(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0027235
(43) 공개일자 2023년02월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/60 (2017.01) *A61K 38/20* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/60 (2017.08)
A61K 38/2013 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7002291
(22) 출원일자(국제) 2021년06월24일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년01월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/038958
(87) 국제공개번호 WO 2021/263026
국제공개일자 2021년12월30일
(30) 우선권주장
63/044,199 2020년06월25일 미국(US)
63/196,448 2021년06월03일 미국(US)

(71) 출원인
신톡스, 인크.
미국 캘리포니아 (우편번호 92037) 라 졸라 엔. 토레이 파인스 로드 11099 스위트 190
(72) 발명자
압바멧사, 지오반니
미국 08807 뉴저지 브릿지워터 코포레이트 드라이브 55 메일 코드 55에이-525 사노피 내
카파로, 캐롤리나 이.
미국 08807 뉴저지 브릿지워터 코포레이트 드라이브 55 메일 코드 55에이-525 사노피 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 장덕순

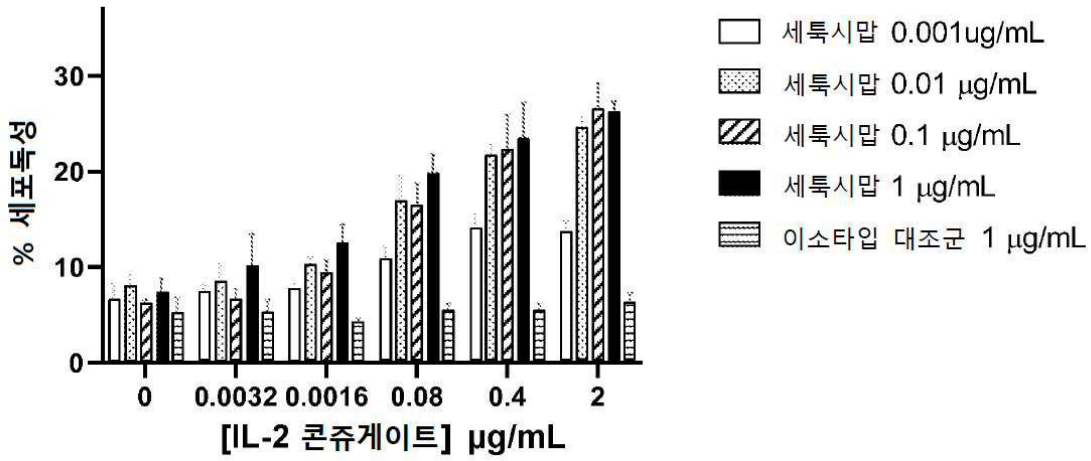
전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 **IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체를 사용한 면역 종양학 병용 요법**

(57) 요 약

암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 개시되며, 본 방법은 IL-2 콘쥬게이트를 항-EGFR 항체와 조합하여 투여하는 단계를 포함한다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
A61K 39/3955 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2863 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)

(72) 발명자
레베크, 조셉
미국 08807 뉴저지 브릿지워터 코포레이트 드라이브 55 메일 코드 55에이-525 사노피 내
밀라, 마르코스
미국 08807 뉴저지 브릿지워터 코포레이트 드라이브 55 메일 코드 55에이-525 사노피 내
프타신, 제로드
미국 08807 뉴저지 브릿지워터 코포레이트 드라이브 55 메일 코드 55에이-525 사노피 내
바게나르, 티모시 알.
미국 08807 뉴저지 브릿지워터 코포레이트 드라이브 55 메일 코드 55에이-525 사노피 내

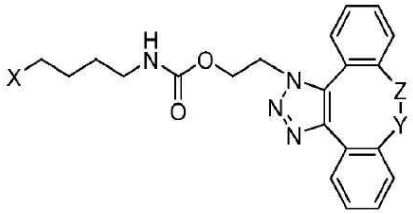
명 세 서

청구범위

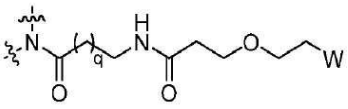
청구항 1

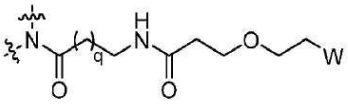
암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 항-EGFR 항체를 투여하는 단계를 포함하고, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트의 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 I의 구조로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는, 방법:

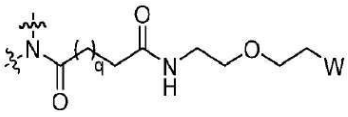
[화학식 I]

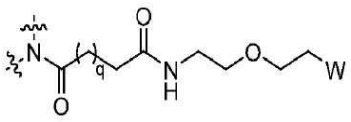


(여기서,

Z는 CH_2이고 Y는  이거나;

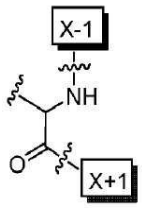
Y는 CH_2이고 Z는  이거나;

Z는 CH_2이고 Y는  이거나; 또는

Y는 CH_2이고 Z는  이고;

W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 또는 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

X는 하기 구조:



를 갖는 L-아미노산이며;

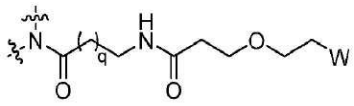
X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

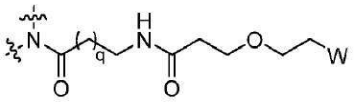
IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40,

E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택됨).

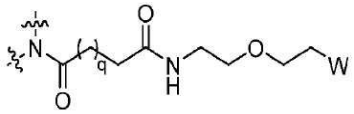
청구항 2

제1항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH_2이고, Y는  인, 방법.

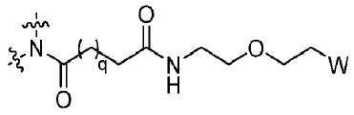
청구항 3

제1항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH_2이고, Z는  인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH_2이고, Y는  인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH_2이고, Z는  인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

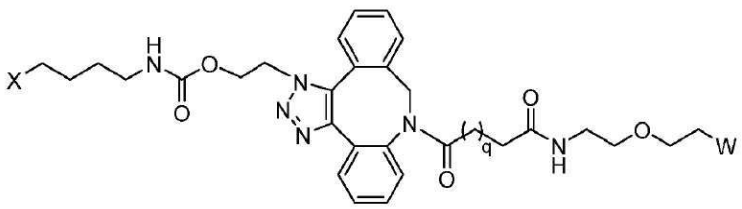
청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서 화학식 I의 구조의 위치는 P64인, 방법.

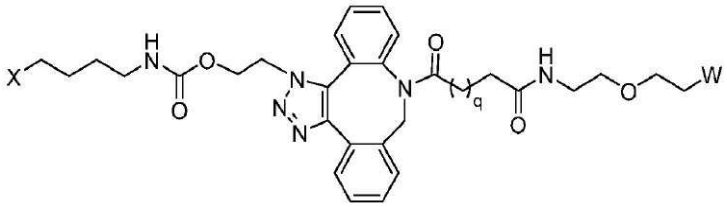
청구항 9

제1항에 있어서, 화학식 I의 구조는 하기 화학식 IV 또는 하기 화학식 V의 구조를 갖거나, 또는 하기 화학식 IV의 구조와 하기 화학식 V의 구조의 혼합물인, 방법:

[화학식 IV]



[화학식 V]

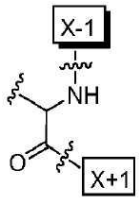


(여기서,

W는 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

q는 1, 2 또는 3이며;

X는 하기 구조:



를 갖는 L-아미노산이며;

X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

X+1은 후속하는 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타냄).

청구항 10

제9항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조의 위치는 P64인, 방법.

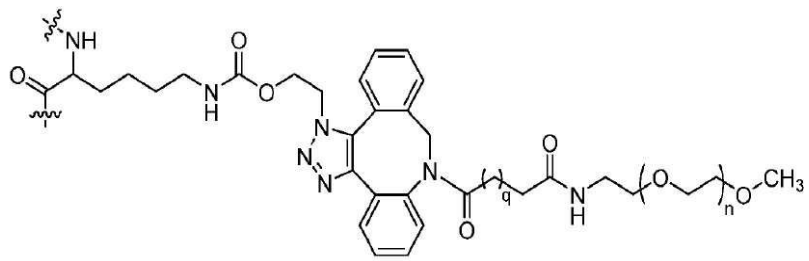
청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항-EGFR 항체는 세툭시맙인, 방법.

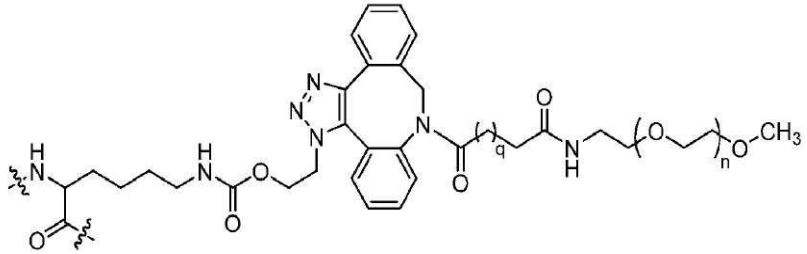
청구항 12

암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 세툭시맙을 투여하는 단계를 포함하고, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 XII 또는 하기 화학식 XIII의 구조를 갖거나, 또는 하기 화학식 XII의 구조와 하기 화학식 XIII의 구조의 혼합물인, 방법:

[화학식 XII]



[화학식 XIII]



(여기서,

n은 정수로서, n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이며;

q는 1, 2 또는 3이며;

물결선은 대체되지 않은 서열 번호 50 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타냄).

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, q는 1인, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, q는 2인, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, q는 3인, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 평균 분자량은 수평균 분자량인, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 평균 분자량은 중량 평균 분자량인, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물인, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 대상체에게 약 2주마다 1회, 약 3주마다 1회, 또는 약 4주마다 1회 투여되는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 항-EGFR 항체는 약 1주마다 1회, 약 2주마다 1회, 약 3주마다 1회, 또는 약 4주마다 1회 투여되는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 별개로 투여되는, 방법.

청구항 23

제23항에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 고전적 호지킨 림프종(cHL), 원발성 종격동 거대 B 세포 림프종(PMBCL), 요로상피 암종, 현미부수체 불안정 암, 현미부수체 안정 암, 위암, 결장암, 결장직장암, 자궁경부암, 간세포 암종(HCC), 메르켈 세포 암종(MCC), 흑색종, 소세포폐암(SCLC), 식도암, 식도 편평세포암종(ESCC), 교모세포종, 중피종, 유방암, 삼중음성 유방암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암, 전이성 거세 저항성 전립선암, 또는 DNA 손상 반응(DDR) 결함이 있는 전이성 거세 저항성 전립선암 , 방광암, 난소암, 중등도 내지 저 돌연변이 부담 종양, 피부 편평 세포 암종(CSCC), 편평 세포 피부암(SCSC), 저 발현 내지 비-발현 PD-L1 종양, 해부학적 원발 기원 부위를 넘어 간 및 CNS에 전신적으로 파종된 종양, 및 미만성 거대 B-세포 림프종으로부터 선택되는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 약 16 μg/kg의 IL-2 콘쥬게이트를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 약 24 μg/kg의 IL-2 콘쥬게이트를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제10항 또는 제12항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 항-EGFR 항체는 파니투무맙(Vectibix), 네시투무맙(Portrazza), JNJ-61186372(Amivantamab), IMC-C225, ABX-EGF, ICR62, 및 EMD 55900으로부터 선택되는, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 방법에서 사용하기 위한 IL-2 콘쥬게이트.

청구항 29

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 방법을 위한 의약의 제조를 위한 IL-2 콘쥬게이트의 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 6월 25일자로 출원된 미국 가출원 제63/044,199호 및 2021년 6월 3일자로 출원된 미국 가출원 제63/196,448호에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각의 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] 서로 다른 T 세포 집단은 면역 항상성 및 관용을 유지하도록 면역계를 조절한다. 예를 들어, 조절 T(Treg) 세포는 병리학적 자가-반응성을 방지함으로써 면역계에 의한 부적절한 반응을 방지하는 반면, 세포독성 T 세포는 감염된 세포 및/또는 암세포를 표적화하고 파괴한다. 일부 예에서, 상이한 T 세포 집단의 조절은 질환 또는 적응증의 치료에 대한 옵션을 제공한다. 상이한 T 세포 집단의 조절은 병용 요법에서 추가 제제 또는 방법의 존재에 의해 증강될 수 있다.

[0004] 사이토카인은 세포 신호전달 단백질의 패밀리, 예컨대 케모카인, 인터페론, 인터류킨, 림포카인, 종양 괴사 인자, 및 기타 성장 인자(선천성 및 적응성 면역세포 항상성에서 역할을 함)를 포함한다. 사이토카인은 면역세포, 예컨대 대식세포, B 림프구, T 림프구 및 비만 세포, 내피 세포, 섬유아세포, 및 다른 기질 세포에 의해

생성된다. 일부 경우에, 사이토카인은 체액성 면역 반응과 세포-기반 면역 반응 사이의 균형을 조절한다.

[0005] 인터류킨은 T 및 B 림프구, 단핵구 계통의 세포, 호중구, 호염기구, 호산구, 거핵구, 및 조혈 세포의 발달과 분화를 조절하는 신호전달 단백질이다. 인터류킨은 헬퍼 CD4+ T 및 B 림프구, 단핵구, 대식세포, 내피 세포, 및 기타 조직 상주 세포에 의해 생성된다.

[0006] 일부 경우에, 인터류킨 2(IL-2) 신호전달은 T 세포 반응을 조절하기 위해 그리고 후속하여 암의 치료를 위해 사용된다. 따라서, 일 양태에서, IL-2 콘쥬게이트를 항-EGFR 항체와 조합하여 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

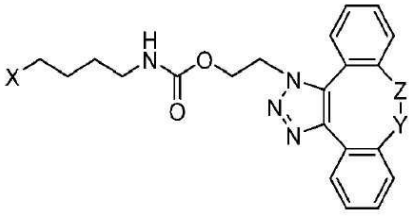
발명의 내용

[0007] 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 개시되며, 본 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 항-EGFR 항체를 투여하는 단계를 포함한다.

[0008] 예시적인 실시 형태는 다음을 포함한다:

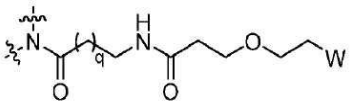
[0009] 실시 형태 1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 본 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 항-EGFR 항체를 투여하는 단계를 포함하고, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트의 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 I의 구조로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는, 방법:

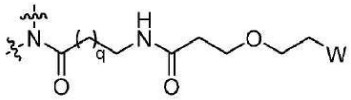
[0010] [화학식 I]

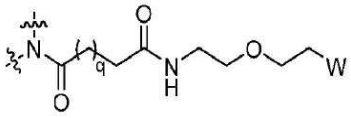


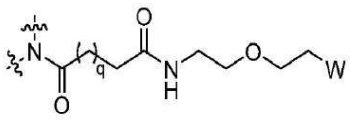
[0011]

[0012] 여기서,

[0013] Z는 CH_2이고 Y는  이거나;

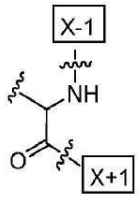
[0014] Y는 CH_2이고 Z는  이거나;

[0015] Z는 CH_2이고 Y는  이거나; 또는

[0016] Y는 CH_2이고 Z는  이며;

[0017] W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 또는 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0018] X는 하기 구조:

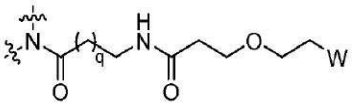
[0019] 

를 갖는 L-아미노산이며;

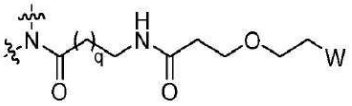
[0020] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0021] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

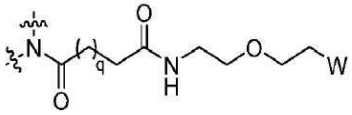
[0022] IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.

