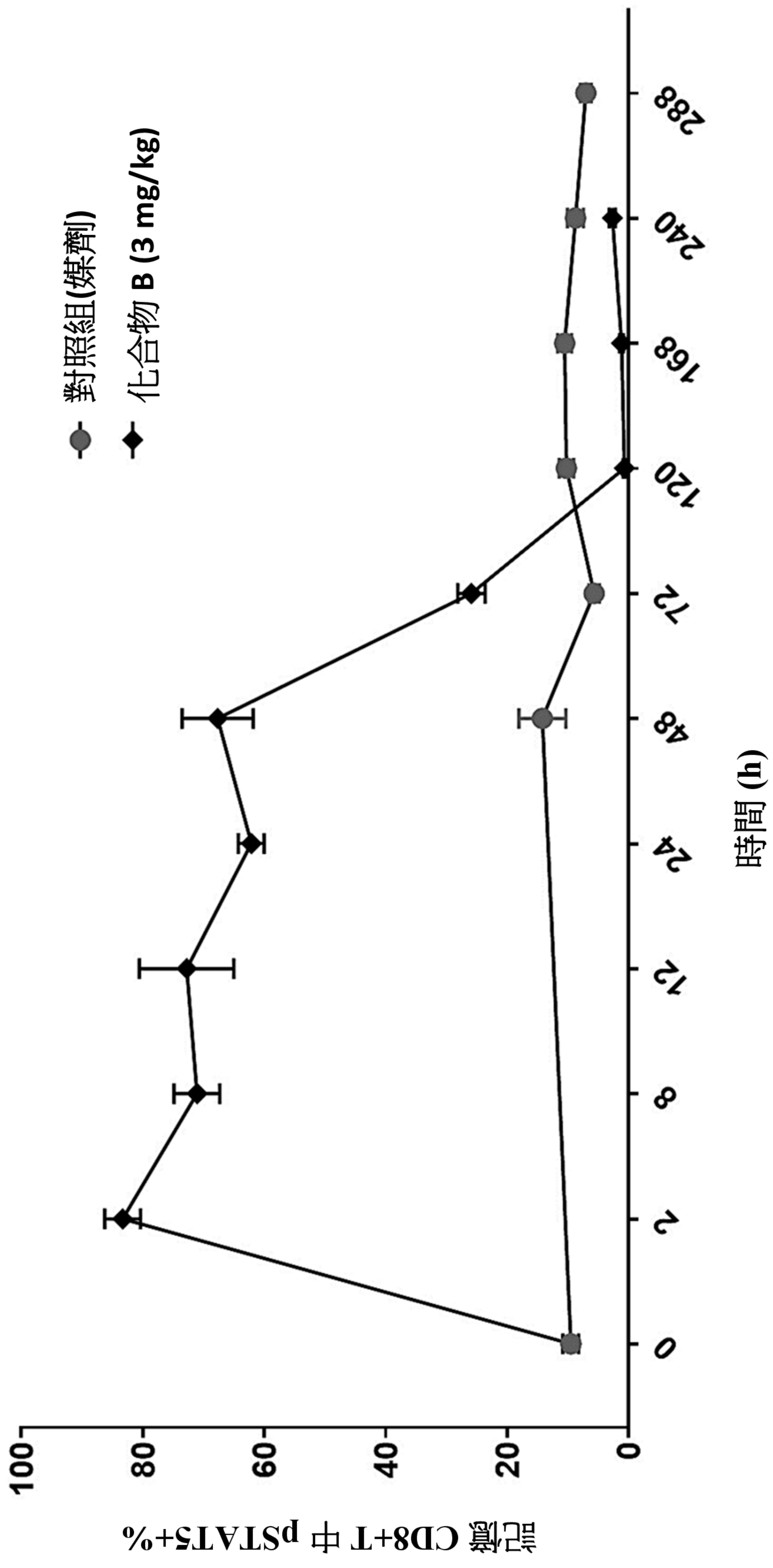


【圖15】

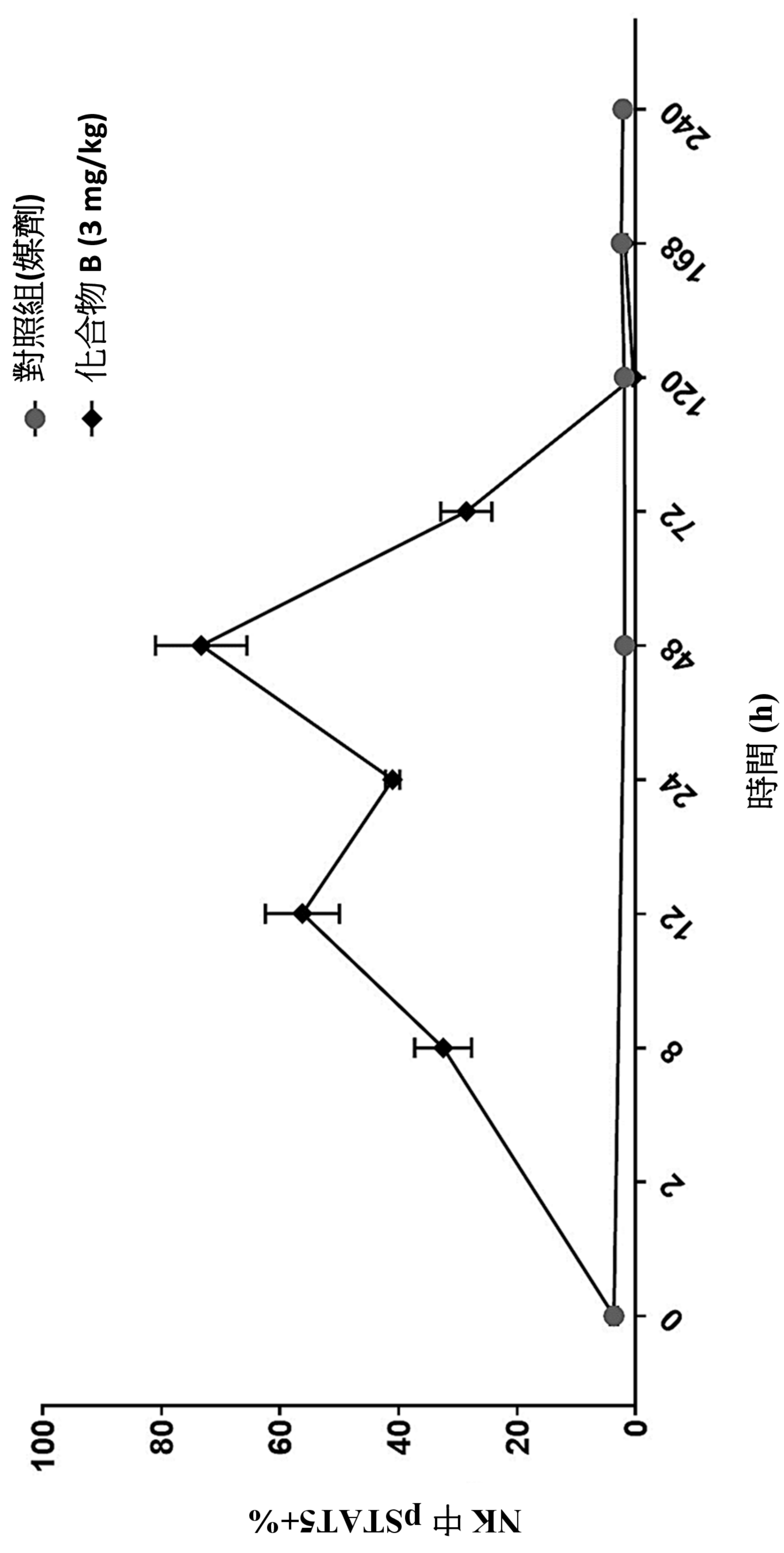




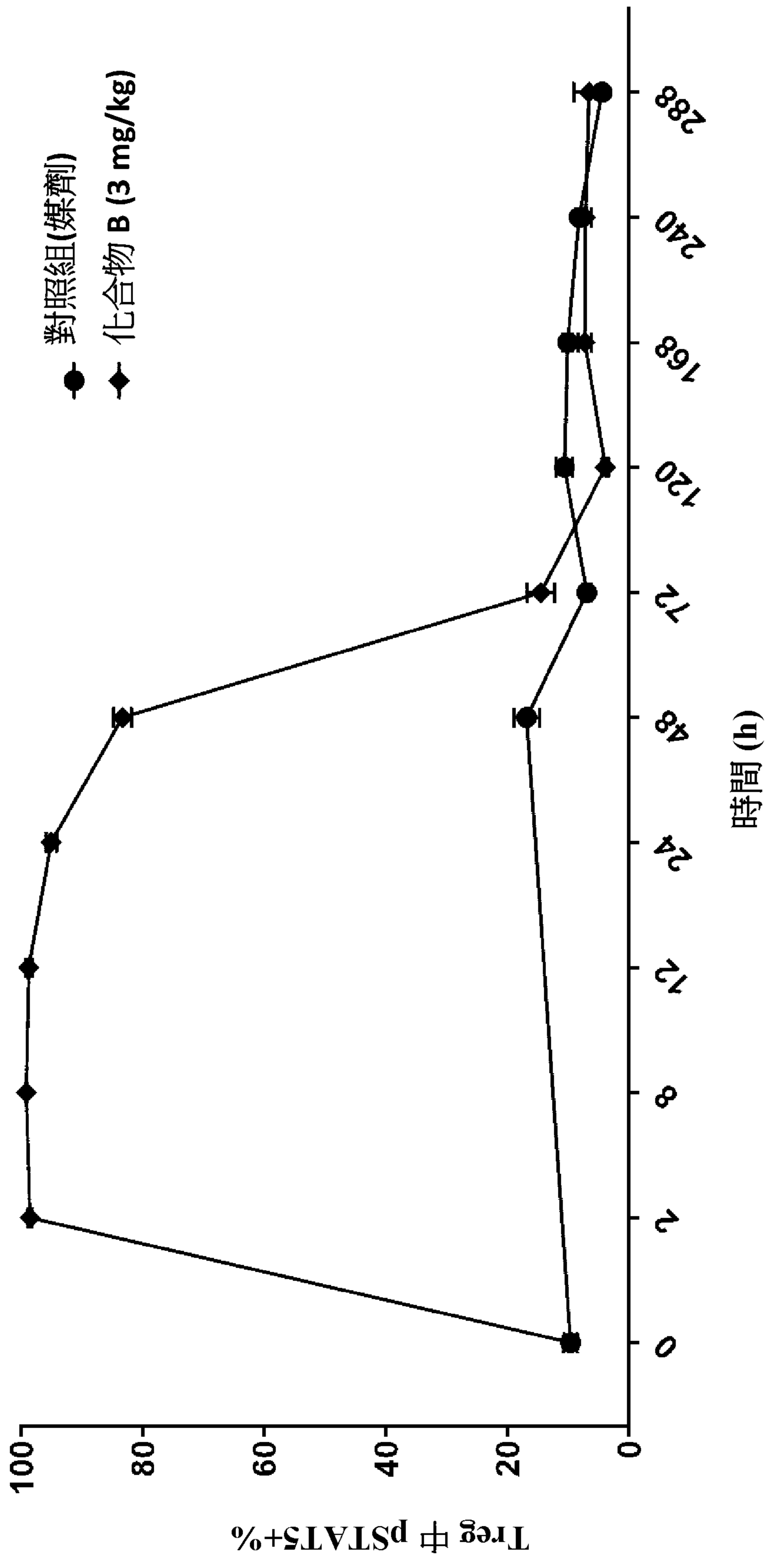
【圖16A】



