

权 利 要 求 书

1、IL-2 衍生物，其特征在于，所述 IL-2 衍生物通过在野生型 IL-2 的基础上引入至少一个半胱氨酸残基，部分封闭或完全封闭 IL-2 衍生物与 α 受体亚基的结合平面，同时基本保留对 β 和 γ 受体亚基复合物的亲和力。

2、如权利要求 1 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，在野生型 IL-2 的基础上引入的至少一个半胱氨酸残基，能够：

- a) 形成 IL-2 衍生物的分子内二硫键；或者
- b) 使得 IL-2 衍生物能通过分子间二硫键与封闭模块结合。

3、如权利要求 2 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述引入至少一个半胱氨酸残基为通过点突变的方式引入至少一个半胱氨酸残基。

4、如权利要求 3 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，在野生型 IL-2 的基础上通过点突变方式引入第一半胱氨酸残基和第二半胱氨酸残基；所述第一半胱氨酸残基和所述第二半胱氨酸残基中的一个或两个为野生型 IL-2 与 α 受体亚基的结合平面相关的氨基酸或其附近的氨基酸。

5、如权利要求 4 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述第一半胱氨酸残基为野生型 IL-2 的第 37 位、第 38 位、第 41 位、第 42 位、第 43 位、第 44 位、第 45 位、第 61 位、第 62 位氨基酸或其附近的氨基酸；所述第二半胱氨酸残基为野生型 IL-2 的第 61 位、第 62 位、第 65 位、第 68 位、第 72 位氨基酸或其附近的氨基酸。

6、如权利要求 4 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述第一半胱氨酸残基为选自下组的氨基酸点突变：K35C、L36C、R38C、M39C、L40C、T41C、F42C、K43C、F44C 和 E61C。

7、如权利要求 4 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述第二半胱氨酸残基为选自下组的氨基酸点突变：V69C、E62C、P65C、T111C、Y107C、A112C、T113C、I114C、L72C 和 A73C。

8、如权利要求 4 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，形成分子内二硫键的第一半胱氨酸残基和第二半胱氨酸残基的组合选自下组的氨基酸点突变组合：M39C 和 V69C、F44C 和 E62C、F44C 和 P65C、F42C 和 V69C、E61C 和 Y107C、F42C 和

P65C、F42C 和 T111C、F42C 和 A112C、F42C 和 T113C、T41C 和 A112C、L40C 和 A112C、L40C 和 T113C、L40C 和 I114C、M39C 和 L72C、M39C 和 A73C、R38C 和 V69C、R38C 和 L72C、L36C 和 V69C、L36C 和 L72C、L36C 和 A73C、K35C 和 V69C 以及 K43C 和 A112C。

9、如权利要求 4 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述第一半胱氨酸残基和所述第二半胱氨酸残基的残基质心矢量距离为小于 6Å。

10、如权利要求 3 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，在野生型 IL-2 的基础上通过点突变方式引入第三半胱氨酸残基；所述第三半胱氨酸残基为野生型 IL-2 与 α 受体亚基的结合平面相关的氨基酸或其附近的氨基酸。

11、如权利要求 10 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述第三半胱氨酸残基为野生型 IL-2 的第 37 位、第 38 位、第 41 位、第 42 位、第 43 位、第 44 位、第 45 位、第 61 位、第 62 位、第 65 位、第 68 位、第 72 位氨基酸或其附近的氨基酸。

12、如权利要求 10 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述第三半胱氨酸残基为选自下组的氨基酸点突变：P34C、K35C、T37C、R38C、T41C、K43C、F44C、Y45C、E61C、E62C、K64C、P65C、E68C 和 L72C。

13、如权利要求 10 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述封闭模块上具有或引入有第四半胱氨酸残基；所述 IL-2 衍生物上的第三半胱氨酸残基与所述封闭模块上的第四半胱氨酸残基能形成分子间二硫键。

14、如权利要求 13 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述第三半胱氨酸残基和所述第四半胱氨酸残基的残基质心矢量距离为小于 6Å。

15、如权利要求 13 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述封闭模块为 α 受体亚基的胞外段。

16、如权利要求 3 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，通过点突变的方式将野生型 IL-2 第 125 位的半胱氨酸残基转变为其他的氨基酸残基。

17、如权利要求 16 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，野生型 IL-2 第 125 位的点突变为 C125A。

18、如权利要求 3 所述的 IL-2 衍生物，其特征在于，所述 IL-2 衍生物的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3 ~ SEQ ID NO. 24 所示；或如 SEQ ID NO. 26~40 所示。

19、一种复合物，其特征在于，包括：

1) IL-2 衍生物，所述 IL-2 衍生物在野生型 IL-2 的基础上引入第三半胱氨酸残基；

2) 封闭模块，所述封闭模块上具有或引入有第四半胱氨酸残基；

所述 IL-2 衍生物上的第三半胱氨酸残基和所述封闭模块上的第四半胱氨酸残基形成分子间二硫键，从而形成 IL-2 与封闭模块的复合物，部分封闭或完全封闭 IL-2 衍生物与 α 受体亚基的结合平面，同时基本保留对 β 和 γ 受体亚基复合物的亲和力和力。