[0023] 실시 형태 2. 실시 형태 1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH_2이고, Y는 

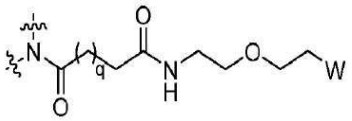
인, 방법.

[0024] 실시 형태 3. 실시 형태 1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH_2이고, Z는 

인, 방법.

[0025] 실시 형태 4. 실시 형태 1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH_2이고, Y는 

인, 방법.

[0026] 실시 형태 5. 실시 형태 1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH_2이고, Z는 

인, 방법.

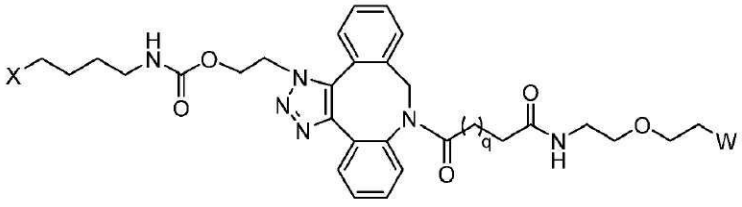
[0027] 실시 형태 6. 실시 형태 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

[0028] 실시 형태 7. 실시 형태 6에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

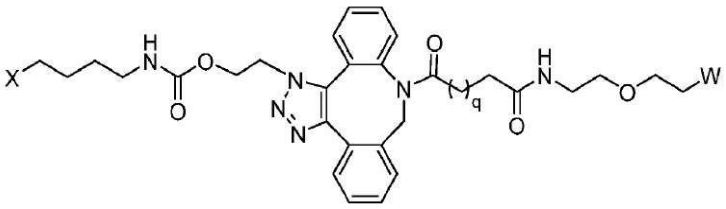
[0029] 실시 형태 8. 실시 형태 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서 화학식 I의 구조의 위치는 P64인, 방법.

[0030] 실시 형태 9. 실시 형태 1에 있어서, 화학식 I의 구조는 하기 화학식 IV 또는 하기 화학식 V의 구조를 갖거나, 또는 하기 화학식 IV의 구조와 하기 화학식 V의 구조의 혼합물인, 방법:

[0031] [화학식 IV]

[0032] 

[0033] [화학식 V]



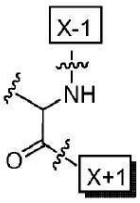
[0034]

[0035] 여기서,

[0036] W는 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0037] q는 1, 2 또는 3이며;

[0038] X는 하기 구조:



[0039] 를 갖는 L-아미노산이며;

[0040] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

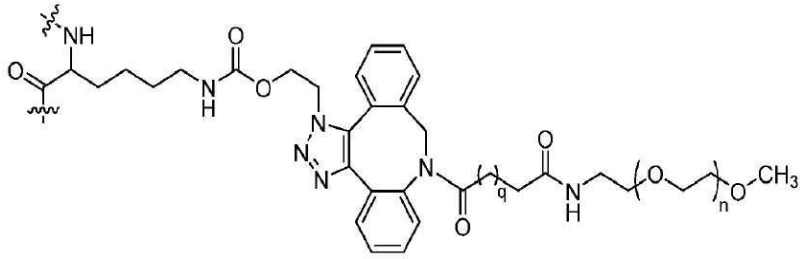
[0041] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[0042] 실시 형태 10. 실시 형태 9에 있어서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조의 위치는 P64인, 방법.

[0043] 실시 형태 11. 실시 형태 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 항-EGFR 항체는 세툭시맙인, 방법.

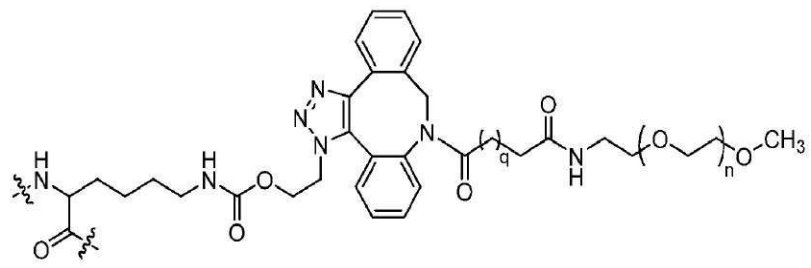
[0044] 실시 형태 12. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 본 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 세툭시맙을 투여하는 단계를 포함하고, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 XII 또는 하기 화학식 XIII의 구조를 갖거나, 또는 하기 화학식 XII의 구조와 하기 화학식 XIII의 구조의 혼합물인, 방법:

[0045] [화학식 XII]



[0046]

[0047] [화학식 XIII]



[0048]

[0049] 여기서,

[0050] n은 정수로서, n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이며;

[0051] q는 1, 2 또는 3이며;

[0052] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 50 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타내는, 방법.

[0053] 실시 형태 13. 실시 형태 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, q는 1인, 방법.

[0054] 실시 형태 14. 실시 형태 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, q는 2인, 방법.

[0055] 실시 형태 15. 실시 형태 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, q는 3인, 방법.

[0056] 실시 형태 16. 실시 형태 1 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 평균 분자량은 수평균 분자량인, 방법.

[0057] 실시 형태 17. 실시 형태 1 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 평균 분자량은 중량 평균 분자량인, 방법.

[0058] 실시 형태 18. 실시 형태 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물인, 방법.

[0059] 실시 형태 19. 실시 형태 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 대상체에게 약 2주마다 1회, 약 3주마다 1회, 또는 약 4주마다 1회 투여되는, 방법.

[0060] 실시 형태 20. 실시 형태 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 항-EGFR 항체는 약 1주마다 1회, 약 2주마다 1회, 약 3주마다 1회, 또는 약 4주마다 1회 투여되는, 방법.

[0061] 실시 형태 21. 실시 형태 1 내지 20 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.

[0062] 실시 형태 22. 실시 형태 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 별개로 투여되는, 방법.

[0063] 실시 형태 23. 실시 형태 23에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 순차적으로 투여되는, 방법.

[0064] 실시 형태 24. 실시 형태 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 고전적 호지킨 림프종(cHL), 원발성 종격동 거대 B 세포 림프종(PMBCL), 요로상피 암종, 현미부수체 불안정 암, 현미부수체 안정 암, 위암, 결장암, 결장직장암, 자궁경부암, 간세포 암종(HCC), 메르켈 세포 암종(MCC), 흑색종, 소세포폐암(SCLC), 식도암, 식도 편평세포암종(ESCC), 교모세포종, 중피종, 유방암, 삼중 음성 유방암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암, 전이성 거세 저항성 전립선암, 또는 DNA 손상 반응(DDR) 결함이 있는 전이성 거세 저항성 전립선암 , 방광암, 난소암, 중등도 내지 저 돌연변이 부담 종양, 피부 편평 세포 암종(CSCC), 편평 세포 피부암(SCSC), 저 발현 내지 비-발현 PD-L1 종양, 해부학적 원발 기원 부위를 넘어 간 및 CNS에 전신적으로 파종된 종양, 및 미만성 거대 B-세포 림프종으로부터 선택되는, 방법.

[0065] 실시 형태 25. 실시 형태 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 대상체에게 약 16 μg/kg의 IL-2 콘쥬게이트를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0066] 실시 형태 26. 실시 형태 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 대상체에게 약 24 μg/kg의 IL-2 콘쥬게이트를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0067] 실시 형태 27. 실시 형태 1 내지 10 또는 12 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 항-EGFR 항체는 파니투무맙(Vectibix), 네시투무맙(Portrazza), JNJ-61186372(Amivantamab), IMC-C225, ABX-EGF, ICR62, 및 EMD 55900으로부터 선택되는, 방법.

[0068] 실시 형태 28. 실시 형태 1 내지 27 중 어느 하나의 방법에서 사용하기 위한 IL-2 콘쥬게이트.

[0069] 실시 형태 29. 실시 형태 1 내지 27 중 어느 하나의 방법을 위한 의약의 제조를 위한 IL-2 콘쥬게이트의 용도.

도면의 간단한 설명

[0070] 본 발명의 신규한 특징이 첨부된 청구범위에 구체적으로 제시되어 있다. 본 발명의 특징 및 장점에 대한 더 나은 이해는 본 발명의 원리가 이용되는 예시적인 실시 형태 및 첨부 도면을 설명하는 다음의 상세한 설명을 참조하여 얻어질 것이다.

도 1a~도 1c는 3명의 개별 공여자의 인간 PBMC 및 다양한 양의 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙과 함께 공동 배양

된 CAL27 세포에서의 % 세포독성을 나타낸다.

도 2a는 인간 PBMC 및 다양한 양의 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙과 함께 공동 배양된 CAL27 세포에서의 % 세포독성을 나타낸다.

도 2b는 인간 PBMC 및 다양한 양의 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙과 함께 공동 배양된 A431 세포에서의 % 세포독성을 나타낸다.

도 3a는 NK92 세포와 함께 공동 배양되고 다양한 양의 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙으로 처리된 A431 세포에 대한 세포독성 효과를 나타낸다.

도 3b는 NK92 세포와 함께 공동 배양되고 다양한 양의 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙으로 처리된 DLD-1 세포에 대한 % 세포독성을 나타낸다.

도 3c는 NK92 세포와 함께 공동 배양되고 다양한 양의 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙으로 처리된 FaDu 세포에 대한 % 세포독성을 나타낸다.

도 3d는 NK92 세포와 함께 동 배양되고 다양한 양의 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙으로 처리된 CAL27 세포에 대한 % 세포독성을 나타낸다.

도 4a는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 말초 CD8+ T_{eff} 세포 카운트를 나타낸다.

도 4b는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 말초 CD8+ T_{eff} 세포 카운트의 변화를 나타낸다. 데이터는 전처리(C1D1) CD8+ T_{eff} 세포 카운트에 대해 정규화된다.

도 5a는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 말초 NK 세포 카운트를 나타낸다.

도 5b는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 말초 NK 세포 카운트의 변화를 나타낸다. 데이터는 전처리(C1D1) NK 세포 카운트에 대해 정규화된다.

도 6a는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 말초 CD4+ T_{reg} 세포 카운트를 나타낸다.

도 6b는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 말초 CD4+ T_{reg} 세포 카운트의 변화를 나타낸다. 데이터는 전처리(C1D1) CD4+ T_{reg} 세포 카운트에 대해 정규화된다.

도 7a는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 호산구 세포 카운트를 나타낸다.

도 7b는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 호산구 세포 카운트의 변화를 나타낸다. 데이터는 전처리(C1D1) 호산구 세포 카운트에 대해 정규화된다.

도 8a는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 림프구 세포 카운트를 나타낸다.

도 8b는 IL-2 콘쥬게이트 투여 후 특정 시점에서의, 세툭시맙과 조합된 IL-2 콘쥬게이트 16 μg/kg으로 처리된 표시된 대상체에서의 림프구 세포 카운트의 변화를 나타낸다. 데이터는 전처리(C1D1) 림프구 세포 카운트에 대해 정규화된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0071] **정의**

[0072] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 청구된 요지가 속하는 분야의 당업자가

통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 상기 일반적 설명 및 하기 상세한 설명 둘 다는 단지 예시 및 설명이며, 청구된 임의의 주제를 제한하는 것이 아님이 이해되어야 한다. 본원에 참고로 포함된 임의의 자료가 본 개시 내용의 명시적 내용과 일치하지 않는 경우, 본 개시 내용의 명시적 내용이 좌우한다. 본 출원에서, 단수형의 사용은 구체적으로 달리 진술되지 않는 한 복수형을 포함한다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수형은 달리 문맥에서 명확하게 표시되지 않는 한 복수의 대상을 포함한다는 것이 주지되어야 한다. 본 출원에서, "또는"의 사용은 달리 진술되지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. 또한, 용어 "포함하는"과, 다른 형태, 예컨대 "포함하다", "포함하고 있다" 및 "포함된"의 사용은 한정하는 것이 아니다.

[0073] 명세서에서 "일부 실시 형태", "일 실시 형태", "하나의 실시 형태", 또는 "다른 실시 형태"에 대한 언급은 실시 형태와 관련하여 설명된 특정 특징, 구조, 또는 특성이, 반드시 본 발명의 모든 실시 형태에 포함되는 것은 아니지만 본 발명의 적어도 일부 실시 형태에는 포함된다는 것을 의미한다.

[0074] 본원에서 사용되는 바와 같이, 범위 및 양은 "대략적인" 특정 값 또는 범위로 표현될 수 있다. 약은 정확한 양도 포함한다. 따라서 "약 5 μL"는 "약 5 μL" 및 또한 "5 μL"를 의미한다. 일반적으로, 용어 "약"은 예를 들어 15%, 10%, 또는 5% 이내와 같은 실험 오차 내에 있을 것으로 예상되는 양을 포함한다.

[0075] 본원에 사용된 섹션 제목은 구성 목적만으로 사용된 것으로, 기술된 요지를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0076] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "개체(들)", "대상체(들)", 및 "환자(들)"는 임의의 포유류를 의미한다. 일부 실시 형태에서, 포유류는 인간이다. 일부 실시 형태에서, 포유류는 비-인간이다. 어떠한 용어도 의료 종사자(예를 들어, 의사, 공인 간호사, 실무 간호사, 의사 보조원, 잡역 또는 호스피스 종사자)의 감독을 특징으로 하는 상황을 요하거나 그러한 상황으로 제한되지 않는다.

[0077] 본원에서 사용되는 바와 같이, 결합 친화도와 관련하여 용어 "유의한" 또는 "유의하게"는 표적 수용체에 대한 사이토토카인(예컨대, IL-2 폴리펩티드)의 결합에 영향을 주기에 충분한 사이토카인(예컨대, IL-2 폴리펩티드)의 결합 친화도의 변화를 의미한다. 일부 경우에, 상기 용어는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 그 이상의 변화를 의미한다. 일부 경우에, 상기 용어는 적어도 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 50배, 100배, 500배, 1000배, 또는 그 이상의 변화를 의미한다.

[0078] 일부 경우에, 사이토카인 신호전달 복합체를 통한 하나 이상의 세포 집단의 활성화와 관련하여 용어 "유의한" 또는 "유의하게"는 세포 집단을 활성화하기에 충분한 변화를 의미한다. 일부 경우에, 세포 집단을 활성화하기 위한 변화는 수용체 신호전달 효력으로서 측정된다. 이러한 경우에, EC50 값이 제공될 수 있다. 다른 경우에, ED50 값이 제공될 수 있다. 추가의 경우에, 사이토카인의 농도 또는 투여량이 제공될 수 있다.