【圖16B】



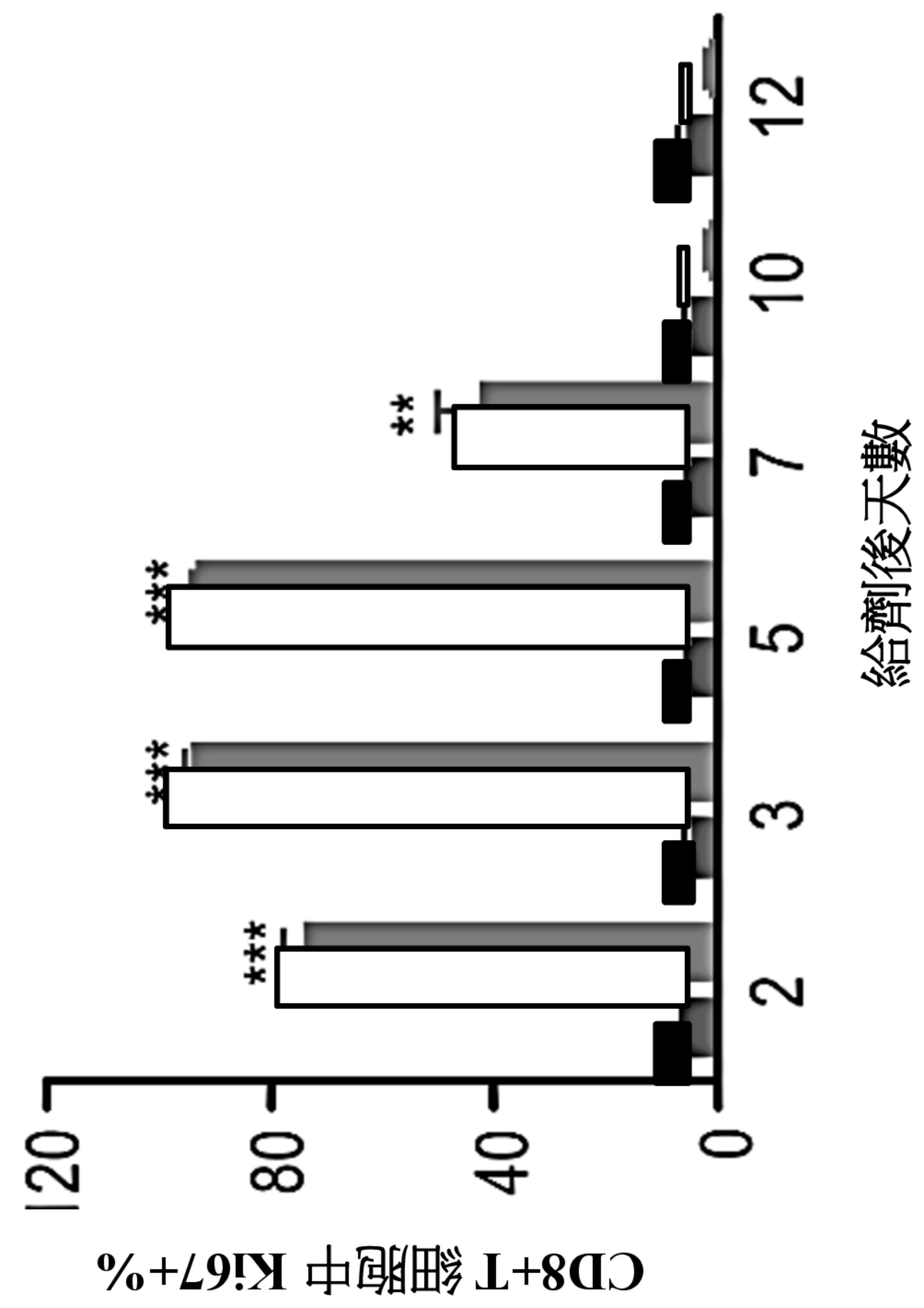
【圖16C】



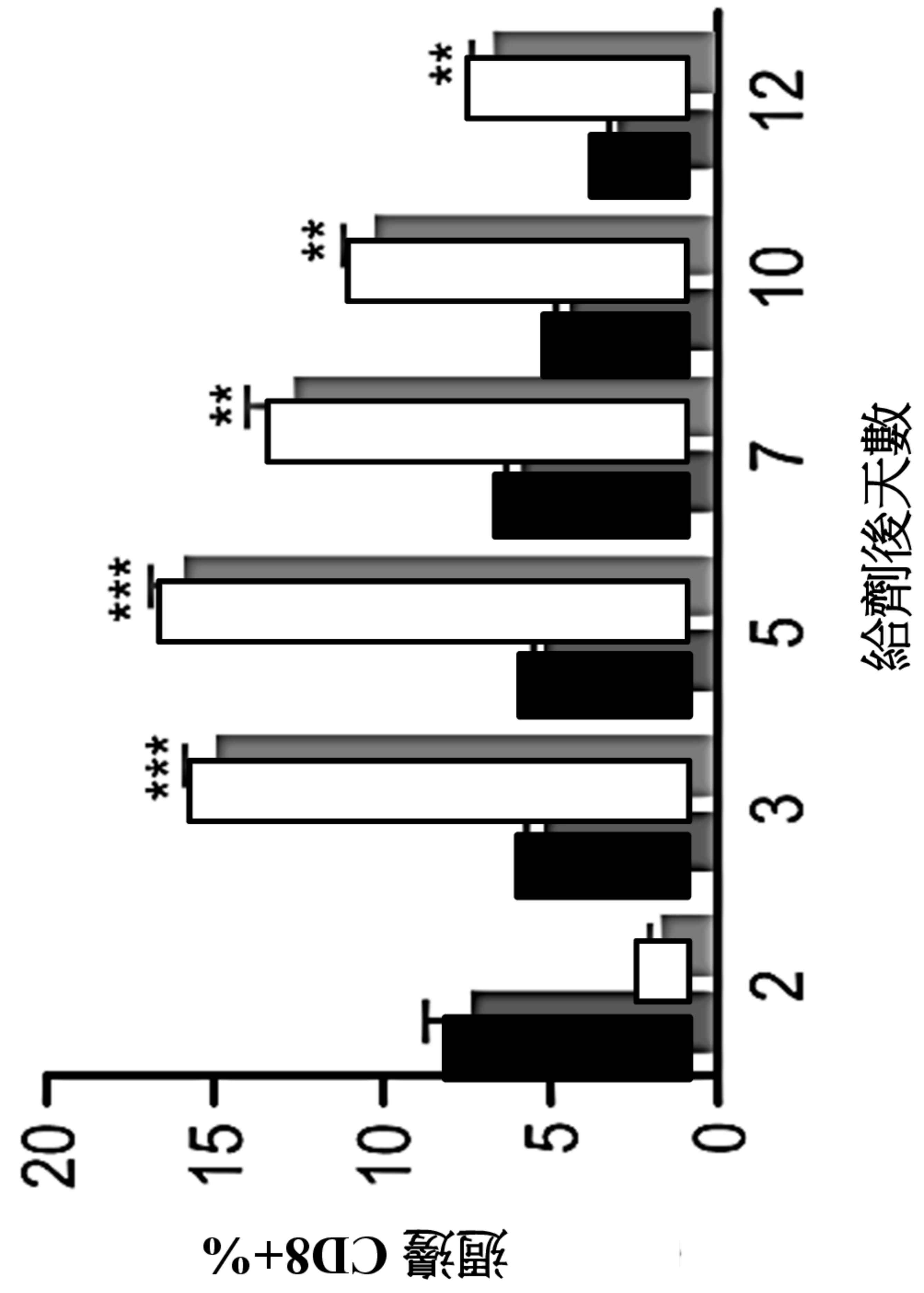
【圖16D】

對照組(媒劑)
  化合物 B (3 mg/kg)