20、如权利要求 19 所述的复合物，其特征在于，所述第三半胱氨酸残基为野生型 IL-2 与 α 受体亚基的结合平面相关的氨基酸或其附近的氨基酸。

21、如权利要求 20 所述的复合物，其特征在于，所述第三半胱氨酸残基和所述第四半胱氨酸残基的残基质心矢量距离为小于 6Å。

22、如权利要求 19 所述的复合物，其特征在于，所述第三半胱氨酸残基为选自下组的氨基酸点突变：P34C、K35C、T37C、R38C、T41C、K43C、F44C、Y45C、E61C、E62C、K64C、P65C、E68C 和 L72C。

23、如权利要求 19 所述的复合物，其特征在于，所述封闭模块为 α 受体亚基的胞外段，其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 25 所示。

24、如权利要求 23 所述的复合物，其特征在于， α 受体亚基的胞外段上的所述第四半胱氨酸残基位选自下组的氨基酸点突变：D4C、D5C、M25C、N27C、R35C、R36C、K38C、S39C、G40C、S41C、L42C、I118C、Y119C 和 H120C。

25、如权利要求 23 所述的复合物，其特征在于，形成分子间二硫键的第三半胱氨酸残基和第四半胱氨酸残基的组合选自下组的氨基酸点突变组合：T41C 和 N27C、P34C 和 D4C、E68C 和 L42C、Y45C 和 R35C、R38C 和 H120C、L72C 和 M25C、E61C 和 S39C、T41C 和 I118C、K35C 和 D4C、T37C 和 D4C、R38C 和 D4C、R38C 和 D5C、T41C 和 L42C、T41C 和 Y119C、K43C 和 R35C、K43C 和

R36C、F44C 和 L42C、K43C 和 L42C、E61C 和 K38C、E62C 和 K38C、K64C 和 S39C、K64C 和 G40C、K64C 和 S41C、P65C 和 K38C。

26、如权利要求 19 所述的复合物，其特征在于，野生型 IL-2 第 125 位的点突变为 C125A。

27、如权利要求 23 所述的复合物，其特征在于，所述 IL-2 衍生物的氨基酸序列和所述 α 受体亚基的胞外段的序列组合选自下组的组合：SEQ ID NO. 26 和 SEQ ID NO. 50，SEQ ID NO. 27 和 SEQ ID NO. 51，SEQ ID NO. 28 和 SEQ ID NO. 52，SEQ ID NO. 29 和 SEQ ID NO. 53，SEQ ID NO. 30 和 SEQ ID NO. 54，SEQ ID NO. 31 和 SEQ ID NO. 55，SEQ ID NO. 32 和 SEQ ID NO. 56，SEQ ID NO. 33 和 SEQ ID NO. 57，SEQ ID NO. 34 和 SEQ ID NO. 58，SEQ ID NO. 35 和 SEQ ID NO. 59，SEQ ID NO. 36 和 SEQ ID NO. 60，SEQ ID NO. 37 和 SEQ ID NO. 61，SEQ ID NO. 38 和 SEQ ID NO. 62，SEQ ID NO. 39 和 SEQ ID NO. 63，SEQ ID NO. 40 和 SEQ ID NO. 64，SEQ ID NO. 41 和 SEQ ID NO. 65，SEQ ID NO. 42 和 SEQ ID NO. 66，SEQ ID NO. 43 和 SEQ ID NO. 67，SEQ ID NO. 44 和 SEQ ID NO. 68，SEQ ID NO. 45 和 SEQ ID NO. 69，SEQ ID NO. 46 和 SEQ ID NO. 70，SEQ ID NO. 47 和 SEQ ID NO. 71，SEQ ID NO. 48 和 SEQ ID NO. 72，SEQ ID NO. 49 和 SEQ ID NO. 73。

28、一种分离的多核苷酸，其特征在于，其编码如权利要求 1~18 中任一项所述的 IL-2 衍生物，或者编码如权利要求 19~27 中任一项所述的复合物。

29、一种表达载体，其特征在于，包含如权利要求 28 所述的一种分离的多核苷酸。

30、一种宿主细胞，其特征在于，包含如权利要求 28 所述的一种分离的多核苷酸。

31、一种组合物，其特征在于，包含如权利要求 1~18 中任一项所述的 IL-2 衍生物或者如权利要求 19~27 中任一项所述的复合物，以及药学可接受载体。

32、如权利要求 1~18 中任一项所述的 IL-2 衍生物或者如权利要求 19~27 中任一项所述的复合物用于制备用于治疗疾病的药物或制剂中的用途。

33、如权利要求 1~18 中任一项所述的 IL-2 衍生物或者如权利要求 19~27 中任

一项所述的复合物在制备用于刺激个体的免疫系统的组合物中的用途。

34、一种生成 IL-2 衍生物的方法，其特征在于，所述方法包括在适合于表达所述 IL-2 衍生物的条件下培养如权利要求 30 所述的宿主细胞。

35、一种生成复合物的方法，其特征在于，所述方法包括在适合于表达所述复合物的条件下培养如权利要求 30 所述的宿主细胞。