[0079] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "효력"은 표적 효과를 생성하는 데 필요한 사이토카인(예를 들어, IL-2 폴리펩티드)의 양을 지칭한다. 일부 경우에, 용어 "효력"은 표적 사이토카인 수용체(예를 들어, IL-2 수용체)를 활성화하는 데 필요한 사이토카인(예를 들어, IL-2 폴리펩티드)의 양을 지칭한다. 다른 경우에, 용어 "효력"은 표적 세포 집단을 활성화하는 데 필요한 사이토카인(예를 들어, IL-2 폴리펩티드)의 양을 지칭한다. 일부 경우에, 효력은 ED50(유효 용량 50), 또는 최대 효과의 50%를 생성하는 데 필요한 용량으로서 측정된다. 다른 경우에, 효력은 EC50(유효 농도 50), 또는 집단의 50%에서 표적 효과를 생성하는 데 필요한 용량으로서 측정된다.

[0080] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "비천연 아미노산"은 20개의 자연 발생 아미노산 중 하나 이외의 아미노산을 지칭한다. 예시적인 비천연 아미노산은 문헌[Young et al., "Beyond the canonical 20 amino acids: expanding the genetic lexicon," *J. of Biological Chemistry* **285**(15): 11039-11044 (2010)]에 기술되어 있으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0081] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 단클론 항체, 다클론 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체) 및 항체 단편을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 다양한 항체 구조를 포함한다. "항체 단편"은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$; 디아바디, 선형 항체, 단쇄 항체 분자(예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 항원은 EGFR이다.

[0082] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단클론 항체(들)"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉 집단에 포함되는 개별 항체들은 가능한 변이 항체, 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 포함하거

나 단클론 항체 제제의 생산 동안 발생하는 항체를 제외하고는 동일하고/하거나, 동일한 에피토프에 결합하며, 상기 변이체는 일반적으로 소량으로 존재한다. 상이한 결정기들(에피토프들)에 대해 유도된 상이한 항체들을 전형적으로 포함하는 다클론 항체 제제와는 대조적으로, 단클론 항체 제제의 각 단클론 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 유도된다. 따라서, "단클론"이라는 수식어는 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 수득되는 항체의 특질을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생성을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단클론 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 및 모든 인간 면역글로불린 유전자좌 또는 이의 일부를 포함하는 트랜스제닉 동물을 사용하는 방법을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 다양한 기술들에 의해 제조될 수 있으며, 이러한 방법 및 단클론 항체를 제조하는 다른 예시적인 방법은 본원에 기술되어 있다.

[0083] 본원에서 사용되는 바와 같이, "뉴클레오티드"는 뉴클레오시드 모이어티 및 포스페이트 모이어티를 포함하는 화합물을 지칭한다. 예시적인 천연 뉴클레오티드는 제한 없이, 아데노신 트리포스페이트(ATP), 우리딘 트리포스페이트(UTP), 시티딘 트리포스페이트(CTP), 구아노신 트리포스페이트(GTP), 아데노신 디포스페이트(ADP), 우리딘 디포스페이트(UDP), 시티딘 디포스페이트(CDP), 구아노신 디포스페이트(GDP), 아데노신 모노포스페이트(AMP), 우리딘 모노포스페이트(UMP), 시티딘 모노포스페이트(CMP), 및 구아노신 모노포스페이트(GMP), 데옥시아데노신 트리포스페이트(dATP), 데옥시티미딘 트리포스페이트(dTTP), 데옥시시티딘 트리포스페이트(dCTP), 데옥시구아노신 트리포스페이트(dGTP), 데옥시아데노신 디포스페이트(dADP), 티미딘 디포스페이트(dTDP), 데옥시시티딘 디포스페이트(dCDP), 데옥시구아노신 디포스페이트(dGDP), 데옥시아데노신 모노포스페이트(dAMP), 데옥시티미딘 모노포스페이트(dTMP), 데옥시시티딘 모노포스페이트(dCMP), 및 데옥시구아노신 모노포스페이트(dGMP)를 포함한다. 당 모이어티로서 데옥시리보스를 포함하는 예시적인 천연 데옥시리보뉴클레오티드는 dATP, dTTP, dCTP, dGTP, dADP, dTDP, dCDP, dGDP, dAMP, dTMP, dCMP, 및 dGMP를 포함한다. 당 모이어티로서 리보스를 포함하는 예시적인 천연 리보뉴클레오티드는 ATP, UTP, CTP, GTP, ADP, UDP, CDP, GDP, AMP, UMP, CMP, 및 GMP를 포함한다.

[0084] 본원에서 사용되는 바와 같이, "염기" 또는 "핵염기"는 일부 경우에 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드의 당 부분에 대한 추가 변형을 함유할 수 있는 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드(뉴클레오시드 및 뉴클레오티드는 리보 또는 데옥시리보 변이체를 포함함)의 적어도 핵염기 부분을 지칭한다. 일부 경우에, "염기"는 또한 전체 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드를 나타내기 위해 사용된다(예를 들어, "염기"는 DNA 중합효소에 의해 DNA에 혼입되거나, RNA 중합효소에 의해 RNA에 혼입될 수 있음). 그러나, 용어 "염기"는 문맥에서 요구하지 않는 한 반드시 전체 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드를 나타내는 것으로 해석되어서는 안 된다. 염기 또는 핵염기의 본원에 제공된 화학 구조에서, 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드의 염기만이 도시되어 있으며, 당 모이어티 및 선택적으로 임의의 포스페이트 잔기는 명확성을 위해 생략되어 있다. 염기 또는 핵염기의 본원에 제공된 화학 구조에서 사용된 바와 같이, 물결선은 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드의 당 부분이 추가로 변형될 수 있는, 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드에 대한 연결을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 물결선은 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드의 오탄당과 같은 당 부분에 대한 염기 또는 핵염기의 부착을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 오탄당은 리보스 또는 데옥시리보스이다.

[0085] 일부 실시 형태에서, 핵염기는 일반적으로 뉴클레오시드의 복소환식 염기 부분이다. 핵염기는 천연 발생일 수 있고/있거나, 변형될 수 있고/있거나, 천연 염기와 유사하지 않을 수 있고/있거나, 예를 들어 유기 합성에 의해 합성될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 핵염기는 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드 내의 임의의 원자 또는 원자단을 포함하고, 여기서 원자 또는 원자단은 수소 결합을 사용하거나 사용하지 않고서 다른 핵산의 염기와 상호작용할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 비천연 핵염기는 천연 핵염기로부터 유래되지 않는다. 비천연 핵염기가 반드시 기본적인 특성들을 가지는 것은 아니지만, 단순성을 위해 핵염기라고 칭한다는 점에 유의해야 한다. 일부 실시 형태에서, 핵염기를 언급할 때, "(d)"는 핵염기가 데옥시리보스 또는 리보스에 부착될 수 있음을 나타내는 반면, 괄호가 없는 "d"는 핵염기가 데옥시리보스에 부착됨을 나타낸다.

[0086] 본원에서 사용되는 바와 같이, "뉴클레오시드"는 핵염기 모이어티 및 당 모이어티를 포함하는 화합물이다. 뉴클레오시드는 천연 발생 뉴클레오시드(DNA 및 RNA에서 발견됨), 비염기성 뉴클레오시드, 변형된 뉴클레오시드, 및 모방 염기 및/또는 당 기를 갖는 뉴클레오시드를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 뉴클레오시드는 임의의 다양한 치환기를 포함하는 뉴클레오시드를 포함한다. 뉴클레오시드는 핵산 염기와 당의 환원기 사이의 글리코시드 연결을 통해 형성된 글리코시드 화합물일 수 있다.

[0087] 화학 구조의 "유사체"는, 이 용어가 본원에서 사용되는 경우, 비록 그것이 모 구조로부터 합성에 의해 쉽게 유도되지 않을 수 있지만, 모 구조와의 실질적인 유사성을 보존하는 화학 구조를 지칭한다. 일부 실시 형태에서,

뉴클레오티드 유사체는 비천연 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 뉴클레오시드 유사체는 비천연 뉴클레오시드이다. 모 화학 구조로부터 합성에 의해 쉽게 유도되는 관련 화학 구조는 "유도체"로 지칭된다.

[0088] 본원에서 사용되는 바와 같이, "용량 제한 독성"(DLT)은 치료 사이클의 제1일~제29일(종점 포함) ±1일 이내에 발생하는 유해 사례로 정의되는데, 이는 명백하거나 논란의 여지가 없이 전적으로 외부 원인과 관련이 없었고 DLT에 대한 실시예 5에 개시된 기준을 충족한다.

[0089] 본원에서 사용되는 바와 같이, "세툭시맙"은 Eli Lilly and Co.에 의해 브랜드명 "Erbitux"로 판매되는 키메라(마우스/인간) 항-EGFR 항체를 지칭한다.

[0090] 본 발명의 다양한 특징이 단일 실시 형태의 맥락에서 기술될 수 있지만, 이러한 특징들은 또한 별개로 또는 임의의 적합한 조합으로 제공될 수 있다. 반대로, 명확성을 위해 별개의 실시 형태의 맥락에서 본 발명이 본원에 기술될 수 있지만, 본 발명은 또한 단일 실시 형태로 구현될 수 있다.

[0091] **IL-2 콘쥬게이트**

[0092] 인터류킨 2(IL-2)는 구조가 15.5 kDa의 4개 α-나선 다발을 포함하는 다면발현성 1형 사이토카인이다. IL-2의 전구체 형태는 길이가 153개 아미노산 잔기이고, 이때 처음 20개 아미노산이 신호 펩티드를 형성하고 잔기 21~153이 성숙 형태를 형성한다. IL-2는 주로, 항원 자극 후 CD4+ T 세포에 의해, 그리고 더 적은 정도로, CD8+ 세포, 자연 살해(NK) 세포 및 자연 살해 T(NKT) 세포, 활성화 수지상 세포(DC) 및 비만 세포에 의해 생성된다. IL-2 신호전달은 IL-2 수용체(IL-2R) 서브유닛, IL-2Rα(CD25로도 공지됨), IL-2Rβ(CD122로도 공지됨) 및 IL-2Rγ(CD132로도 공지됨)의 특정 조합과의 상호작용을 통하여 일어난다. IL-2와 IL-2Rα의 상호작용은 "저 친화성" IL-2 수용체 복합체를 형성하며, 이때 K_d는 약 10^{-8} M이다. IL-2와 IL-2Rβ 및 IL-2Rγ의 상호작용은 "중간 친화성" IL-2 수용체 복합체를 형성하며, 이때 K_d는 약 10^{-9} M이다. IL-2와 모든 3가지 서브유닛, IL-2Rα, IL-2Rβ 및 IL-2Rγ와의 상호작용은 "고 친화성" IL-2 수용체 복합체를 형성하며, 이때 K_d는 약 10^{-11} M 초과이다.

[0093] 일부 예에서, "고 친화성" IL-2RαβγC 복합체를 통한 IL-2 신호전달은 조절 T 세포의 활성화 및 증식을 조절한다. 조절 T 세포 또는 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 조절 T(Treg) 세포는 이펙터 세포, 예컨대 $CD4^+$ T 세포, $CD8^+$ T 세포, B 세포, NK 세포, 및 NKT 세포를 억제함으로써 면역 항상성의 유지를 매개한다. 일부 경우에, Treg 세포는 흉선(tTreg 세포)으로부터 생성되거나 말초의 나이브(naïve) T 세포(pTreg 세포)로부터 유도된다. 일부 경우에, Treg 세포는 말초 내용성의 매개체로 간주된다. 실제로 한 연구에서, CD25-고갈 말초 $CD4^+$ T 세포의 이전은 누드 마우스에서 다양한 자가면역 질환을 생성하였으며, 반면에 $CD4^+CD25^+$ T 세포의 공동이전은 자가면역의 발달을 억제하였다(문헌[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)], 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함됨). Treg 세포 집단의 증가는 이펙터 T 세포 증식을 하향조절하고 자가면역 및 T 세포 항종양 반응을 억제한다.

[0094] "중간 친화성" IL-2RβγC 복합체를 통한 IL-2 신호전달은 $CD8^+$ 이펙터 T(Teff) 세포, NK 세포 및 NKT 세포의 활성화 및 증식을 조절한다. $CD8^+$ Teff 세포(세포독성 T 세포, Tc 세포, 세포독성 T 림프구, CTL, T-살해 세포, 세포용해 T 세포, Tcon 또는 살해 T 세포로도 공지됨)는 손상된 세포, 암세포 및 병원체-감염 세포를 인식하여 사멸시키는 T 림프구이다. NK 및 NKT 세포는 $CD8^+$ Teff 세포와 유사하게 암세포 및 병원체-감염 세포를 표적화하는 림프구 유형이다.

[0095] 일부 경우에, IL-2 신호전달은 T 세포 반응을 조절하기 위해 그리고 후속하여 암의 치료를 위해 사용된다. 예를 들어, IL-2는 암 치료를 위해 Teff 세포 집단의 확장을 유도하도록 고용량 형태로 투여된다. 그러나 고용량 IL-2는 항종양 면역 반응을 약화시키는 수반되는 Treg 세포 자극을 추가로 초래한다. 고용량 IL-2는 또한 2형 선천성 면역 세포(ILC-2), 호산구 및 내피 세포를 포함한 혈관계에서의 IL-2R 알파 사슬 발현 세포의 관여에 의해 매개되는 독성 유해 사례를 유발한다. 이것은 호산구 증가증, 모세 혈관 누출 및 혈관 누출 증후군(VLS)을 초래한다.

[0096] 입양 세포 요법은 의사가 환자 자신의 면역 세포를 효과적으로 활용하여 증식성 질환(예를 들어, 암) 및 감염성 질환과 같은 질환에 대항할 수 있게 한다. IL-2 신호전달의 효과는 병용 요법에서 추가 제제 또는 방법의 존재

에 의해 추가로 증강될 수 있다. 예를 들어, 표피 성장 인자 수용체(EGFR)는 많은 유형의 암에서 과발현되는 세포 표면 수용체이다. EGFR의 활성화는 세포 증식 및 생존과, 혈관신생을 촉진하여 종양의 성장 및 전이를 초래한다. 세포 성장 및 혈관신생은 표피 성장 인자(EGF)에 대한 EGFR의 결합을 차단함으로써 조절될 수 있다. 항-EGFR 항체는 EGFR의 세포외 도메인에 결합하고 EGF가 EGFR에 결합하는 것을 방지하여 하류 신호 전달 캐스케이드를 억제하고 세포 성장을 감소시킨다. 항-EGFR 항체는 형질전환 성장 인자 알파(TGF-α)가 EGFR에 결합하는 것을 또한 경쟁적으로 억제함으로써 동일한 효과를 야기할 수 있다.

[0097] 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에서 제공되며, 본 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 항-EGFR 항체를 투여하는 단계를 포함한다. 특정한 예시적인 IL-2 폴리펩티드 및 IL-2 콘쥬게이트가 표 1에 제공된다.