### 週邊 CD8 + T 細胞 Ki67 表現及增生



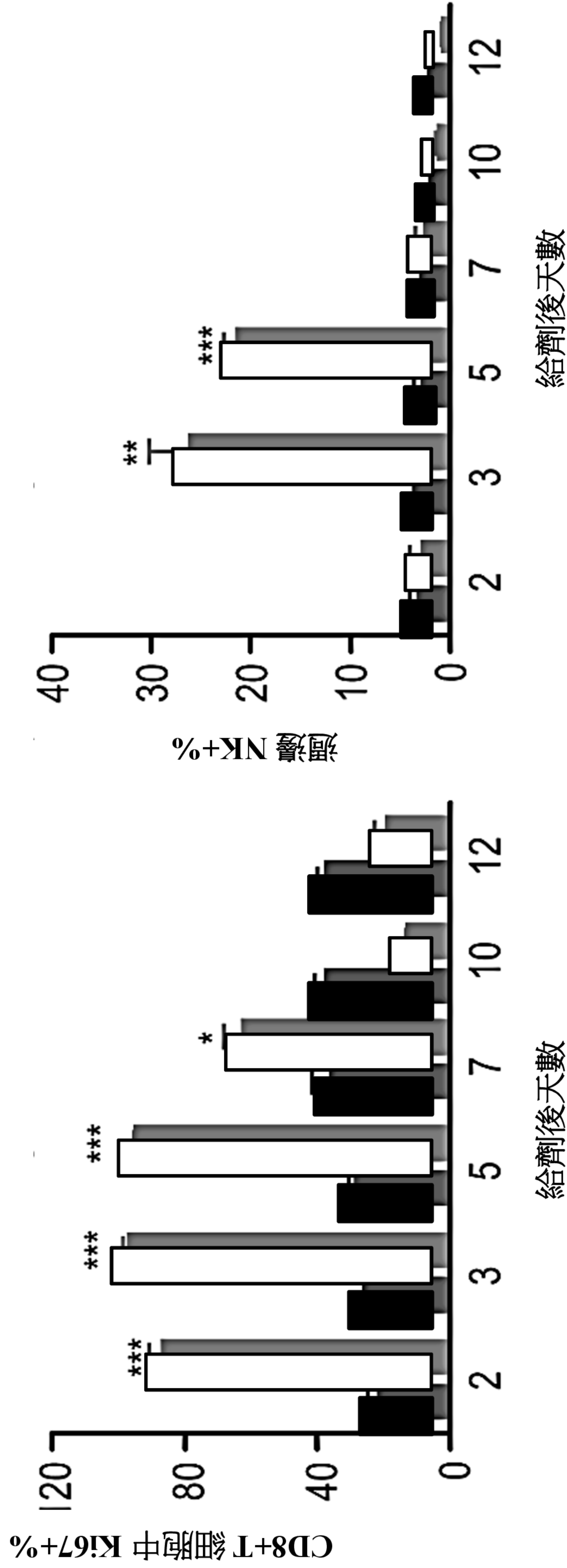
【圖17A】



【圖17B】

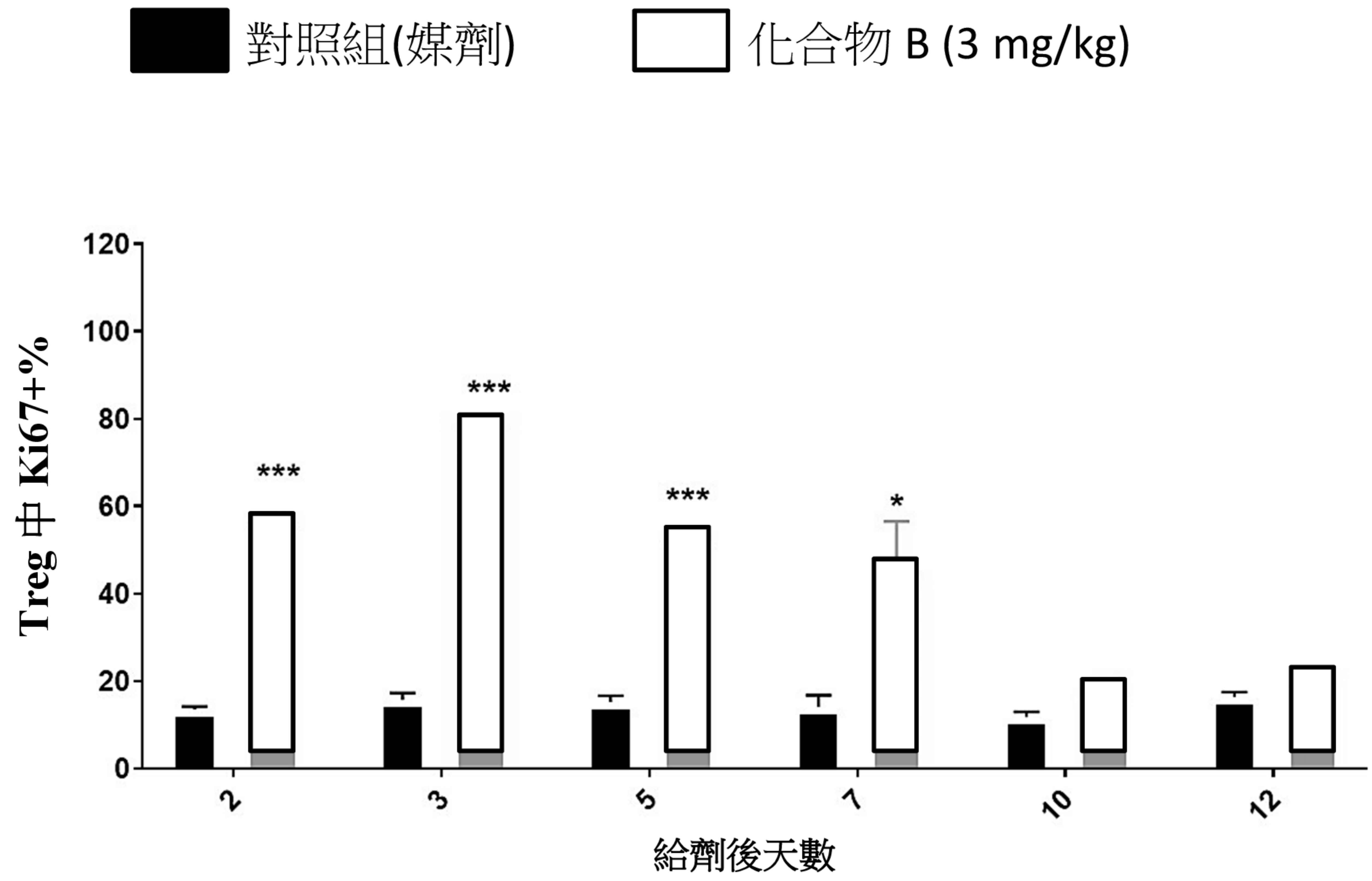
對照組(媒劑)
  化合物 B (3 mg/kg)

### 週邊 NK 細胞 Ki67 表現和增生

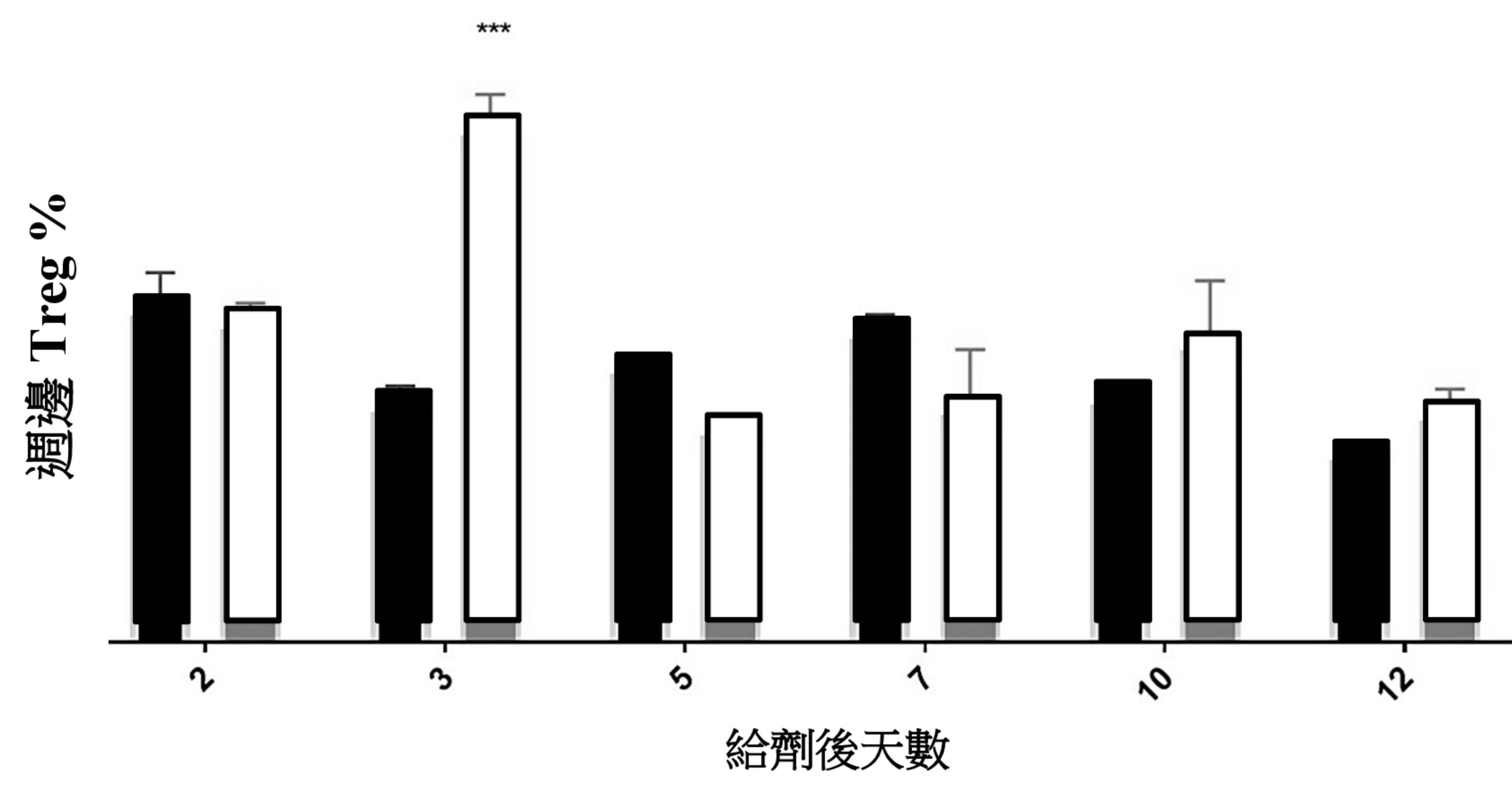


【圖17C】

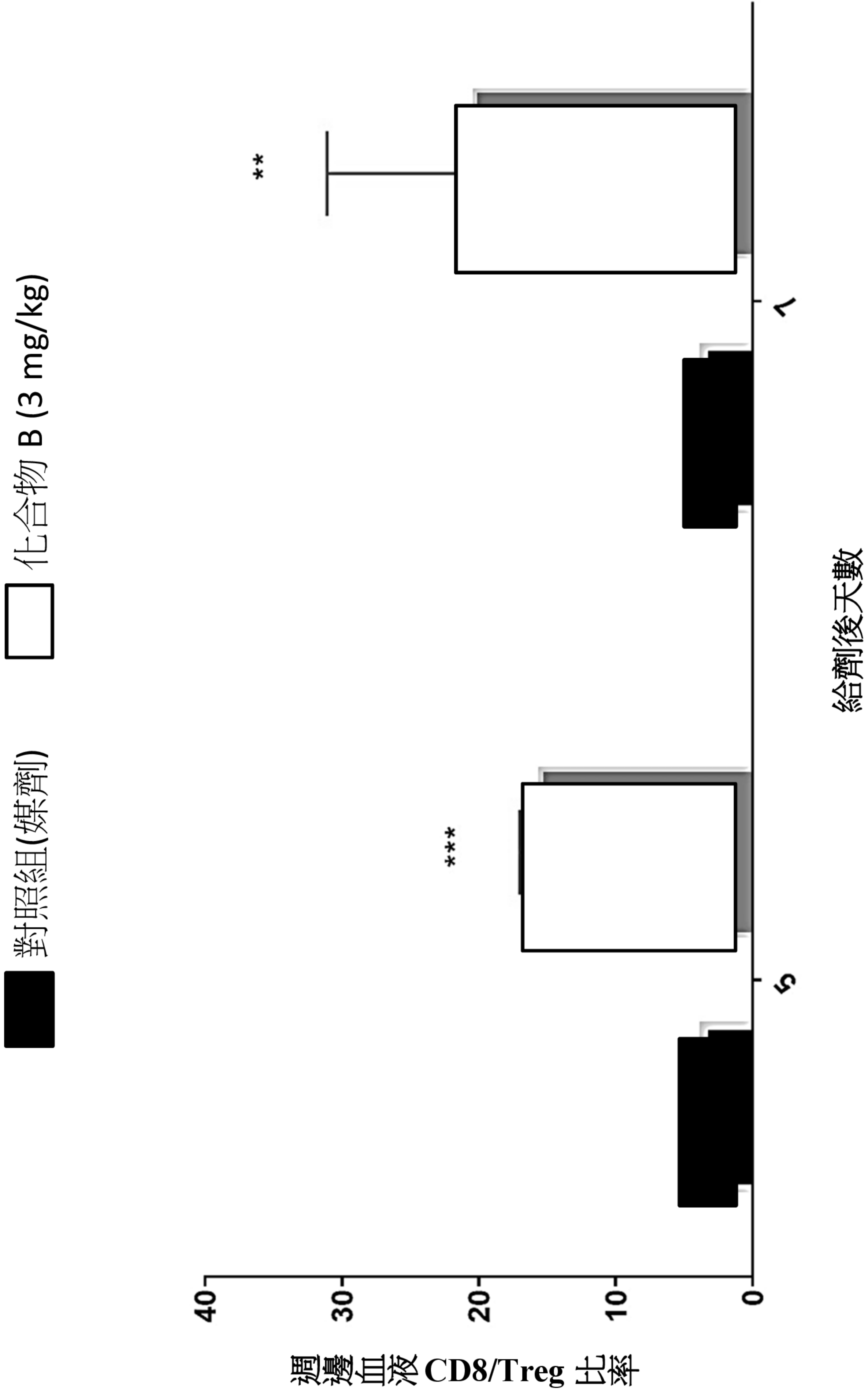
【圖17D】



【圖 17E】



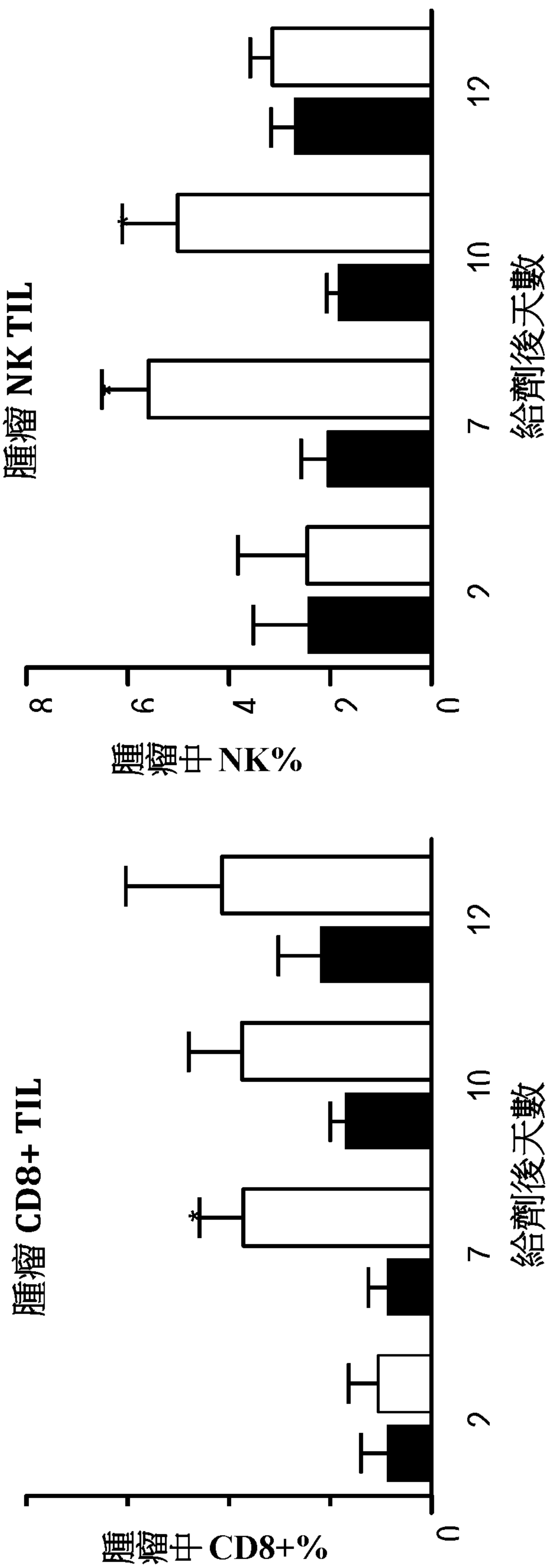
【圖 17F】



【圖 17G】

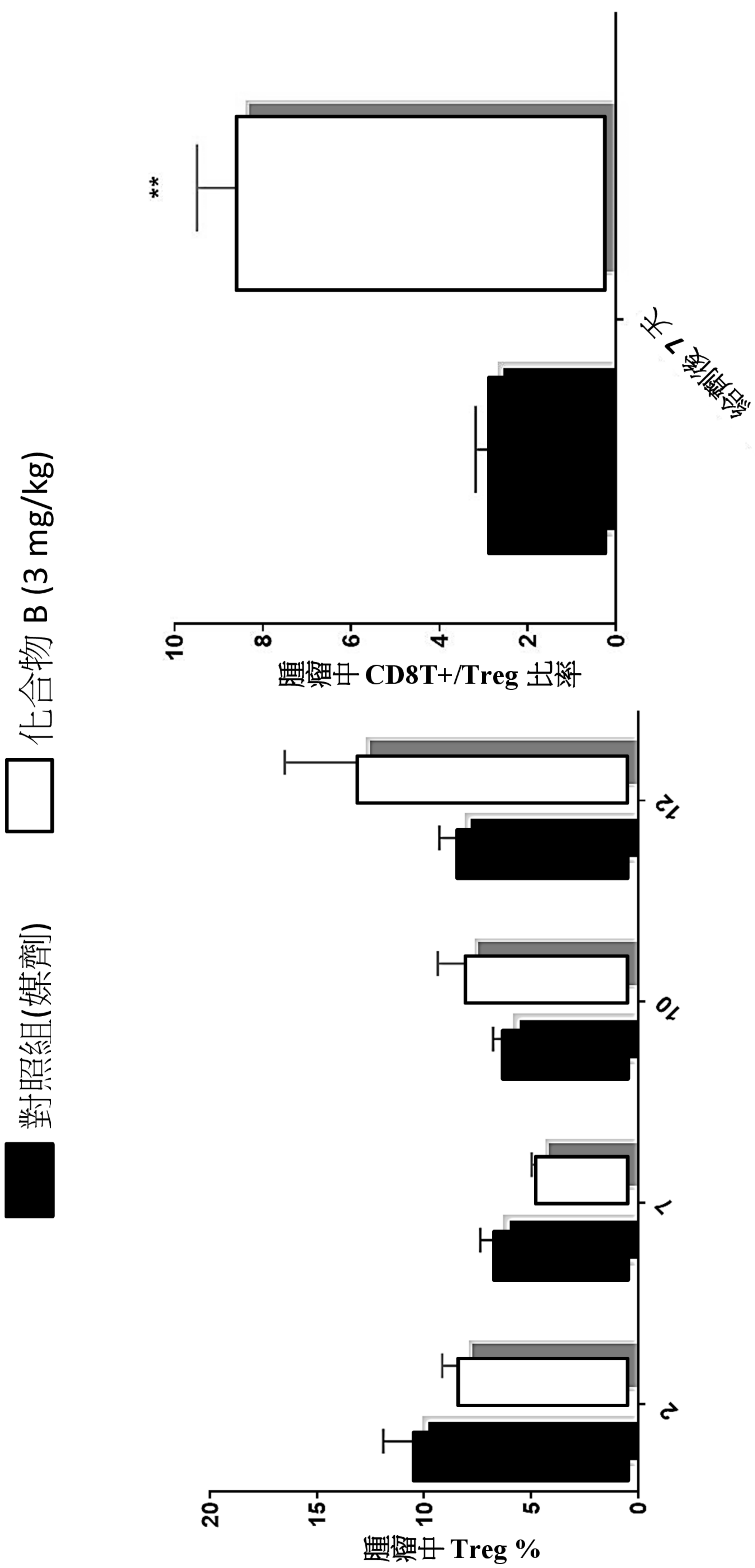


對照組(媒劑)
  化合物 B (3 mg/kg)