[0098] [표 1]

[0099]

명칭	서열	서열 번호
IL-2 (호모 사피엔스 (homo sapiens)) (성숙 형태)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	1
IL-2 (호모 사피엔스) (전구체) NCBI 수탁 번호: AAB46883.1	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	2
알데스류킨	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	3
IL-2_C125S	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFSQSIISTLT	4
IL-2_P65X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM	5

	LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**X**LEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_E62X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**X**LKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFSQSIISTLT	6
IL-2_F42X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**X**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFSQSIISTLT	7
IL-2_K43X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**X**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFSQSIISTLT	8
IL-2_K35X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**X**LTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFSQSIISTLT	9
IL-2_P65[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK]**LEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLT	10
IL-2_E62[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK]**LKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLT	11
IL-2_F42[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLT	12
IL-2_K43[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLT	13
IL-2_K35[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK]**L TRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLT	14
IL-2_P65[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG]**LEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	15
IL-2_E62[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG]**LKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	16
IL-2_F42[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM	17

[0100]

	LT**[AzK_PEG]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_K43[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_PEG]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	18
IL-2_K35[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_P EG]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	19
IL-2_P65[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG5kD]**LEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	20
IL-2_E62[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG5kD]**LKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	21
IL-2_F42[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_PEG5kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	22
IL-2_K43[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_PEG5kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	23
IL-2_K35[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_P EG5kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	24
IL-2_P65[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG30kD]**LE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	25
IL-2_E62[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG30kD]**LKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	26
IL-2_F42[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	27
IL-2_K43[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	28
IL-	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_P**	29

[0101]

2_K35[AzK_PEG30kD]	**EG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_P65X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**X**LEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	30
IL-2_E62X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**X**LKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	31
IL-2_F42X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML T**X**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	32
IL-2_K43X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TF**X**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	33
IL-2_K35X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**X**LTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSIISTLT	34
IL-2_P65[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK]**LEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLT	35
IL-2_E62[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK]**LKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLT	36
IL-2_F42[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML T**[AzK]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLT	37
IL-2_K43[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TF**[AzK]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLT	38
IL-2_K35[AzK]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK]**LT RMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLT	39
IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG]**LEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	40
IL-2_E62[AzK_	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML	41

[0102]

L1_PEG]-1	TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG]**LKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML T**[AzK_L1_PEG]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	42
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TF**[AzK_L1_PEG]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	43
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L1_PEG]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	44
IL-2_P65[AzK_ L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG5kD]**L EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	45
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG5kD]**LKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	46
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML T**[AzK_L1_PEG5kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	47
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TF**[AzK_L1_PEG5kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	48
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L1_PEG5kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	49
IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG30kD]** LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	50
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG30kD]**LKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	51
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML T**[AzK_L1_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	52
IL-2_K43[AzK_	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML	53

[0103]

L1_PEG30kD]-1	TF**[AzK_L1_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L1 _PEG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	54
IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG]**LEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	55
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG]**LKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	56
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_L1_PEG]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	57
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_L1_PEG]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	58
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L 1_PEG]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	59
IL-2_P65[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG5kD]** LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	60
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG5kD]**LKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	61
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_L1_PEG5kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	62
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_L1_PEG5kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	63
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L 1_PEG5kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	64
IL-2_P65[AzK_	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM	65

[0104]

L1_PEG30kD]-2	LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_L1_PEG30kD]**LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_E62[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_L1_PEG30kD]**LK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	66
IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LT**[AzK_L1_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	67
IL-2_K43[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTF**[AzK_L1_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	68
IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_L 1_PEG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK PLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	69
IL-2_P65[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG]**LEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	70
IL-2_E62[AzK_ PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG]**LKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	71
IL-2_F42[AzK_ PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML T**[AzK_PEG]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	72
IL-2_K43[AzK_ PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TF**[AzK_PEG]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNL AQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	73
IL-2_K35[AzK_ PEG]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_PE G]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNL AQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	74
IL-2_P65[AzK_ PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG5kD]**LEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	75
IL-2_E62[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG5kD]**LKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	76
IL-	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML	77

[0105]

2_F42[AzK_PEG5kD]-1	T**[AzK_PEG5kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	
IL-2_K43[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TF**[AzK_PEG5kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	78
IL-2_K35[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_PEG5kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	79
IL-2_P65[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK**[AzK_PEG30kD]**LEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	80
IL-2_E62[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEE**[AzK_PEG30kD]**LKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	81
IL-2_F42[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML T**[AzK_PEG30kD]**KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	82
IL-2_K43[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TF**[AzK_PEG30kD]**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	83
IL-2_K35[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP**[AzK_PEG30kD]**LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	84
IL-2_F44X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFK**X**YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	85
IL-2_F44X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFK**X**YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT	86
IL-2_R38X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLT**X**M LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	87
IL-2_R38X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLT**X**ML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT	88
IL-2_T41X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM	89

[0106]

	LXFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	
IL-2_T41X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML XFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT	90
IL-2_E68X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEXVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	91
IL-2_E68X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEXVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT	92
IL-2_Y45X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFXMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	93
IL-2_Y45X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFXMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT	94
IL-2_V69X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEXLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	95
IL-2_V69X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEXLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT	96
IL-2_L72X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNXAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFCQSIISTLT	97
IL-2_L72X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNXAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT	98

[0107] **X** = 비천연 아미노산을 포함하는 부위.

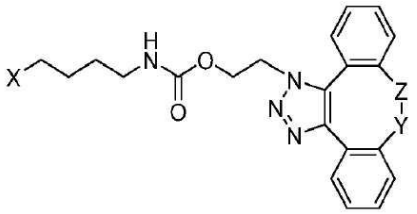
[0108] **[AzK]** = Chemical Abstracts 등록 번호 1167421-25-1을 갖는 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신.

[0109] **[AzK_PEG]** = 화학식 II 또는 화학식 III의 구조를 포함하는 화합물을 형성하도록, N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신이 DBCO-매개 클릭 화학을 통하여 PEG에 안정하게 콘쥬게이션된 것. 예를 들어, 명시된 경우, PEG5kD는 메톡시 기로 캡핑된, 평균 분자량이 5 kDa인 선형 폴리에틸렌 글리콜 사슬을 나타낸다. 클릭 반응으로부터 생성된 위치이성질체들의 비는 약 1:1 또는 1:1 초과이다. 용어 "DBCO"는 디벤조시클로옥틴 기를 포함하는 화학 모이어티를 의미한다.

[0110] **[AzK_L1_PEG]** = 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 포함하는 화합물을 형성하도록 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신이 DBCO-매개 클릭 화학을 통하여 PEG에 안정하게 콘쥬게이션된 것. 예를 들어, 명시된 경우, PEG5kD는 메톡시 기로 캡핑된, 평균 분자량이 5 kDa인 선형 폴리에틸렌 글리콜 사슬을 나타낸다. 클릭 반응으로부터 생성된 위치이성질체들의 비는 약 1:1 또는 1:1 초과이다. 용어 "DBCO"는 디벤조시클로옥틴 기를 포함하는 화학 모이어티를 의미한다.

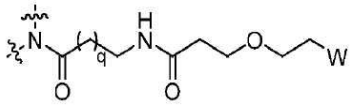
[0111] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 I의 구조로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

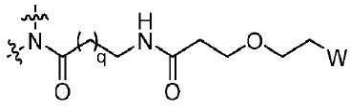
[0112] [화학식 I]

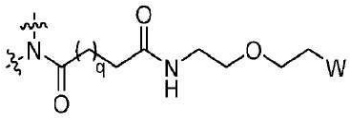


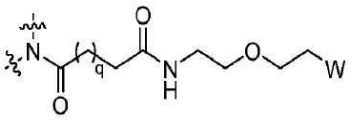
[0113]

[0114] 여기서,

[0115] Z는 CH_2이고 Y는  이거나;

[0116] Y는 CH_2이고 Z는  이거나;

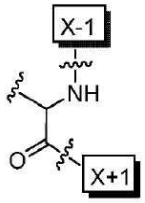
[0117] Z는 CH_2이고 Y는  이거나; 또는

[0118] Y는 CH_2이고 Z는  이며;

[0119] W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0120] q는 1, 2 또는 3이며;

[0121] X는 하기 구조:

[0122]  를 가지며;

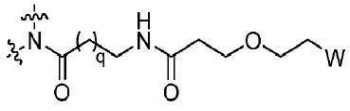
[0123] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

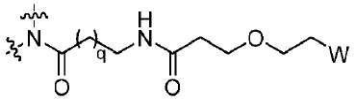
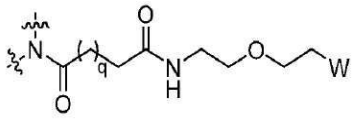
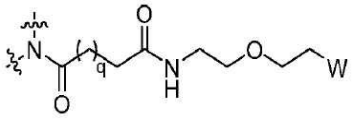
[0124] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0125] IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다.

[0126] 본원에 기술된 화학식 I의 임의의 실시 형태 또는 변형에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 용매화물이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 수화물이다.

[0127] 본원에 기술된 화학식 I의 일부 실시 형태 또는 변형에서, X는 L-아미노산이다.

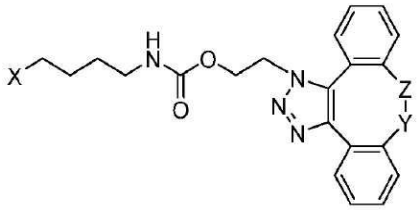
[0128] 화학식 I의 일부 실시 형태에서, Z는 CH_2이고 Y는  이다.

[0129] 화학식 I의 일부 실시 형태에서, Y는 CH_2이고 Z는  이다. 화학식 I의 일부 실시 형태에서, Z는 CH_2이고 Y는  이다. 화학식 I의 일부 실시 형태에서, Y는 CH_2이고 Z는  이다.

[0130] 화학식 I의 일부 실시 형태에서, q는 1이다. 화학식 I의 일부 실시 형태에서, q는 2이다. 화학식 I의 일부 실시 형태에서, q는 3이다.

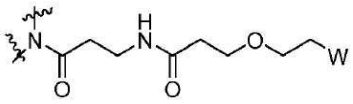
[0131] 화학식 I의 일부 실시 형태에서, q는 1이고 화학식 I의 구조는 하기 화학식 Ia의 구조이다:

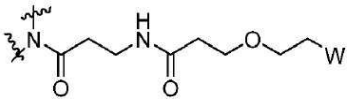
[0132] [화학식 Ia]

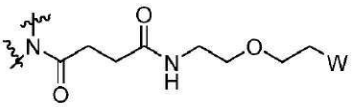


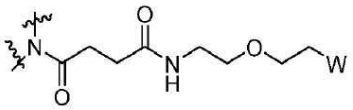
[0133]

[0134] 여기서,

[0135] Z는 CH_2이고 Y는  이거나;

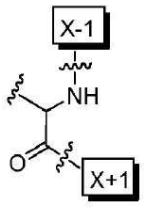
[0136] Y는 CH_2이고 Z는  이거나;

[0137] Z는 CH_2이고 Y는  이거나; 또는

[0138] Y는 CH_2이고 Z는  이며;

[0139] W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0140] X는 하기 구조:

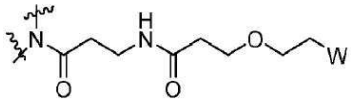
[0141] 

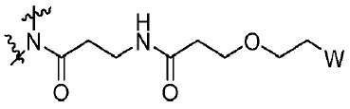
를 가지며;

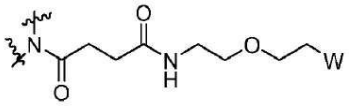
[0142] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

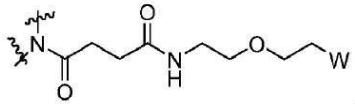
[0143] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

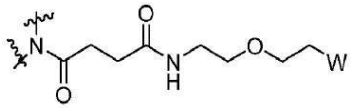
[0144] IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 Ia의 구조의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다.

[0145] 화학식 Ia의 일부 실시 형태에서, Z는 CH_2이고 Y는 

이다. 화학식 Ia의 일부 실시 형태에서, Y는 CH_2이고 Z는 

이다. 화학식 Ia의 일부 실시 형태에서, Z는 CH_2이고 Y는 

이다. 화학식 Ia의 일부 실시 형태에서, Z는 CH_2이고 Y는 

이다. 화학식 Ia의 일부 실시 형태에서, Y는 CH_2이고 Z는 

이다.

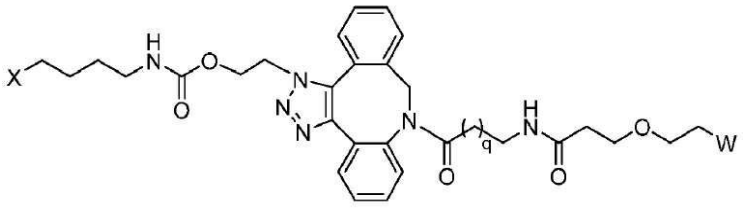
[0146] 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5 kDa, 10 kDa, 20 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 10 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 15 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 20 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 25 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 35 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 40 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 50 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 60 kDa의 평균 분자량을 갖는다.

[0147] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 F41, E61, 및 P64로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 K34이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 F41이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 F43으로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 K42이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는

E61이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 P64이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 R37이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 T40이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 E67로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 Y44이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 V68이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조는 L71이며, 여기서, IL-10 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다.

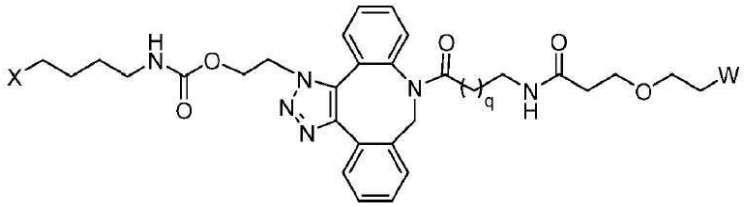
[0148] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15~19 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 조합을 갖는다:

[0149] [화학식 II]



[0150]

[0151] [화학식 III]

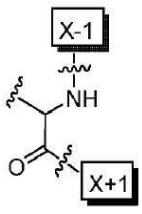


[0152]

[0153] W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0154] q는 1, 2 또는 3이며;

[0155] X는 하기 구조:



[0156] 를 가지며;

[0157] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

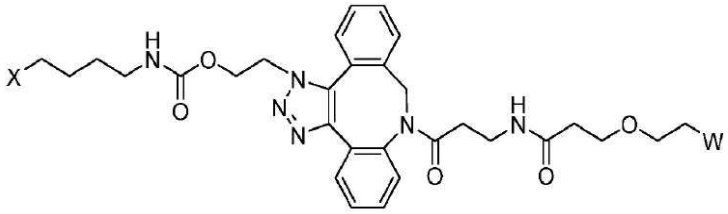
[0158] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0159] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 II의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 III의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을

포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

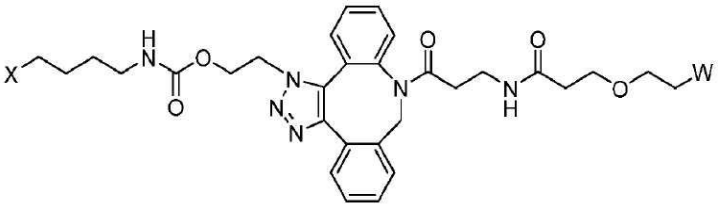
[0160] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, 화학식 II 및 화학식 III의 구조는 하기 화학식 IIa 및 화학식 IIIa의 구조이다:

[0161] [화학식 IIa]



[0162]

[0163] [화학식 IIIa]

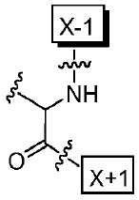


[0164]

[0165] 여기서,

[0166] W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0167] X는 하기 구조:

[0168] 
를 가지며;

[0169] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0170] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0171] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 II와 화학식 III의 조합이다. 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 IIa와 화학식 IIIa의 조합이다.