【圖18B】

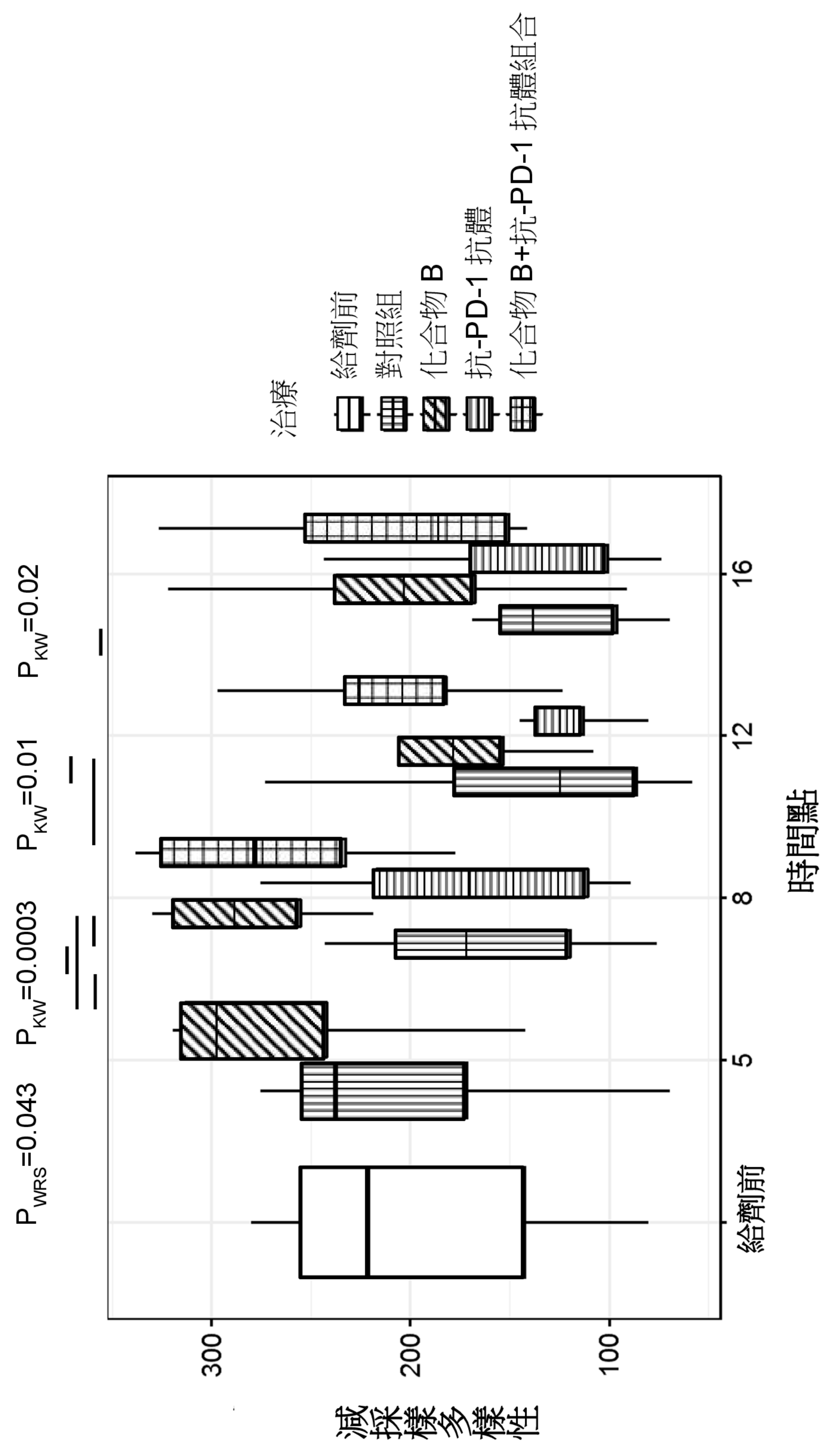
【圖18A】



給劑後天數

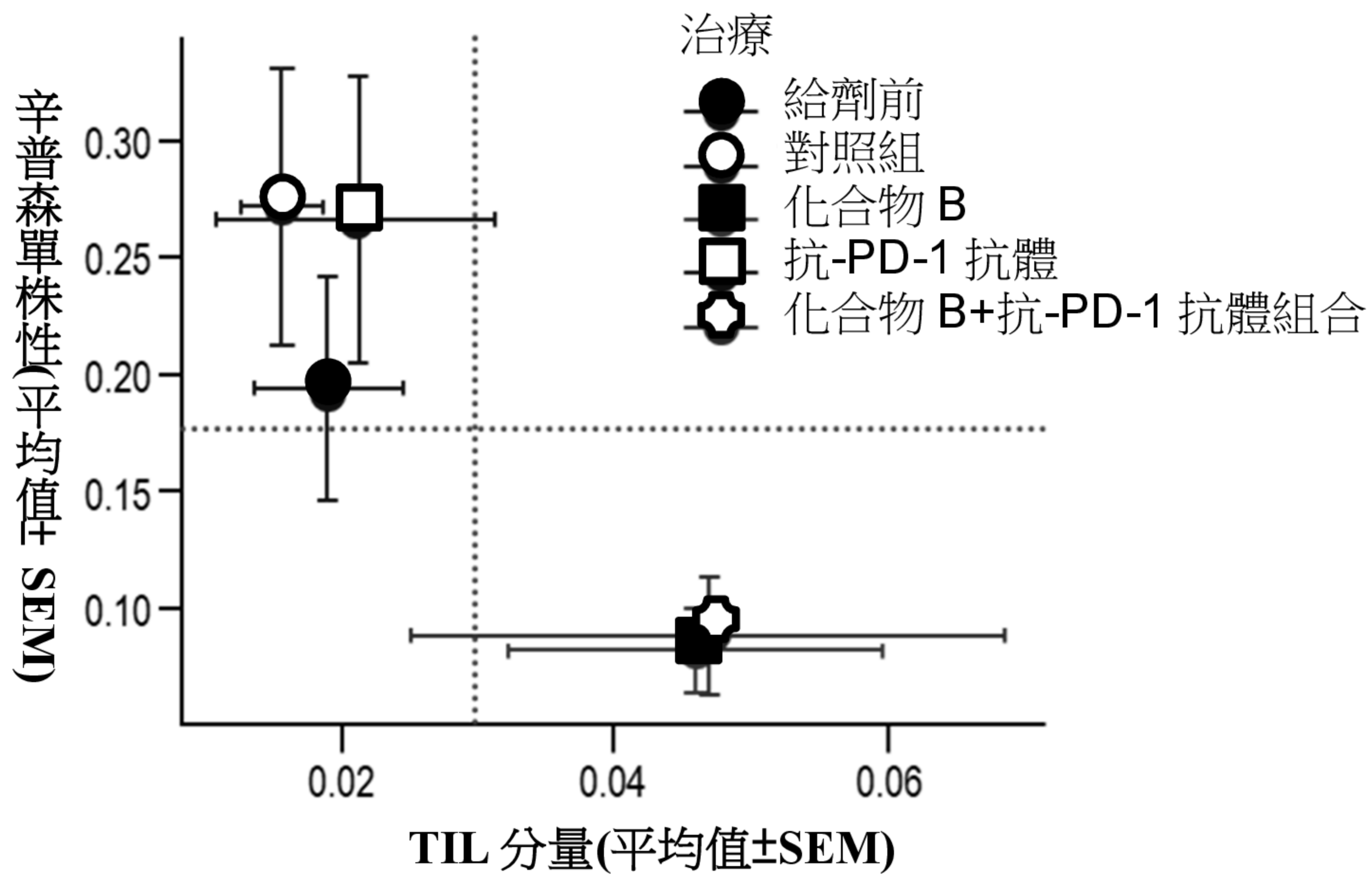
【圖18D】

【圖18C】



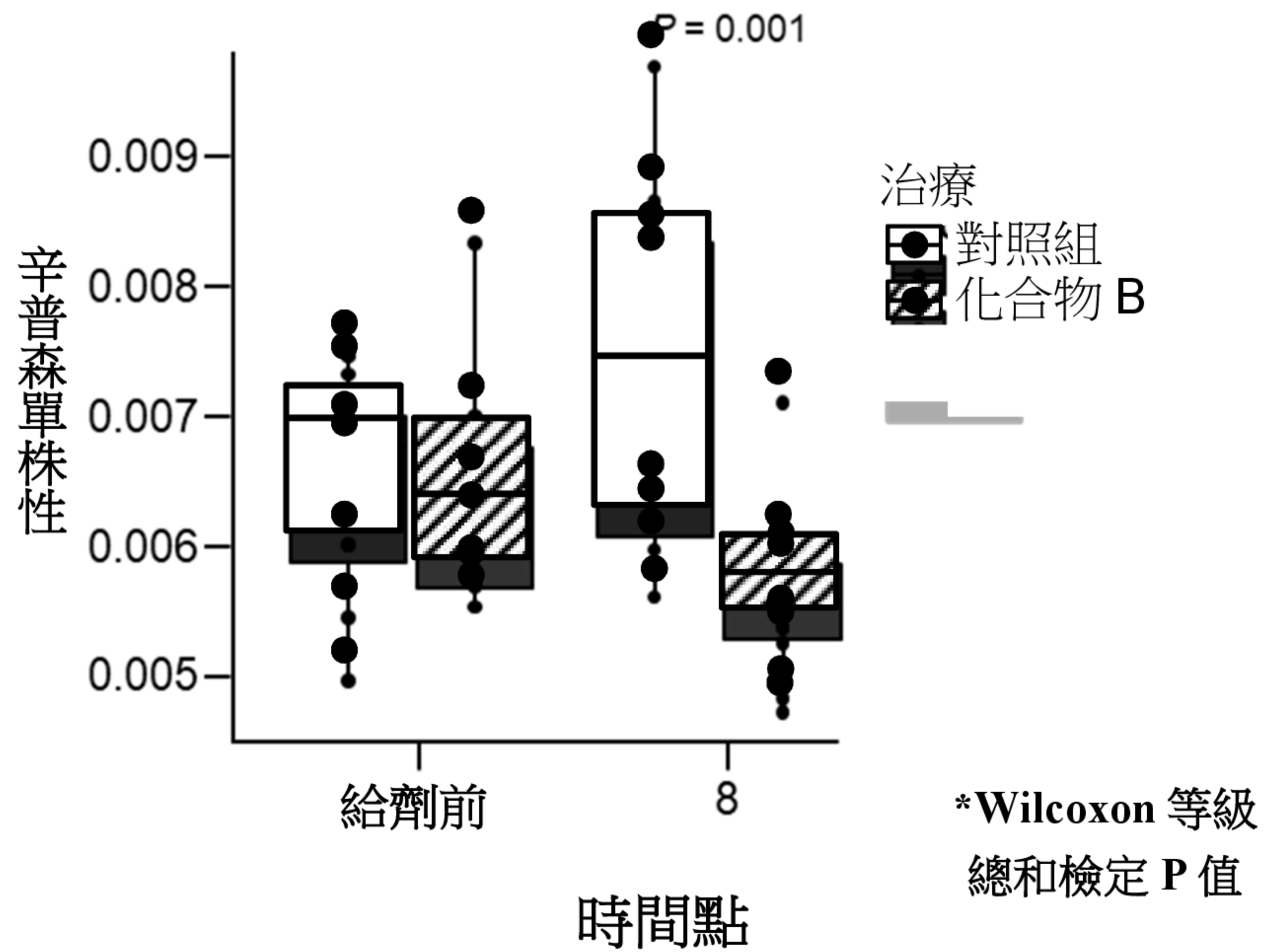
【圖19】

### 第 8 天 TIL 單株性對 T 細胞分量

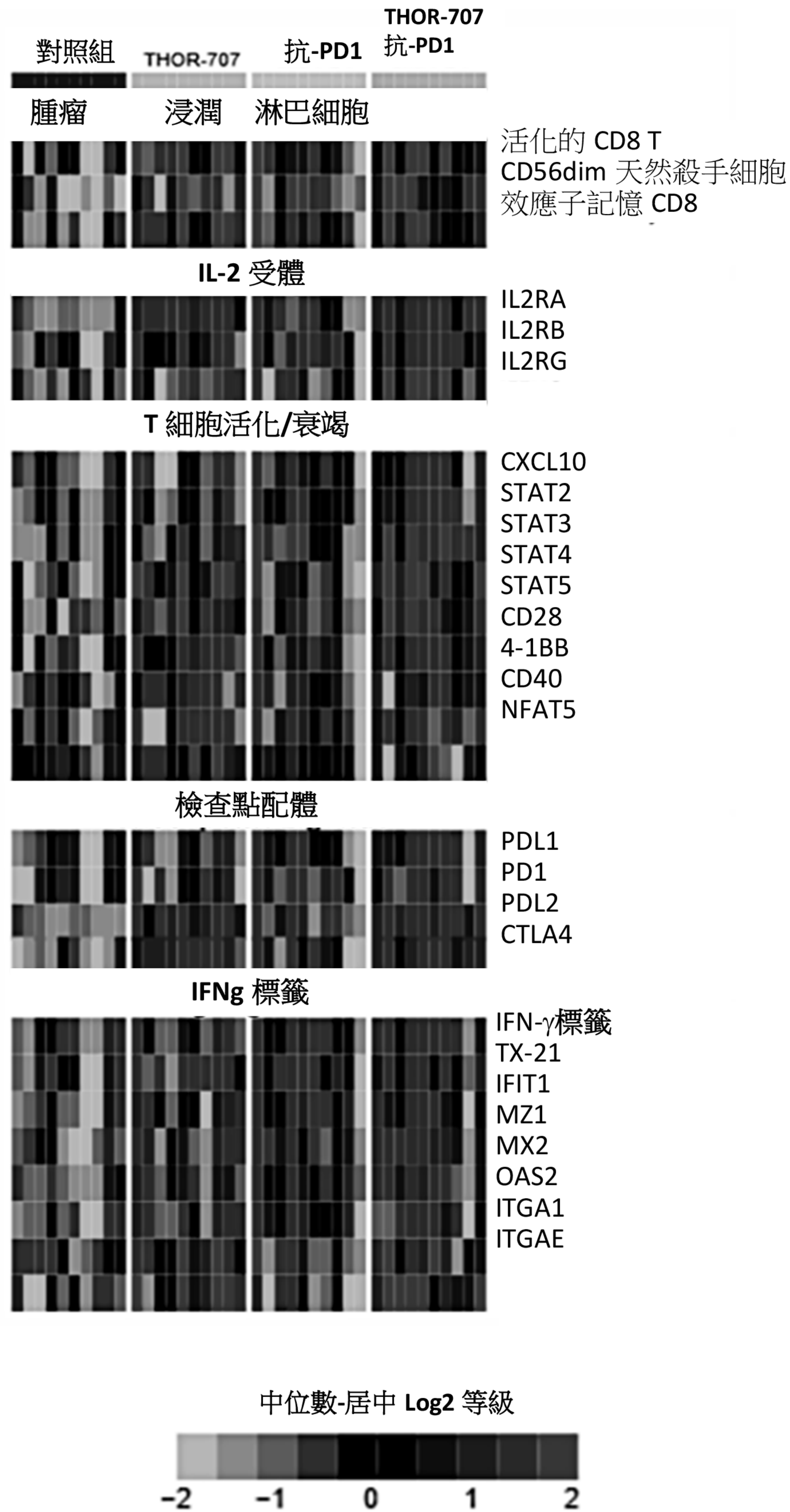


【圖 20】

### 第 8 天週邊 T 細胞單株性

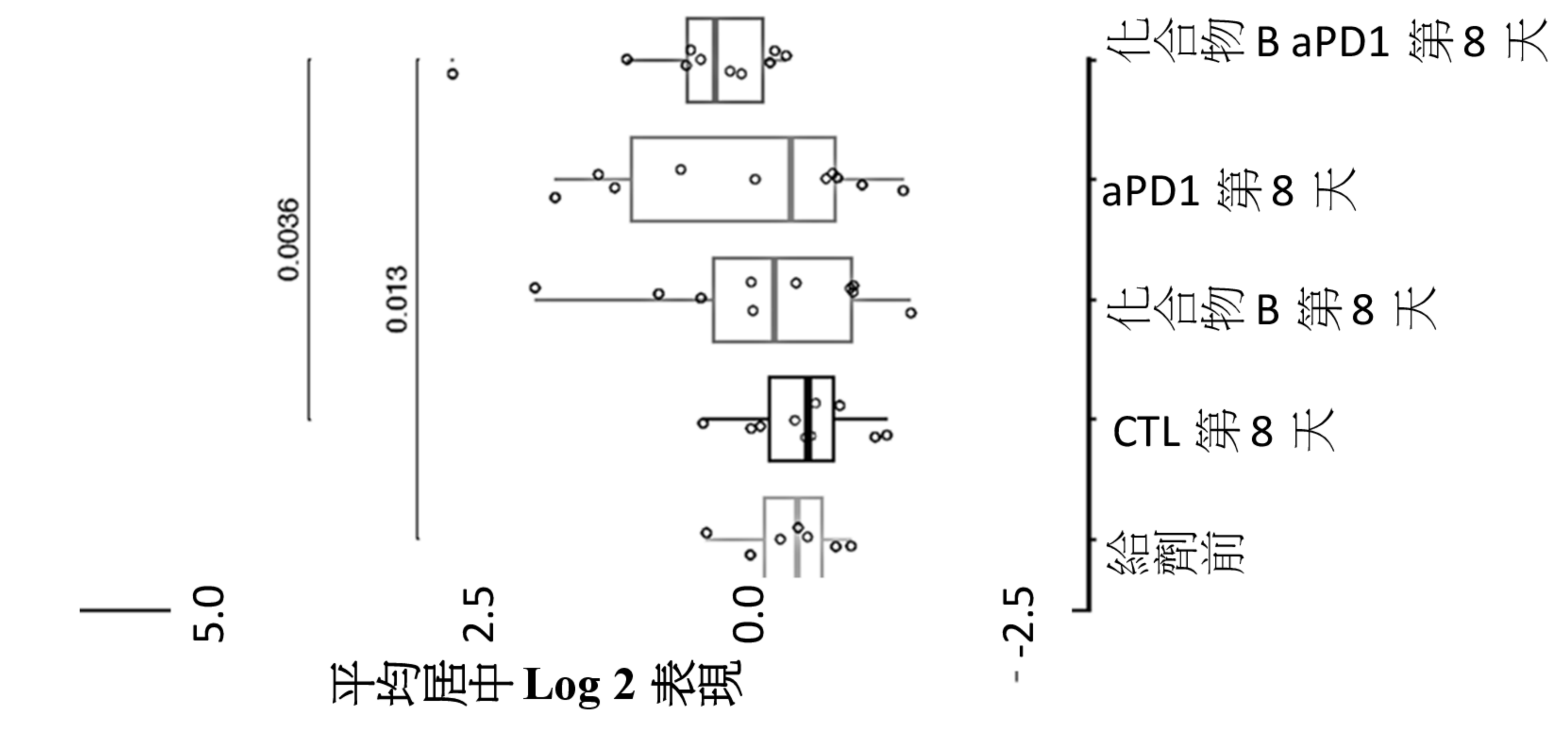


【圖21】



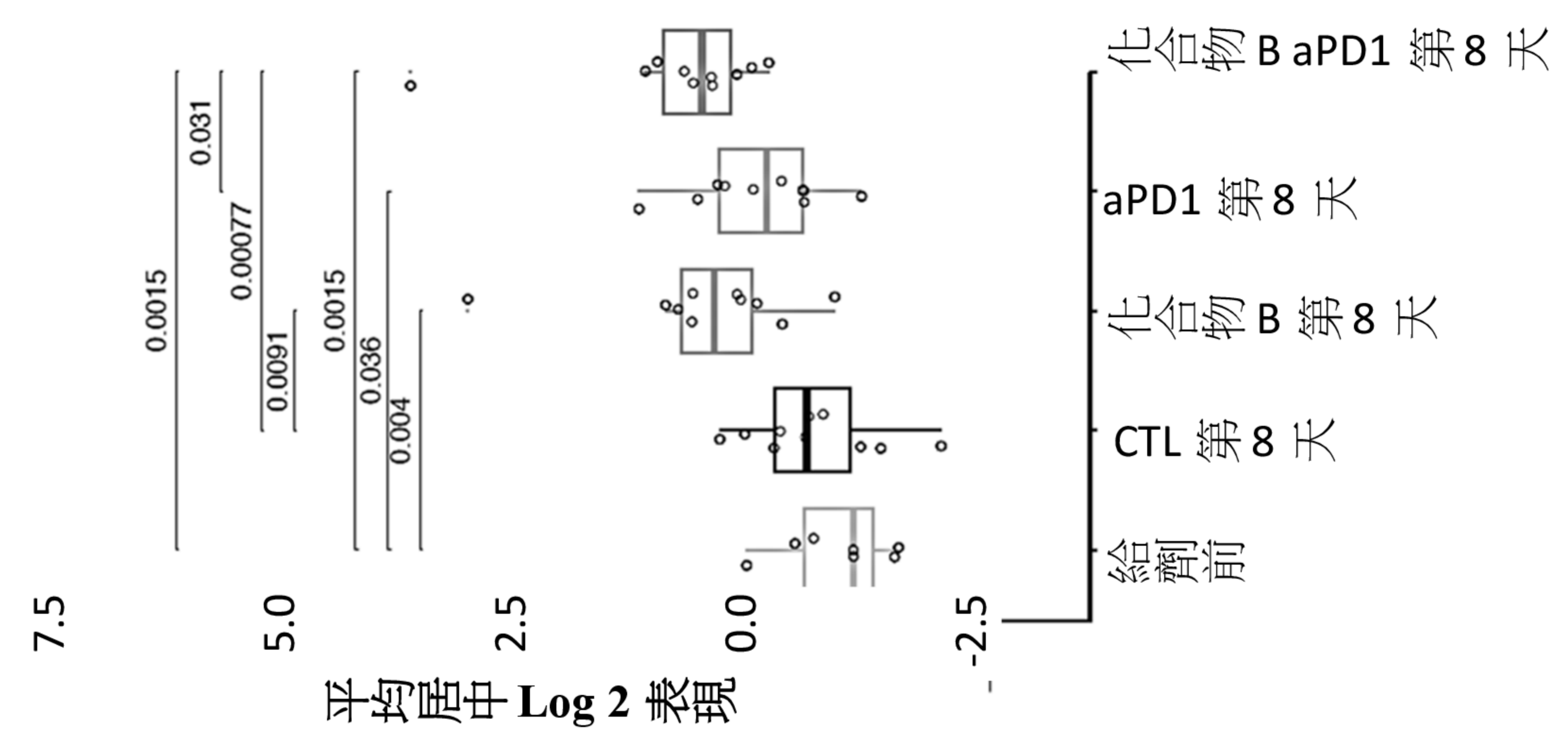
【圖22】

CD56<sup>dim</sup> NK