[0172] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 II의 구조를 갖는다. 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 IIa의 구조를 갖는다.

[0173] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 III의 구조를 갖는다. 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 IIIa의 구조를 갖는다.

[0174] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0175] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG

기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0176] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0177] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 18의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0178] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 19의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0179] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 III의 구조를 갖는다. 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 IIIa의 구조를 갖는다.

[0180] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0181] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0182] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0183] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 18의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

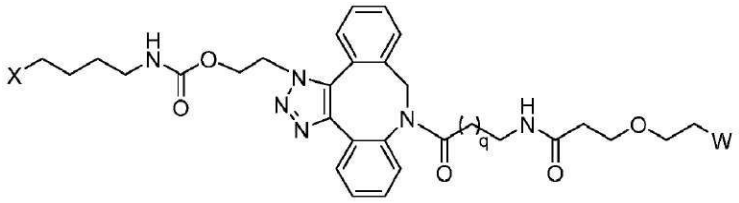
[0184] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 19의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0185] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, 여기서, [AzK_PEG]는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며,

[AzK_PEG]는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 10 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 15 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 20 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 25 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 35 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 40 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 50 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유하며, 여기서, PEG 기는 메톡시 PEG 기, 선형 메톡시 PEG 기, 또는 분지형 메톡시 PEG 기이다.

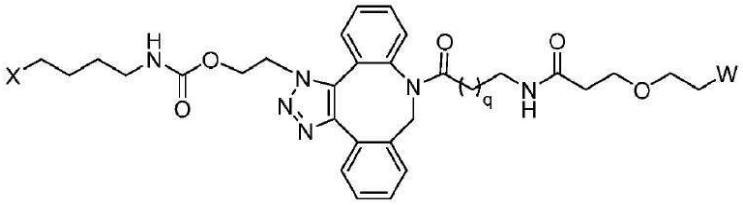
[0186] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 20~24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물을 갖는다:

[0187] [화학식 II]



[0188]

[0189] [화학식 III]



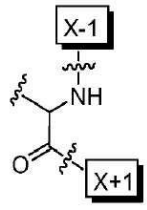
[0190]

[0191] 여기서,

[0192] W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0193] q는 1, 2 또는 3이며;

[0194] X는 하기 구조:

[0195] 

를 가지며;

[0196] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

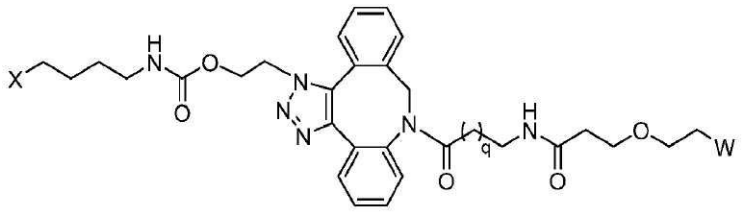
[0197] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0198] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG5kD]는 화학식 IIa 또는 화학식 IIIa의 구조, 또는 화학식 IIa와 화학식 IIIa의 혼합물이다.

[0199] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 20의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 21의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 22의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 23의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는다.

[0200] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 II의 구조를 갖는다:

[0201] [화학식 II]

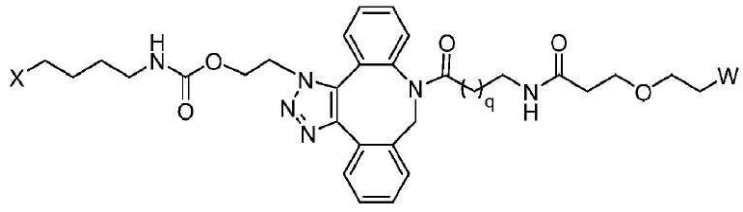
[0202] 

.

[0203] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG5kD]는 화학식 IIa의 구조를 갖는다.

[0204] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 III의 구조를 갖는다:

[0205] [화학식 III]

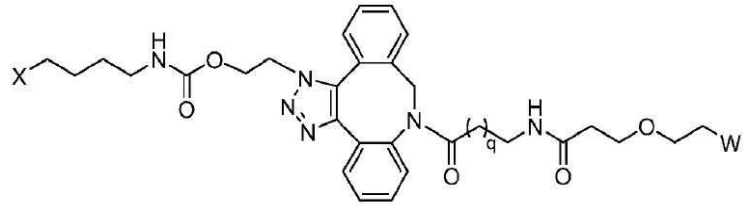
[0206] 

.

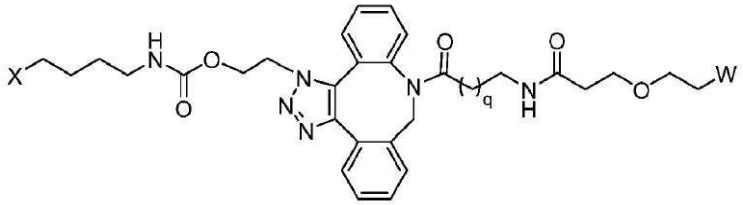
[0207] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG5kD]는 화학식 IIIa의 구조를 갖는다.

[0208] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 25~29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조를 갖거나, 또는 하기 화학식 II의 구조와 화학식 III의 구조의 혼합물이다:

[0209] [화학식 II]

[0210] 

[0211] [화학식 III]



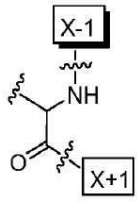
[0212]

[0213] 여기서,

[0214] W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0215] q는 1, 2 또는 3이며;

[0216] X는 하기 구조:



[0217] 를 가지며;

[0218] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

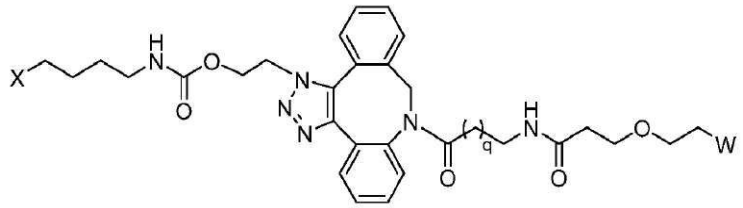
[0219] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0220] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG30kD]는 화학식 IIa 또는 화학식 IIIa의 구조를 갖거나, 또는 화학식 IIa의 구조와 화학식 IIIa의 구조의 혼합물이다.

[0221] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 27의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 28의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 29의 아미노산 서열을 갖는다.

[0222] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 II의 구조를 갖는다:

[0223] [화학식 II]

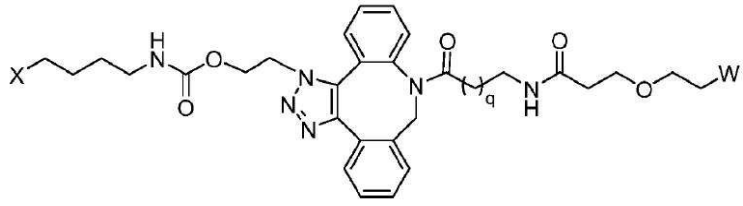


[0224] .

[0225] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG30kD]는 화학식 IIa의 구조를 갖는다.

[0226] 일부 실시 형태에서, 본 방법은 [AzK_PEG30kD]가 하기 화학식 III의 구조를 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0227] [화학식 III]

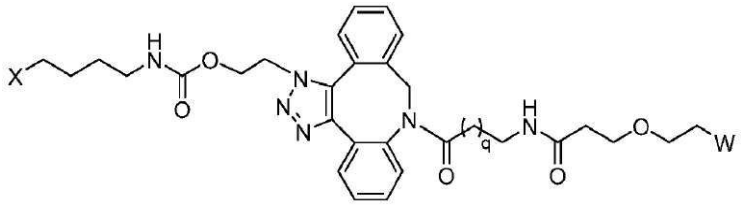


[0228]

[0229] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG30kD]는 화학식 IIIa의 구조를 갖는다.

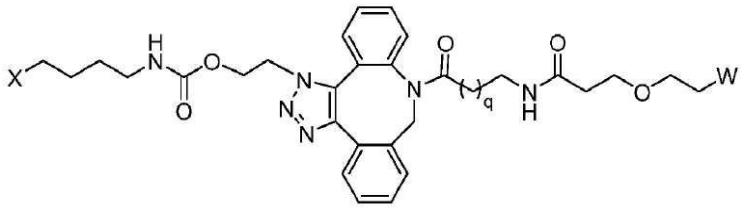
[0230] 일부 실시 형태에서, [AzK_PEG]는 하기 화학식 II의 구조와 화학식 III의 구조의 혼합물이다:

[0231] [화학식 II]



[0232]

[0233] [화학식 III]



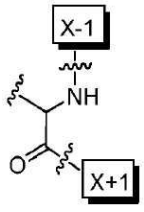
[0234]

[0235] 여기서,

[0236] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0237] q는 1, 2 또는 3이며;

[0238] X는 하기 구조:



[0239] 를 가지며;

[0240] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0241] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

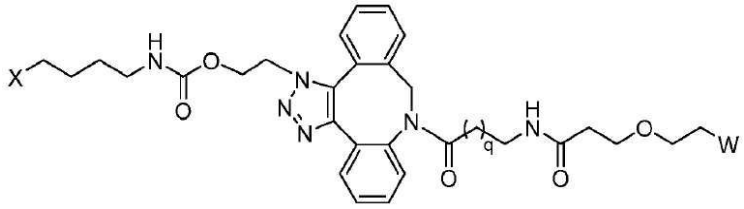
[0242] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG]는 화학식 IIa의 구조와 화학식 IIIa의 구조의 혼합물이다.

[0243] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG] 양을 포함함)의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG] 양을 포함함)의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG] 양을 포함함)의 비는 1:1 미만이다.

[0244] 일부 실시 형태에서, W는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, W는 선형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, W는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, W는 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 메톡시 PEG 기는 선형 또는 분지형이다. 일부 실시 형태에서, 메톡시 PEG 기는 선형이다. 일부 실시 형태에서, 메톡시 PEG 기는 분지형이다.

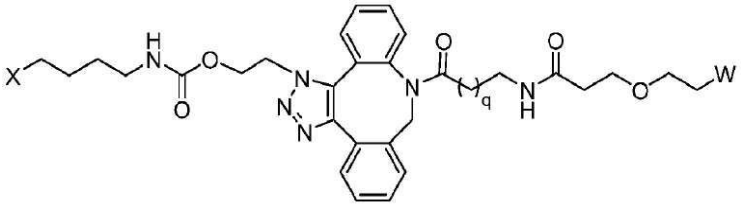
[0245] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 20~24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 II의 구조와 화학식 III의 구조의 혼합물이다:

[0246] [화학식 II]



[0247]

[0248] [화학식 III]



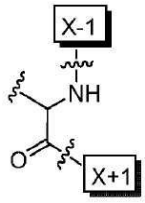
[0249]

[0250] 여기서,

[0251] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0252] q는 1, 2 또는 3이며;

[0253] X는 하기 구조:



[0254] 를 가지며;

[0255] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

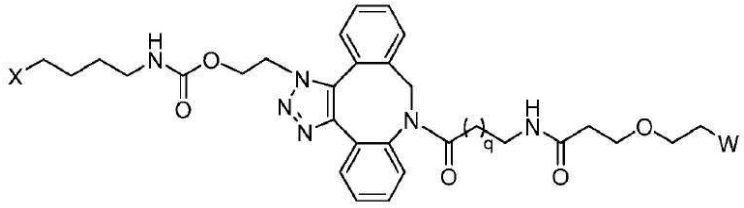
[0256] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0257] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG5kD]는 화학식 IIa의 구조와 화학식 IIIa의 구조의 혼합물이다.

[0258] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG5kD] 양을 포함함)의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG5kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG5kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 미만이다.

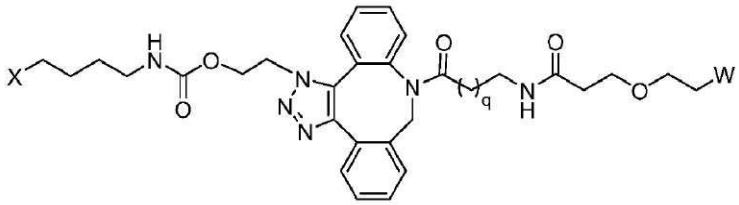
[0259] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 25~29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 II의 구조와 화학식 III의 구조의 혼합물이다:

[0260] [화학식 II]



[0261]

[0262] [화학식 III]



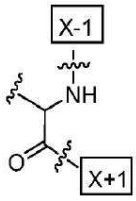
[0263]

[0264] 여기서,

[0265] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0266] q는 1, 2 또는 3이며;

[0267] X는 하기 구조:



[0268] 를 가지며;

[0269] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0270] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

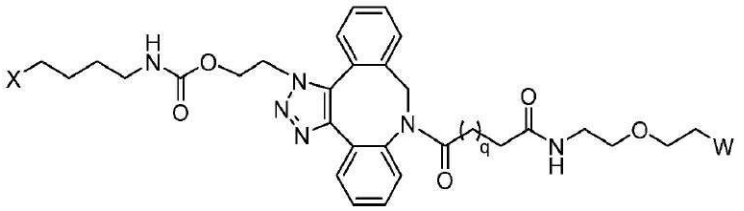
[0271] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_PEG30kD]는 화학식 IIa의 구조와 화학식 IIIa의 구조의 혼합물이다.

[0272] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG30kD] 양을 포함함)의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG30kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 II의 구조의 양:화학식 III의 구조의 양(총 [AzK_PEG30kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 미만이다.

[0273] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물, 또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 포함하며, 여기서, W는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W는 선형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W는 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W는 선형 또는 분지형인 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 메톡시 PEG 기는 선형이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 메톡시 PEG 기는 분지형이다.

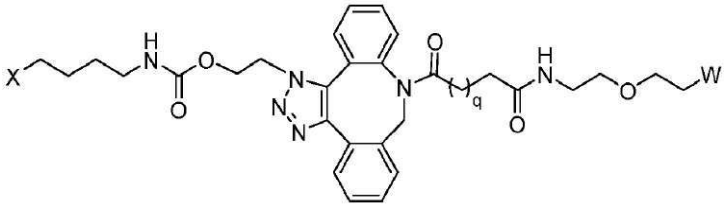
[0274] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물을 갖는다:

[0275] [화학식 IV]



[0276]

[0277] [화학식 V]



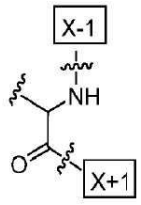
[0278]

[0279] 여기서,

[0280] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0281] q는 1, 2 또는 3이며;

[0282] X는 하기 구조:



[0283] 를 가지며;

[0284] X-1은 선행하는 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

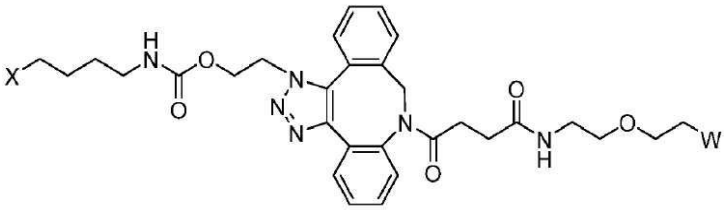
[0285] X+1은 후속하는 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0286] 화학식 IV 또는 화학식 V, 또는 화학식 IV 또는 화학식 V의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 1이다. 화학식 IV 또는 화학식 V, 또는 화학식 IV 또는 화학식 V의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 2이다. 화학식 IV 또는 화학식 V, 또는 화학식 IV 또는 화학식 V의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 3이다.