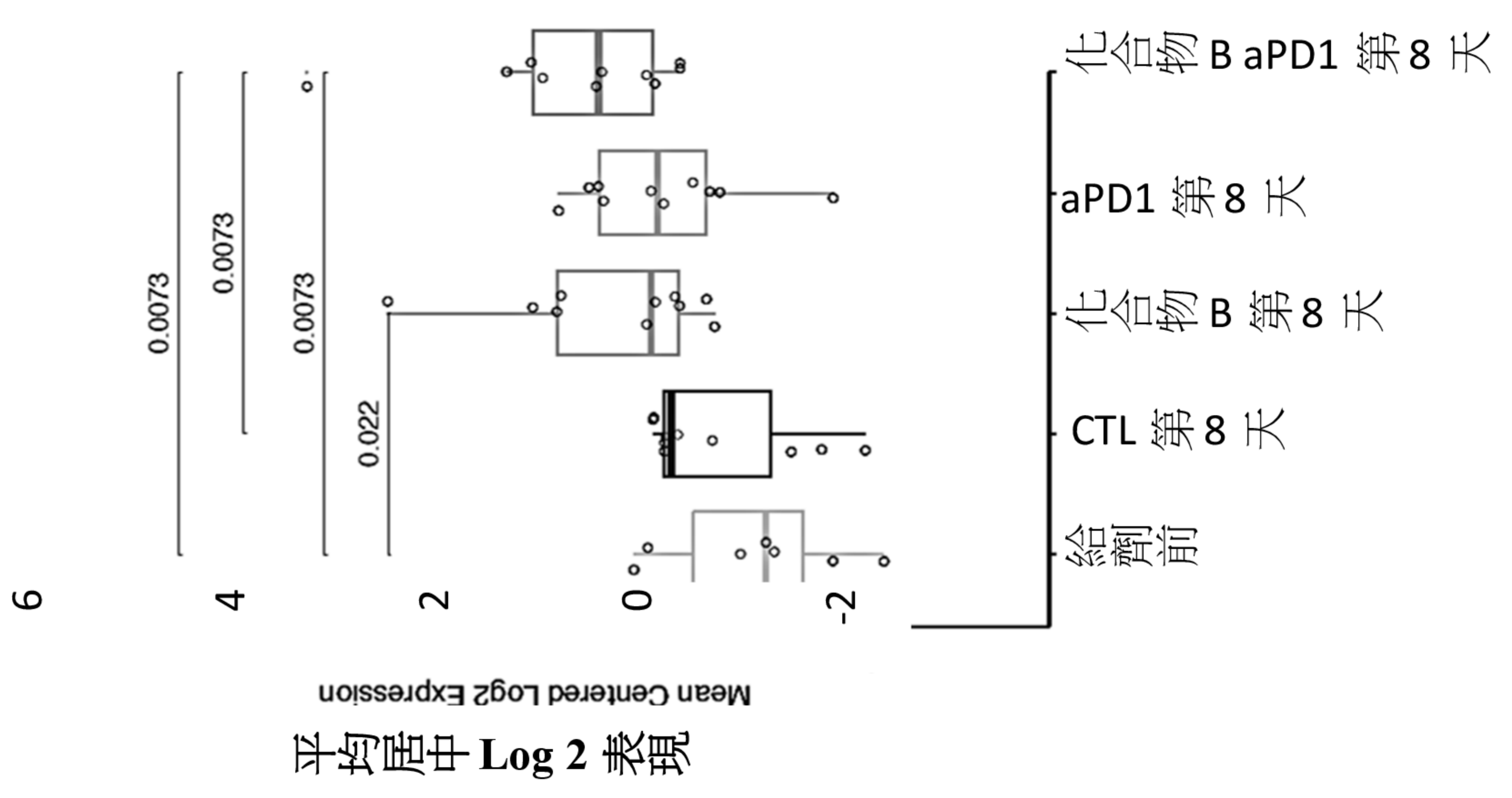
【圖 23C】

效應子記憶

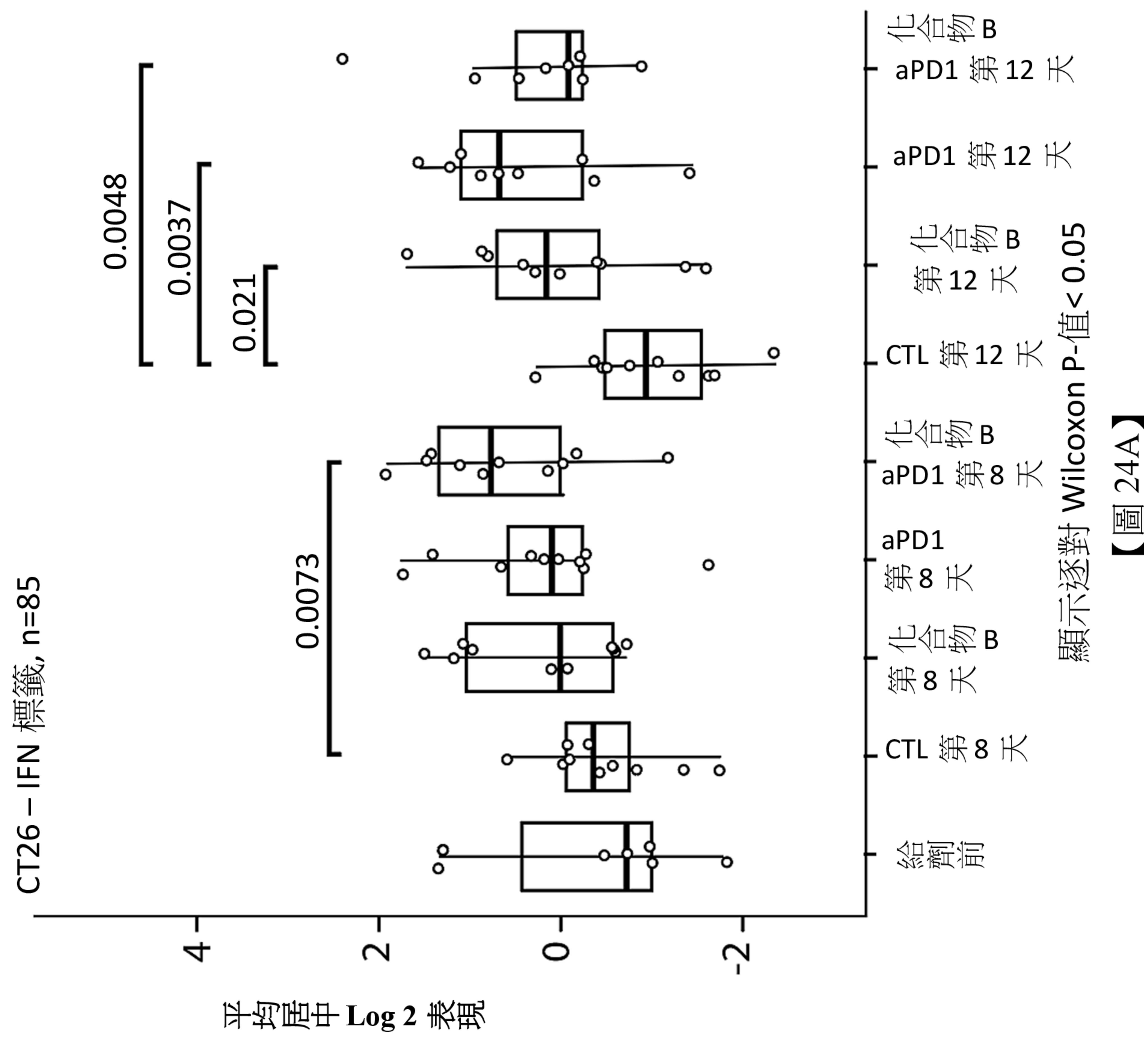


【圖 23B】

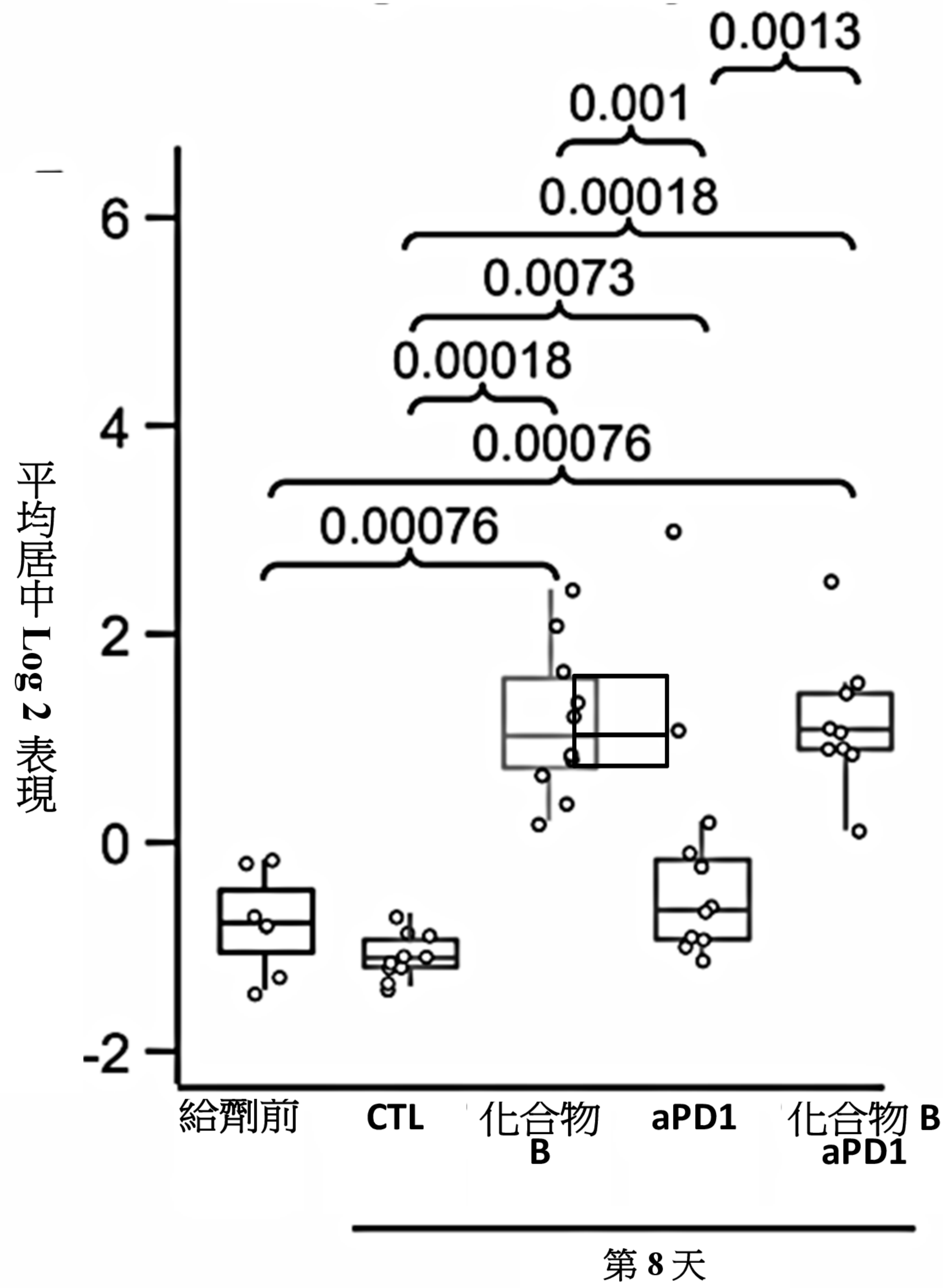
活化的CD8+ T



【圖 23A】

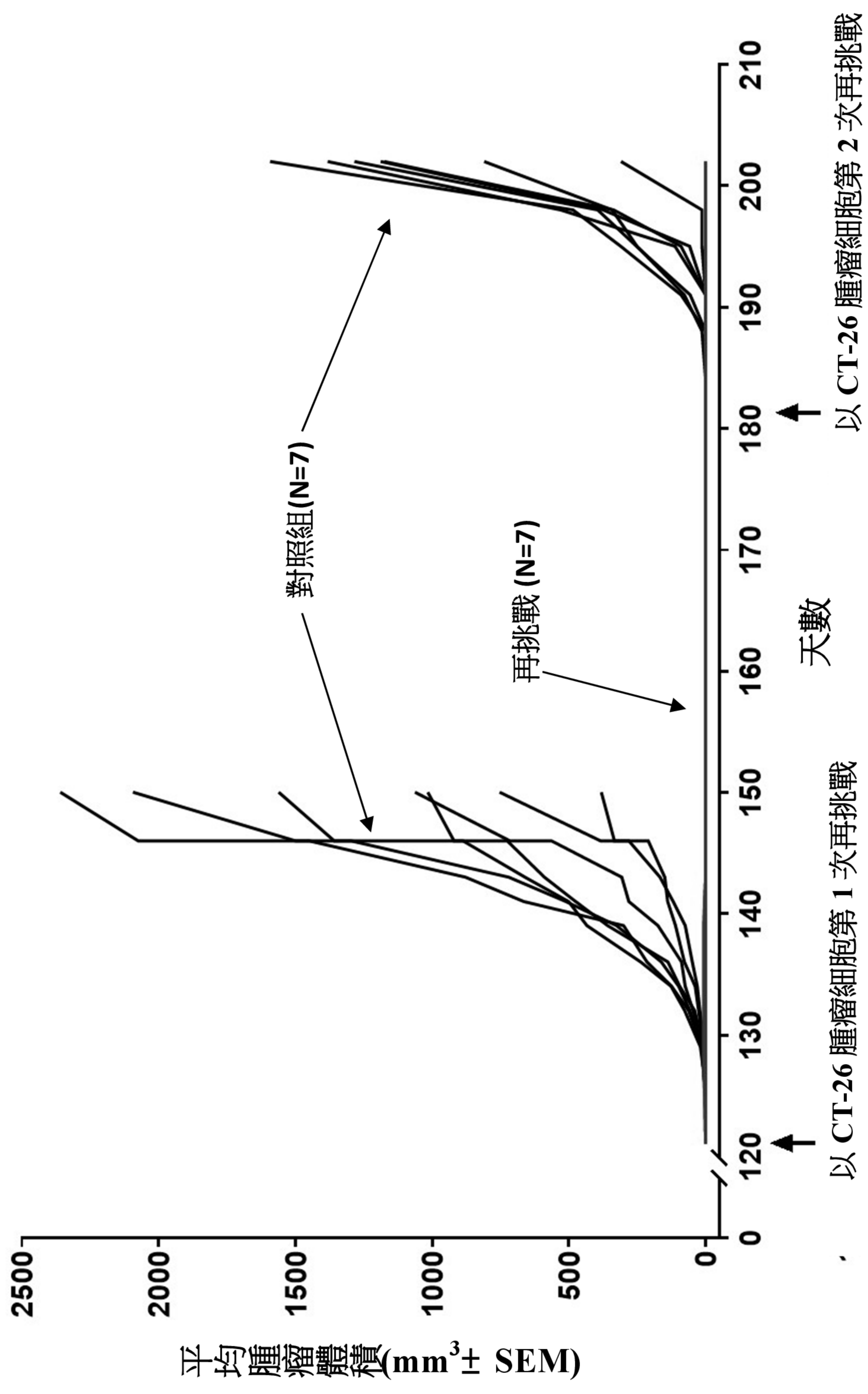