[0287] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 IV의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 V의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

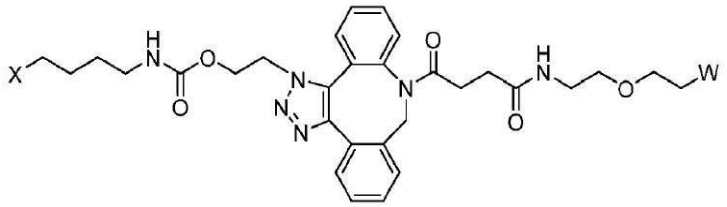
[0288] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, 화학식 IV 및 화학식 V의 구조는 하기 화학식 IVa 및 화학식 Va의 구조이다:

[0289] [화학식 IVa]



[0290]

[0291] [화학식 Va]



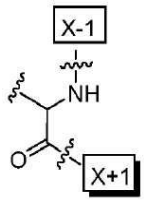
[0292]

[0293] 여기서,

[0294] W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터

선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0295] X는 하기 구조:

[0296] 

를 가지며;

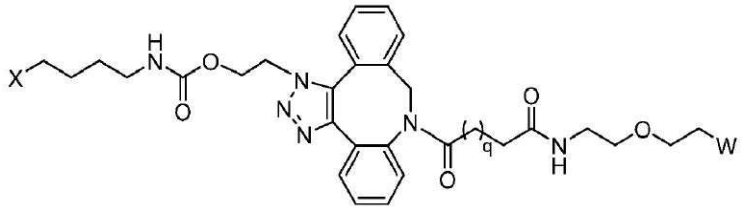
[0297] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0298] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0299] 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG]는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물이다. 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG]는 화학식 IVa와 화학식 Va의 혼합물이다.

[0300] 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 IV의 구조를 갖는다:

[0301] [화학식 IV]

[0302] 

.

[0303] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG]는 화학식 IVa의 구조를 갖는다.

[0304] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0305] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 41의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0306] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 42의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

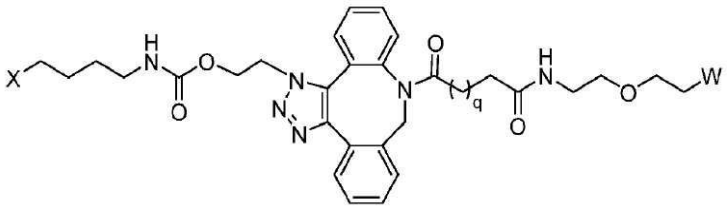
[0307] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 43의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0308] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 44의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG

기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0309] 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 V의 구조를 갖는다:

[0310] [화학식 V]

[0311] 

[0312] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG]는 화학식 V의 구조를 갖는다.

[0313] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0314] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 41의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0315] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 42의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

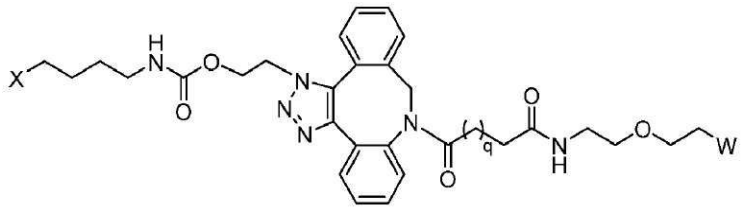
[0316] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 43의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0317] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 10 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 15 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 20 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 25 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 35 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 40 kDa의 평균

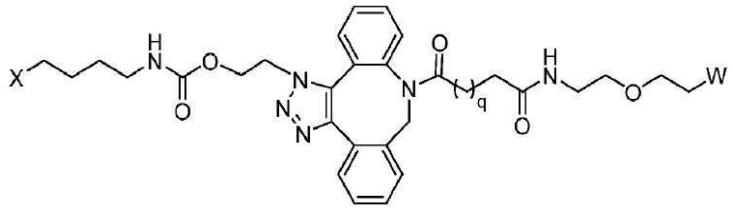
분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 50 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유하며, 여기서, PEG 기는 메톡시 PEG 기, 선형 메톡시 PEG 기, 또는 분지형 메톡시 PEG 기이다.

[0318] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물을 갖는다:

[0319] [화학식 IV]

[0320] 

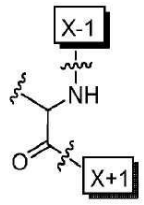
[0321] [화학식 V]

[0322] 

[0323] 여기서,

[0324] W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0325] X는 하기 구조:

[0326] 

[0327] 를 가지며;

[0328] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

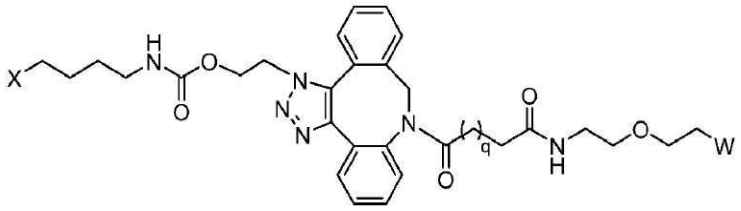
[0329] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0330] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG5kD]는 화학식 IVa 또는 화학식 Va의 구조, 또는 화학식 IVa와 화학식 Va의 혼합물이다.

[0331] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 45의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 46의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 47의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 48의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 49의 아미노산 서열을 갖는다.

[0332] 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 IV의 구조를 갖는다:

[0333] [화학식 IV]

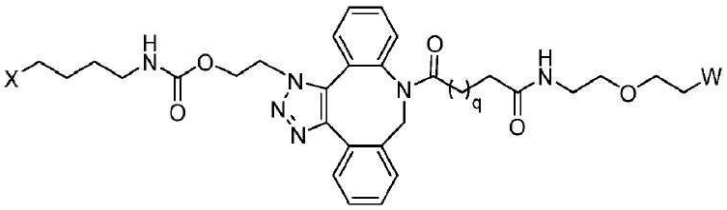


[0334] .

[0335] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG5kD]는 화학식 IVa의 구조를 갖는다.

[0336] 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 V의 구조를 갖는다:

[0337] [화학식 V]

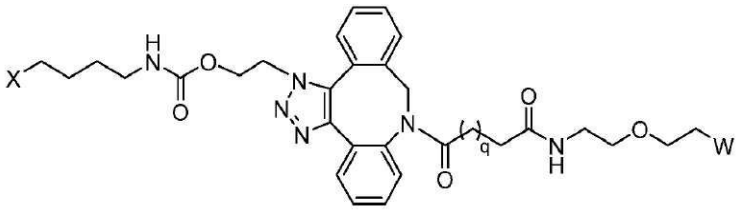


[0338] .

[0339] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG5kD]는 화학식 Va의 구조를 갖는다.

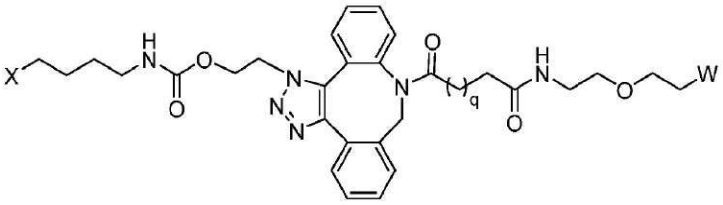
[0340] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 갖거나, 또는 화학식 IV의 구조와 화학식 V의 구조의 혼합물이다:

[0341] [화학식 IV]



[0342]

[0343] [화학식 V]



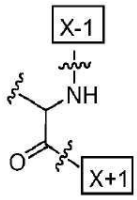
[0344]

[0345] 여기서,

[0346] W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0347] q는 1, 2 또는 3이며;

[0348] X는 하기 구조:

[0349] 

를 가지며;

[0350] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

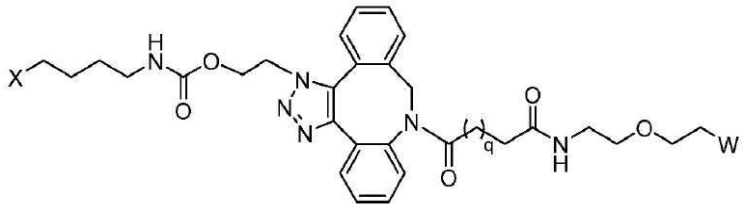
[0351] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0352] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 IVa 또는 화학식 Va의 구조를 갖거나, 또는 화학식 IVa의 구조와 화학식 Va의 구조의 혼합물이다.

[0353] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 51의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 52의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 53의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 54의 아미노산 서열을 갖는다.

[0354] 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 IV의 구조를 갖는다:

[0355] [화학식 IV]

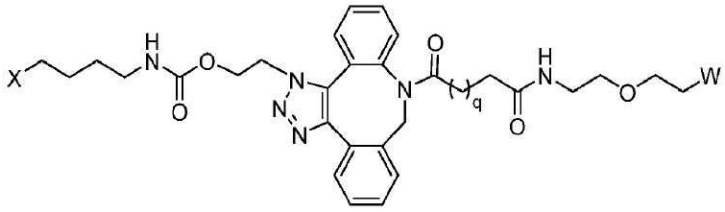
[0356] 

.

[0357] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 IVa의 구조를 갖는다.

[0358] 일부 실시 형태에서, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 V의 구조를 갖는다:

[0359] [화학식 V]

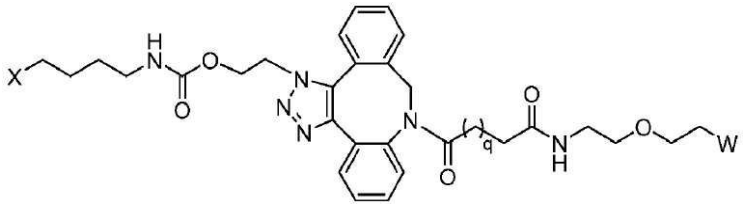
[0360] 

.

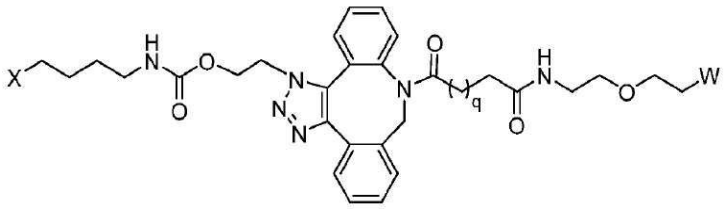
[0361] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 Va의 구조를 갖는다.

[0362] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [Azk_L1_PEG]는 하기 화학식 IV의 구조와 화학식 V의 구조의 혼합물이다:

[0363] [화학식 IV]

[0364] 

[0365] [화학식 V]



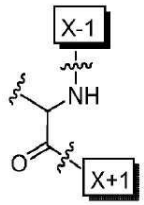
[0366]

[0367] 여기서,

[0368] W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0369] q는 1, 2 또는 3이며;

[0370] X는 하기 구조:



[0371] 를 가지며;

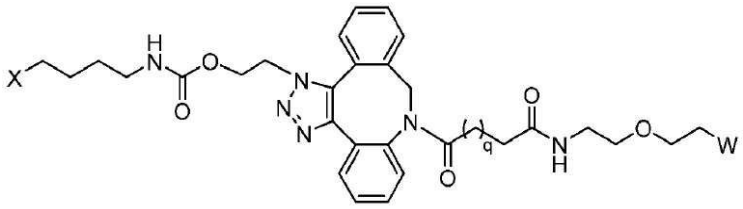
[0372] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0373] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0374] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG] 양을 포함함)의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG] 양을 포함함)의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG] 양을 포함함)의 비는 1:1 미만이다.

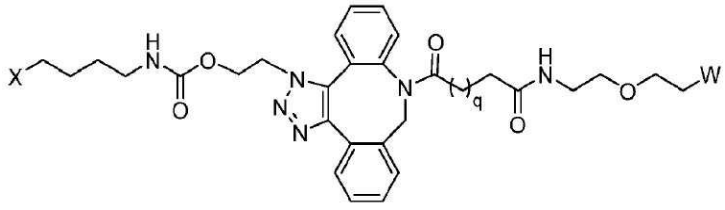
[0375] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 IV의 구조와 화학식 V의 구조의 혼합물이다:

[0376] [화학식 IV]



[0377]

[0378] [화학식 V]



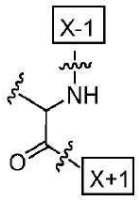
[0379]

[0380] 여기서,

[0381] W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0382] q는 1, 2 또는 3이며;

[0383] X는 하기 구조:



[0384] 를 가지며;

[0385] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

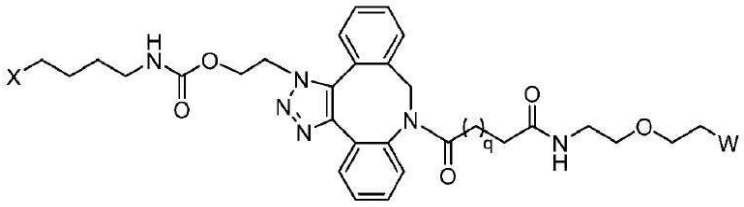
[0386] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0387] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1_PEG5kD]는 화학식 IVa의 구조와 화학식 Va의 구조의 혼합물이다.

[0388] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_ PEG5kD] 양을 포함함)의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG5kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG5kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 미만이다.

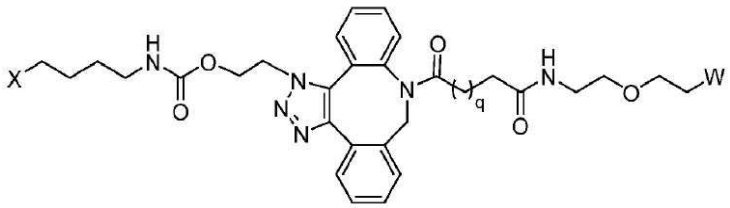
[0389] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1 PEG30kD]는 하기 화학식 IV의 구조와 화학식 V의 구조의 혼합물이다:

[0390] [화학식 IV]



[0391]

[0392] [화학식 V]



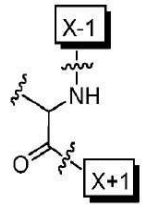
[0393]

[0394] 여기서,

[0395] W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0396] q는 1, 2 또는 3이며;

[0397] X는 하기 구조:



[0398] 를 가지며;

[0399] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0400] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

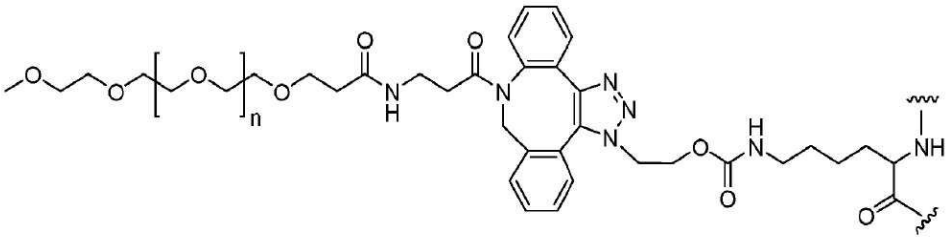
[0401] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, [AzK_L1 PEG30kD]는 화학식 IVa의 구조와 화학식 Va의 구조의 혼합물이다.

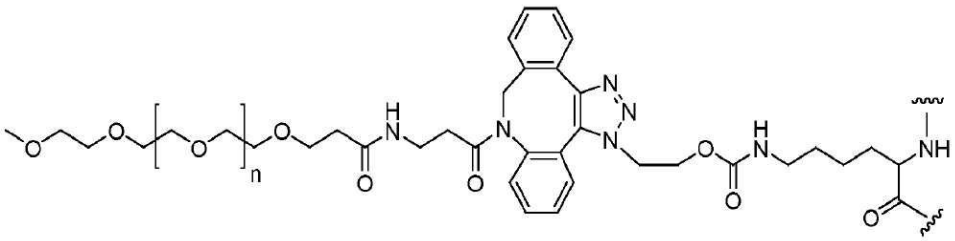
[0402] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG30kD] 양을 포함함)의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG30kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 중 화학식 IV의 구조의 양:화학식 V의 구조의 양(총 [AzK_L1_PEG30kD] 양을 포함함)의 비는 1:1 미만이다.

[0403] 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 10 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 15 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 20 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 25 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 35 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 40 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 50 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 55 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 V의 구조에서 W는 약 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0404] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 IL-2 콘쥬게이트는 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물을 포함하며, 여기서, W는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W는 선형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W는 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W는 선형 또는 분지형인 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 메톡시 PEG 기는 선형이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 메톡시 PEG 기는 분지형이다.

[0405] 본원에 기술된 방법에 사용된 IL-2 콘쥬게이트와 관련하여, 메톡시 PEG 기의 예시적인 구조는 하기 mPEG-DBCO 구조에 예시되어 있다.

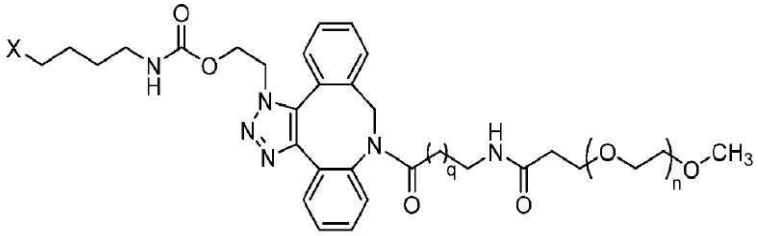




[0406]

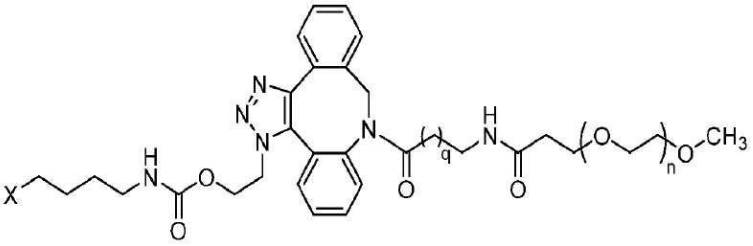
[0407] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0408] [화학식 VI]



[0409]

[0410] [화학식 VII]



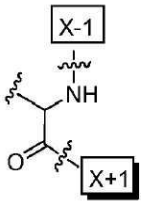
[0411]

[0412] 여기서,

[0413] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0414] q는 1, 2 또는 3이며;

[0415] X는 하기 구조:



[0416] 를 가지며;

[0417] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

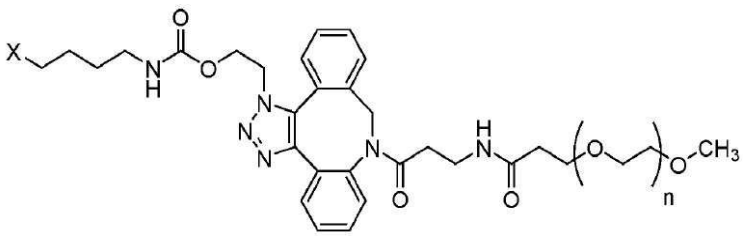
[0418] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0419] 화학식 VI 또는 화학식 VII, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 1이다. 화학식 VI 또는 화학식 VII, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 2이다. 화학식 VI 또는 화학식 VII, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 3이다.

[0420] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 VI의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 VII의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

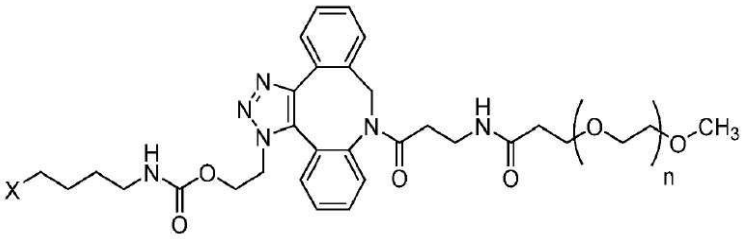
[0421] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, 화학식 VI 및 화학식 VII의 구조는 하기 화학식 VIa 및 화학식 VIIa의 구조이다:

[0422] [화학식 VIa]



[0423]

[0424] [화학식 VIIa]

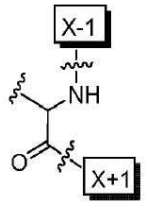


[0425]

[0426] 여기서,

[0427] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0428] X는 하기 구조:



[0429] 를 가지며;

[0430] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0431] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0432] 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0433] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 VII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 K34에 있다. 일부 실시 형태에서, 서

열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 F41에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 F43에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 K42에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 E61에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 P64에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 R37에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 T40에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 E67에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 Y44에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 V68에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 위치 L71에 있다.

[0434] 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 VI의 구조의 양:화학식 VII의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 VI의 구조의 양:화학식 VII의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 VI의 구조의 양:화학식 VII의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.

[0435] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI와 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0436] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0437] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는

VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0438] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0439] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

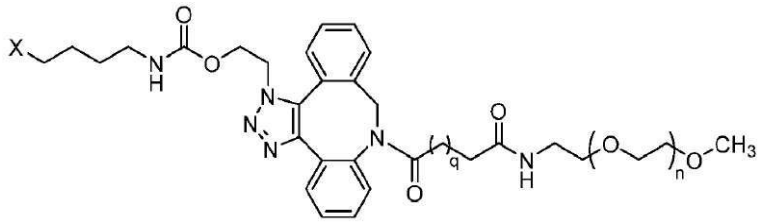
[0440] 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 구조에서의 n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 내지 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0441] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 Da, 약 7,500 Da, 약 10,000 Da, 약 15,000 Da, 약 20,000 Da, 약 25,000 Da, 약 30,000 Da, 약 35,000 Da, 약 40,000 Da, 약 45,000 Da, 약 50,000 Da, 약 60,000 Da, 약 70,000 Da, 약 80,000 Da, 약 90,000 Da, 약 100,000 Da, 약 125,000 Da, 약 150,000 Da, 약 175,000 Da 또는 약 200,000 Da이 되도록 하는 정수이다.

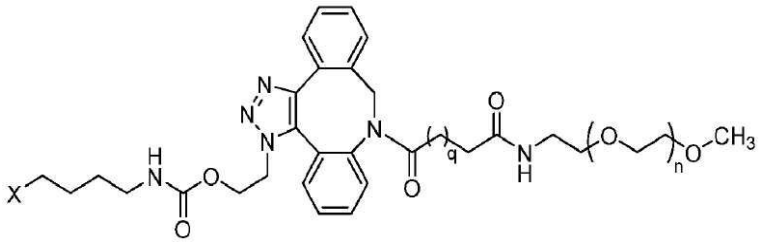
[0442] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 Da, 약 7,500 Da, 약 10,000 Da, 약 15,000 Da, 약 20,000 Da, 약 25,000 Da, 약 30,000 Da, 약 35,000 Da, 약 40,000 Da, 약 45,000 Da, 또는 약 50,000 Da이 되도록 하는 정수이다.

[0443] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 VIII 또는 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0444] [화학식 VIII]

[0445] 

[0446] [화학식 IX]

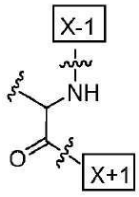
[0447] 

[0448] 여기서,

[0449] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0450] q는 1, 2 또는 3이며;

[0451] X는 하기 구조:

[0452] 

를 가지며;

[0453] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

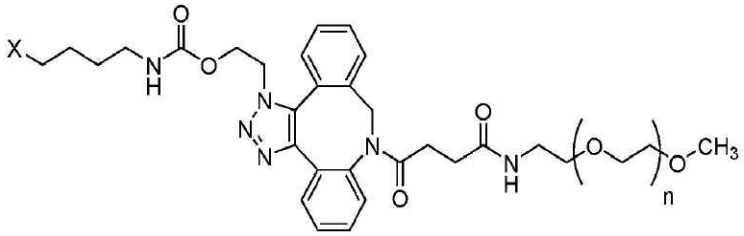
[0454] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0455] 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 1이다. 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 2이다. 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 3이다.

[0456] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 VIII의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 IX의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

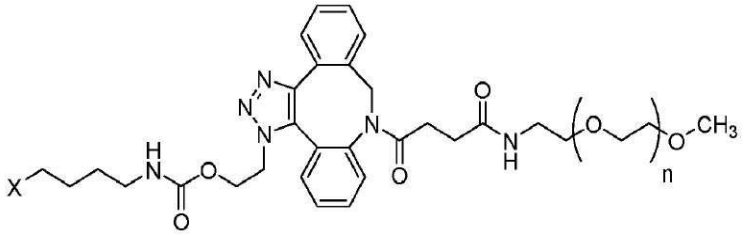
[0457] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 구조는 하기 화학식 VIIIa 또는 화학식 IXa의 구조이다:

[0458] [화학식 VIIIa]



[0459]

[0460] [화학식 IXa]

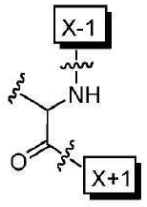


[0461]

[0462] 여기서,

[0463] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0464] X는 하기 구조:



[0465] 를 가지며;

[0466] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0467] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0468] 일부 실시 형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0469] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX, 또는 이들의 혼합물의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 K34에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 F41에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 F43에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 K42에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 E61에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 P64에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 R37에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 T40에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 E67에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 Y44에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 V68에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 위치 L71에 있다.

[0470] 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 VIII의 구조의 양:화학식 IX의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 VIII의 구조의 양:화학식 IX의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 VIII의 구조의 양:화학식 IX의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.

[0471] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선

택되는 정수이다.

[0472] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0473] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0474] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

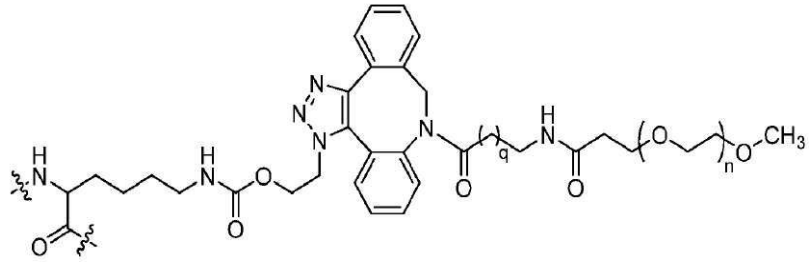
[0475] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0476] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트SMS IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약

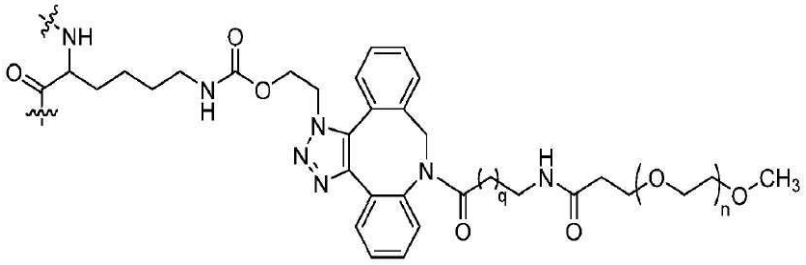
25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0477] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0478] [화학식 X]

[0479] 

[0480] [화학식 XI]

[0481] 

[0482] 여기서,

[0483] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0484] q는 1, 2 또는 3이며;

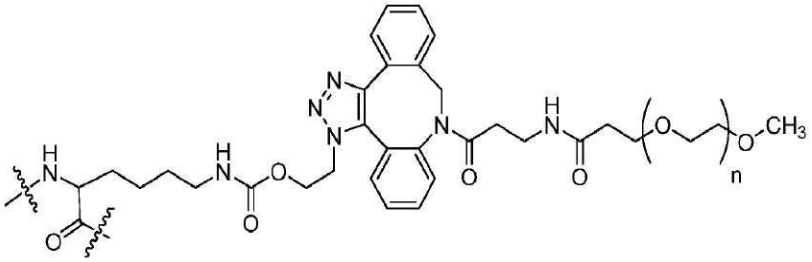
[0485] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0486] 화학식 X 또는 화학식 XI, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 1이다. 화학식 X 또는 화학식 XI, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 2이다. 화학식 X 또는 화학식 XI, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 3이다.

[0487] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 X의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 XI의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

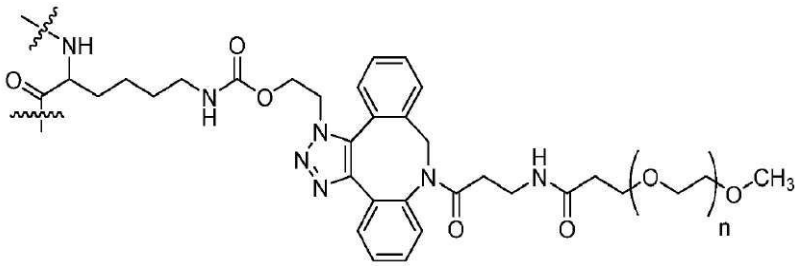
[0488] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, 화학식 X 및 화학식 XI의 구조는 하기 화학식 Xa 및 화학식 XIa의 구조이다:

[0489] [화학식 Xa]



[0490]

[0491] [화학식 XIa]



[0492]

[0493] 여기서,

[0494] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0495] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0496] 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.

[0497] 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0498] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 이들의 혼합물의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치가 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는 IL-2 콘쥬게이트. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 K34에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 F41에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 F43에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 K42에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 E61에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 P64에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 R37에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 T40에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 E67에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 Y44에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 V68에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 위치 L71에 있다.

[0499] 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 X의 구조의 양:화학식 XI의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 X의 구조의 양:화학식 XI의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 X의 구조의 양:화학식 XI의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.