化合物 B 反應標籤  
第 8 天

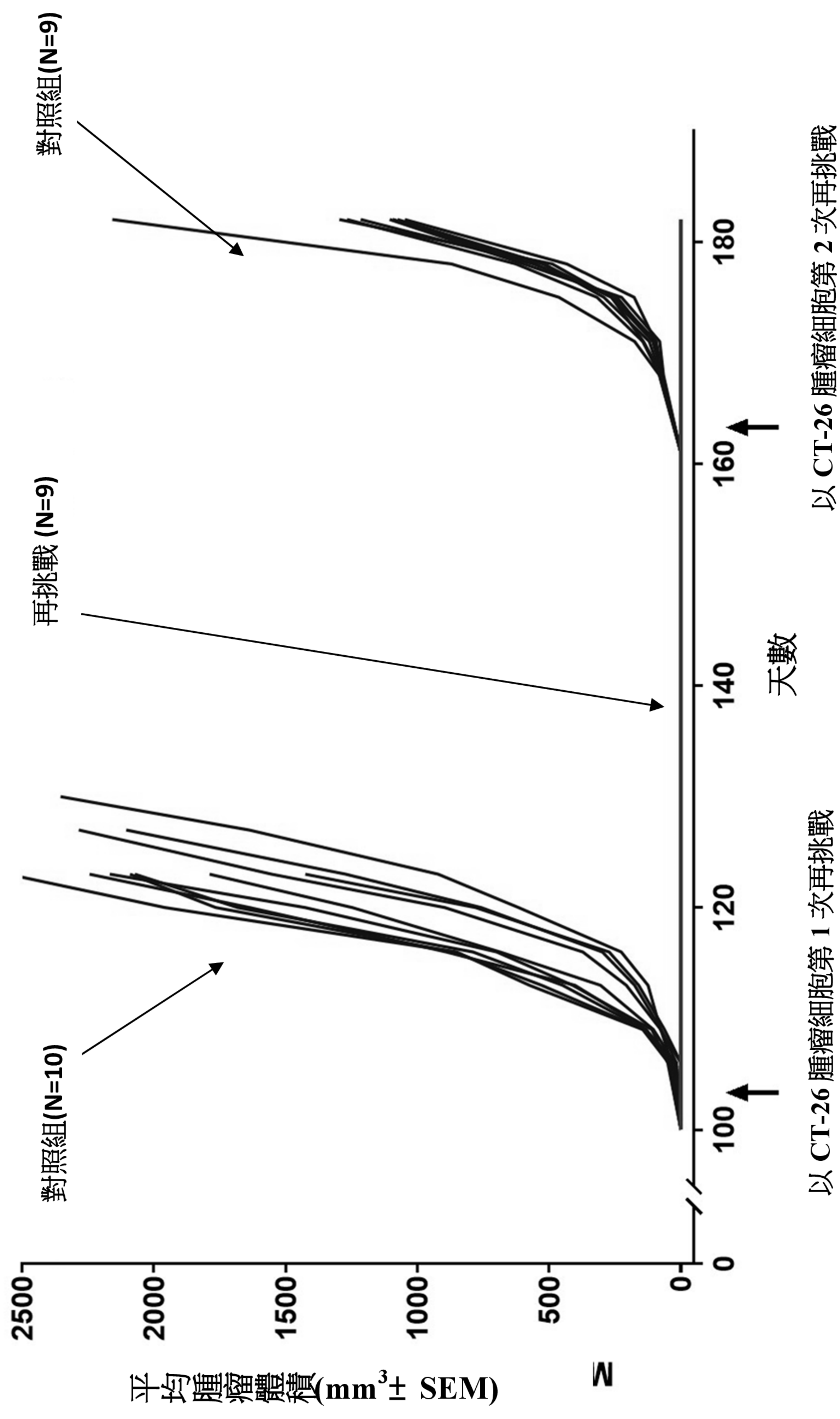


【圖24B】

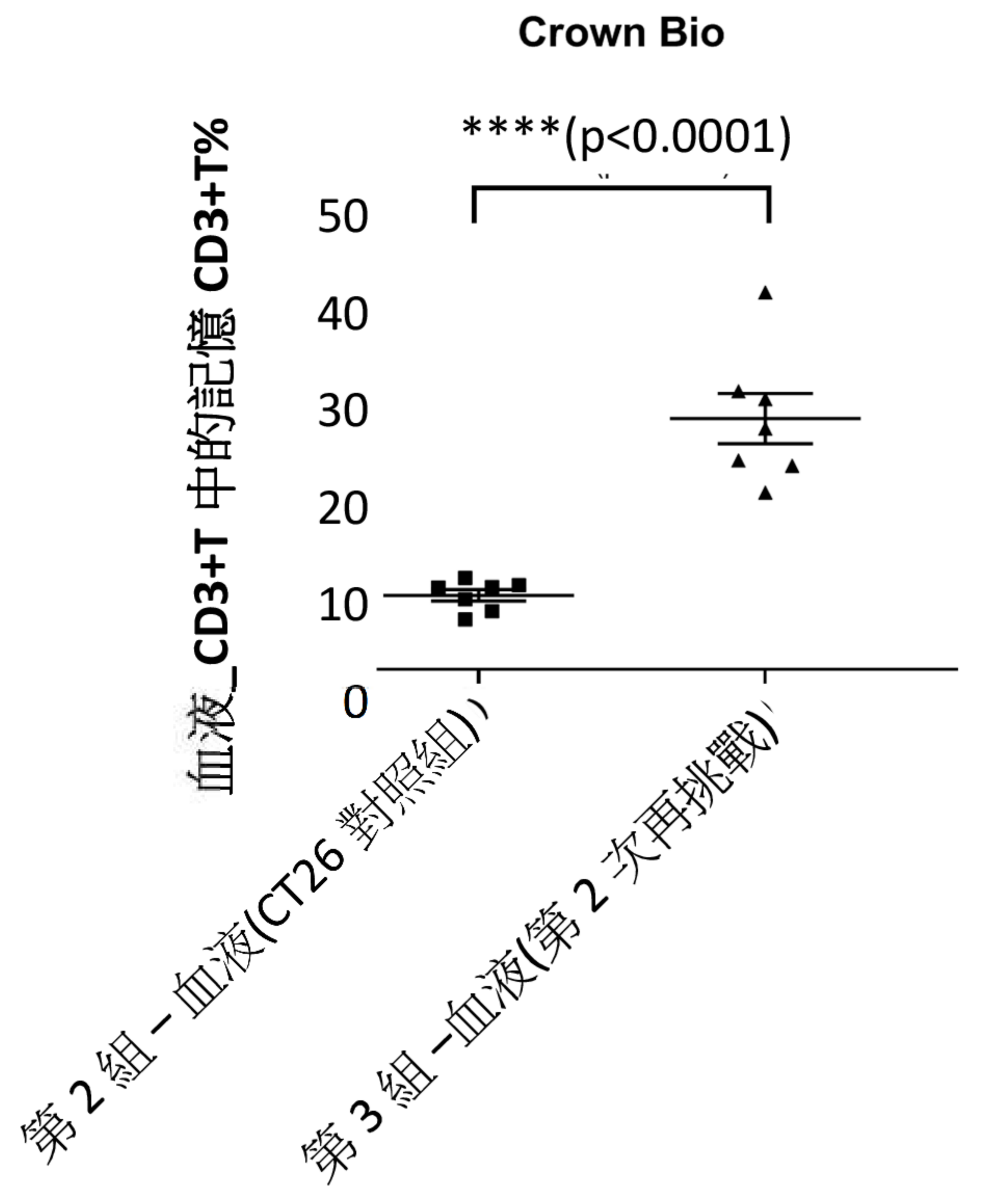




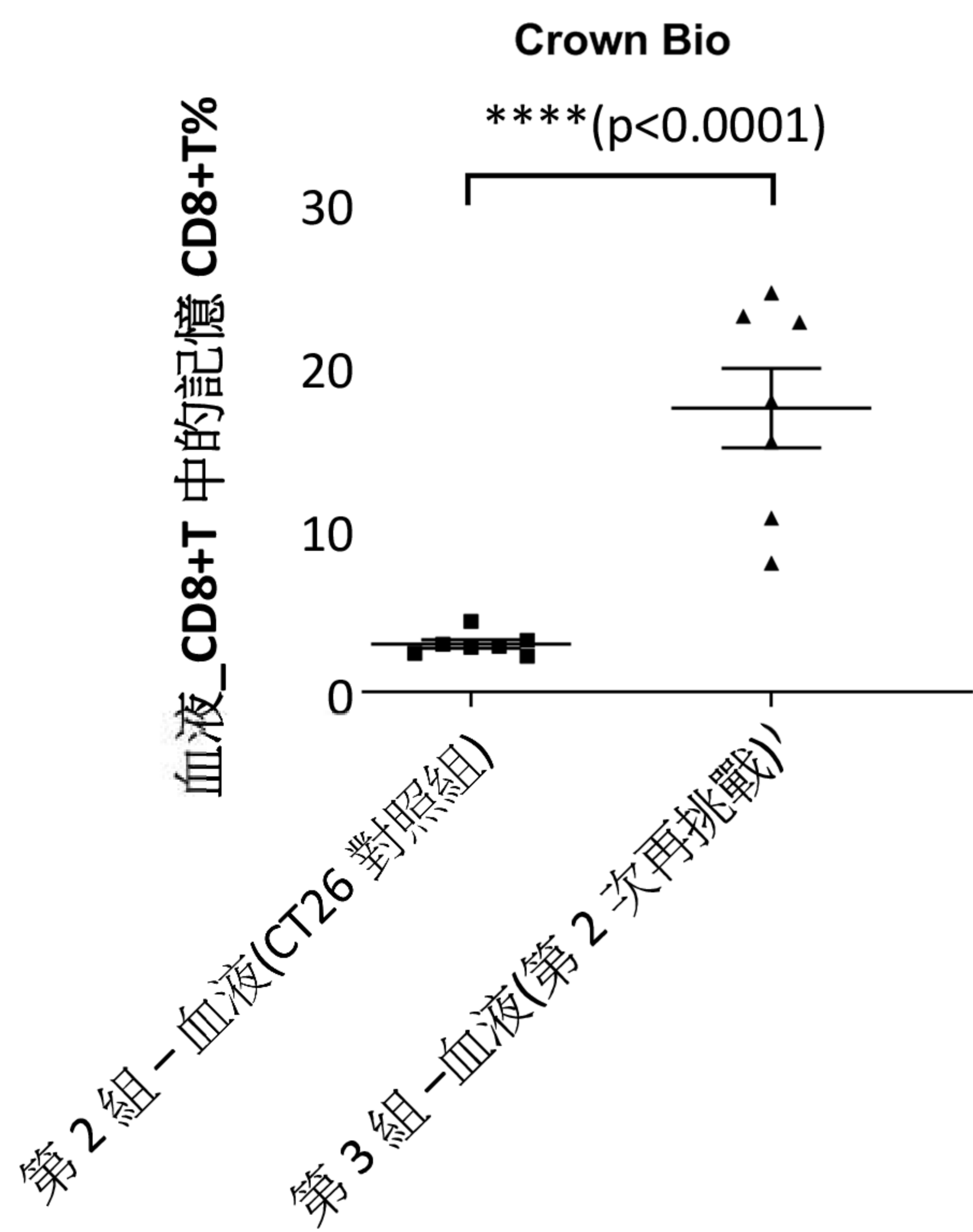
【圖25】



【圖 26】



【圖 27A】



【圖 27B】