[0500] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0501] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X과 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0502] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0503] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0504] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0505] 일부 실시 형태에서, 화학식 X과 화학식 XI의 구조에서의 n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

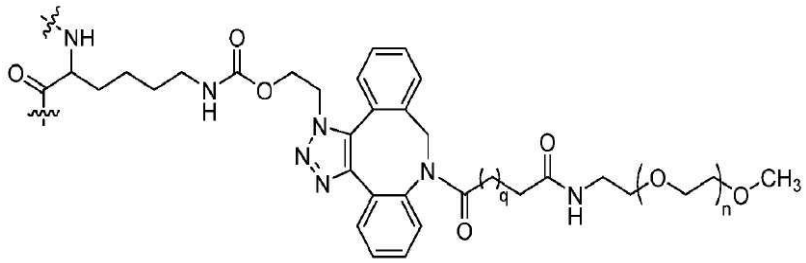
[0506] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000

달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0507] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

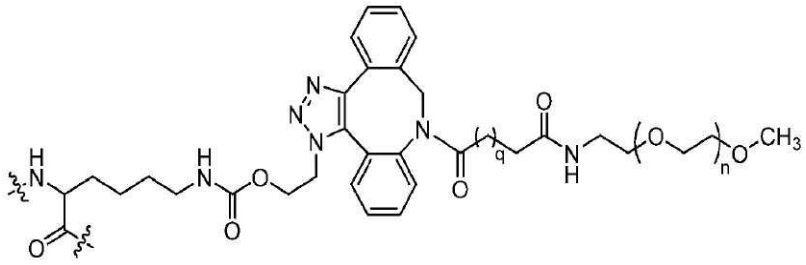
[0508] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0509] [화학식 XII]



[0510]

[0511] [화학식 XIII]



[0512]

[0513] 여기서,

[0514] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0515] q는 1, 2 또는 3이며;

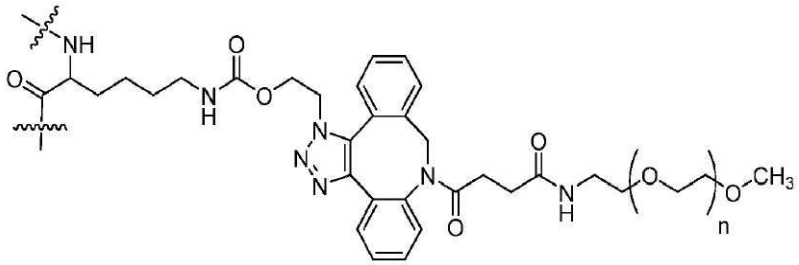
[0516] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0517] 화학식 XII 또는 화학식 XIII, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 1이다. 화학식 XII 또는 화학식 XIII, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 2이다. 화학식 XII 또는 화학식 XIII, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 3이다.

[0518] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 XII의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 XIII의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

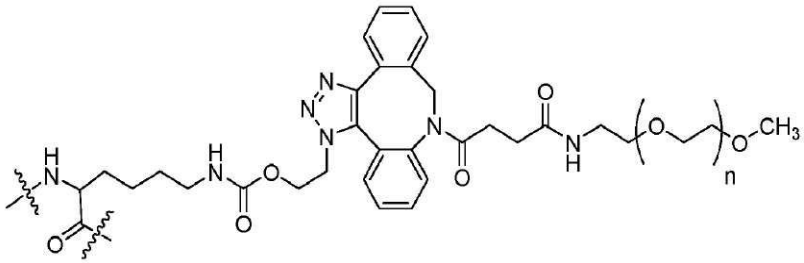
[0519] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 구조는 하기 화학식 XIIa 및 화학식 XIIIa의 구조이다:

[0520] [화학식 XIIa]



[0521]

[0522] [화학식 XIIIa]



[0523]

[0524] 여기서,

[0525] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0526] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0527] 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII와 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.

[0528] 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0529] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 K34에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 F41에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 F43에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 K42에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 E61에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 P64에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 R37에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 T40에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 E67에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 Y44에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 V68에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 L71에 있다.

[0530] 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XII의 구조의 양:화학식 XIII의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XII의 구조의 양:화학식 XIII의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XII의 구조의 양:화학식 XIII의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.

[0531] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0532] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0533] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0534] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0535] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

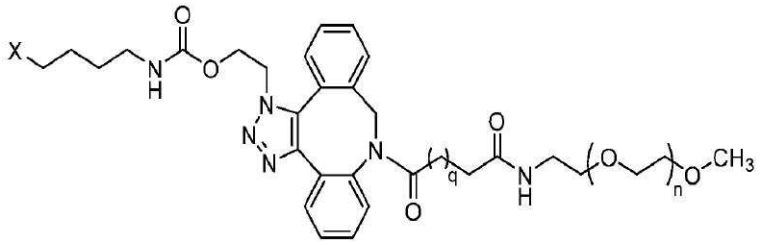
[0536] 일부 실시 형태에서, 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조에서의 n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0537] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며,

여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

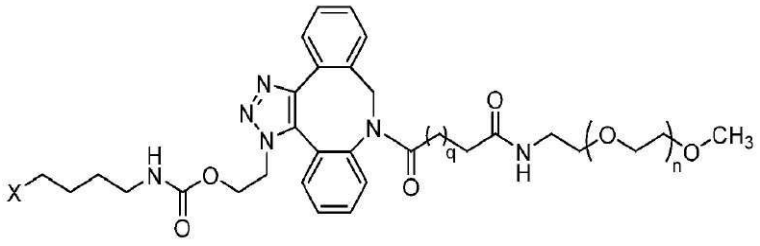
[0538] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 하기 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0539] [화학식 VIII]



[0540]

[0541] [화학식 IX]



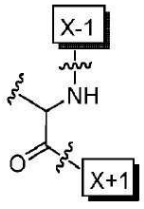
[0542]

[0543] 여기서,

[0544] n은 PEG 기의 분자량이 약 15,000 달톤 내지 약 60,000 달톤이 되도록 하는 정수이며;

[0545] q는 1, 2 또는 3이며;

[0546] X는 하기 구조:



[0547] 를 가지며;

[0548] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0549] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

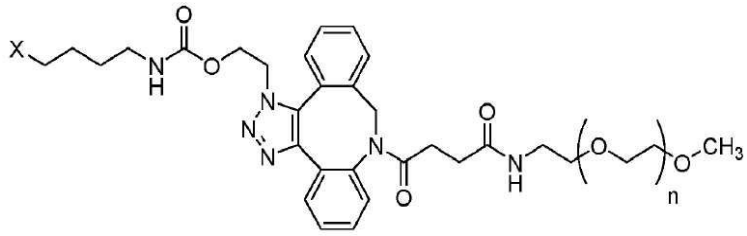
[0550] 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 1이다. 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 2이다. 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 일부 실시 형태에서, q는 3이다.

[0551] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 VIII의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 IX의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을

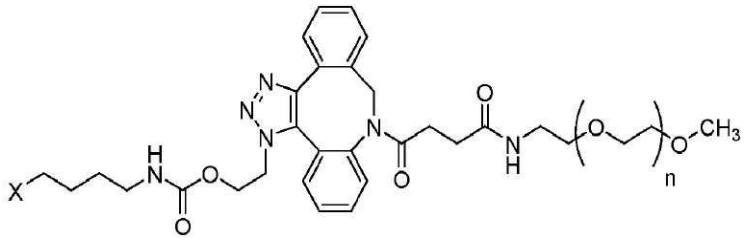
포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0552] 일부 실시 형태에서, q는 1이고, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 구조는 하기 화학식 VIIIa 및 화학식 IXa의 구조이다:

[0553] [화학식 VIIIa]

[0554] 

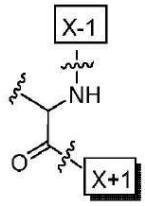
[0555] [화학식 IXa]

[0556] 

[0557] 여기서,

[0558] n은 PEG 기의 분자량이 약 15,000 달톤 내지 약 60,000 달톤이 되도록 하는 정수이며;

[0559] X는 하기 구조:

[0560] 

를 가지며;

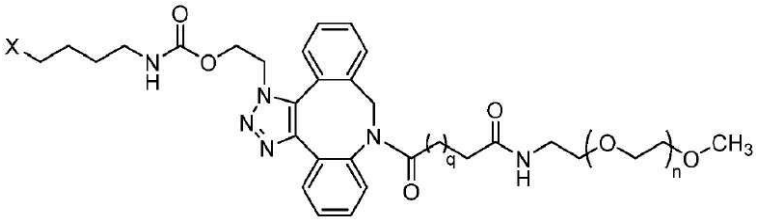
[0561] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0562] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0563] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 E61에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 P64에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

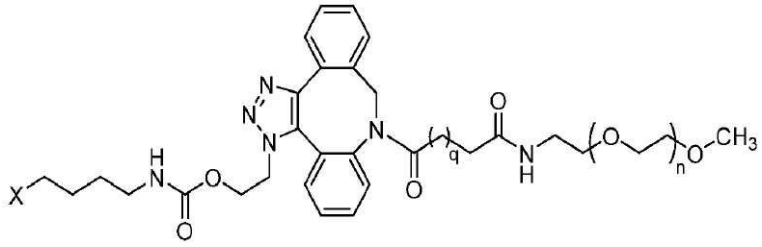
[0564] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 하기 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0565] [화학식 VIII]



[0566]

[0567] [화학식 IX]



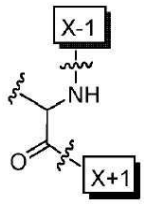
[0568]

[0569] 여기서,

[0570] n은 PEG 기의 분자량이 약 15,000 달톤 내지 약 60,000 달톤이 되도록 하는 정수이며;

[0571] q는 1, 2 또는 3이며;

[0572] X는 하기 구조:

[0573] 
를 가지며;

[0574] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0575] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0576] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 E61에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 P64에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0577] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 PEG 기에 공유 결합된 시스테인으로 대체된 서열 번호 1, 서열 번호 3, 또는 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택된 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 5 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 10 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 15 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 20 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 25 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 30 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 35 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 40 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 45 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 50 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 60 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 K34, T36, R37, T40, F41, K42, F43, Y44, E60, E61, E67, K63, P64, V68, L71, 및 Y106으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게

이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 K34, T40, F41, K42, Y44, E60, E61, E67, K63, P64, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 K35, T37, R38, T41, F42, K43, F44, Y45, E61, E62, E68, K64, P65, V69, L72, 및 Y107로부터 선택된다.

[0578] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 하나 이상의 비-라이신 잔기가 링커 및 수용성 중합체를 포함하는 라이신으로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 수용성 중합체는 PEG 기이다.

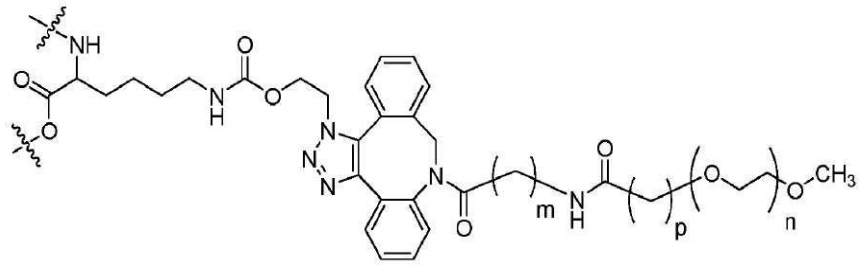
[0579] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 비-분리성(non-releasable) 연결을 통해 공유 결합된 PEG 기를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 비-분리성, 공유 결합 PEG 기를 포함한다.

[0580] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트에서의 비-라이신 아미노산은 라이신 잔기로 대체되고, 라이신 잔기는 하나 이상의 수용성 중합체 및 공유 링커를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 서열 번호 3의 영역 K34~Y106에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 K34에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 F41에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 F43에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 K42에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 E61에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 P64에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 R37에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 T40에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 E67에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 Y44에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 V68에 위치되어 있다. 일부 실시 형태에서, 라이신 잔기는 L71에 위치되어 있다.

[0581] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 비-라이신 아미노산은 다음을 포함하는 아미노산으로 대체된다: (a) 라이신; (b) 공유 링커; 및 (3) 및 하나 이상의 수용성 중합체. 일부 실시 형태에서, 상기 하나 이상의 수용성 중합체는 PEG 기를 포함한다.

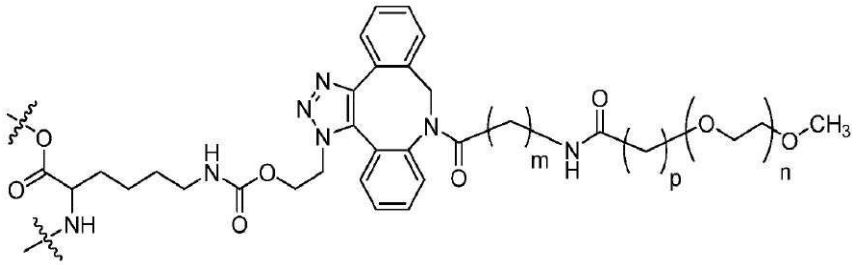
[0582] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0583] [화학식 XIV]



[0584]

[0585] [화학식 XV]



[0586]

[0587] 여기서,

[0588] m은 0 내지 20의 정수이며;

[0589] p는 0 내지 20의 정수이며;

[0590] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0591] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0592] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 XIV의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 XV의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0593] 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.

[0594] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 0 내지 20, 또는 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 1이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 2이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 3이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 4이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 5이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 6이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 7이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 8이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 9이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 10이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 11이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 12이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 13이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 14이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 15이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 16이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 17이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 18이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 19이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 20이다.

[0595] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 1 내지 20, 또는 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 1이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 2이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 3이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 4이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 5이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 6이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 7이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 8이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 9이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 10이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 11이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 12이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 13이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 14이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 15이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 16이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 17이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 18이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 19이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 20이다.

[0596] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다.

[0597] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 1 내지 6의 정수이며, p는 1 내지 6의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2 내지 6의 정수이며, p는 2 내지 6의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2 내지 4의 정수이며, p는 2 내지 4의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 1이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 3이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 4이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 5이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 6이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 7이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 8이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 9이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 10이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 11이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569,

680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 11이며, p는 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다.

[0598] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 K34에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 F41에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 F43에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 K42에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 E61에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 P64에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 R37에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 T40에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 E67에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 Y44에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 V68에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 위치 L71에 있다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XIV의 구조의 양:화학식 XV의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XIV의 구조의 양:화학식 XV의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XIV의 구조의 양:화학식 XV의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.

[0599] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약

1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0600] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0601] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0602] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0603] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0604] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약

10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트SMS IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0605] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, m은 1 내지 6의 정수이며, p는 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

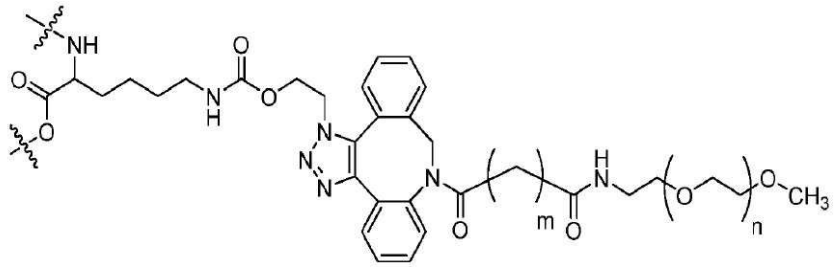
[0606] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, m은 1 내지 6의 정수이며, p는 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0607] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 E61이며, m은 1 내지 6의 정수이며, p는 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0608] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 서열 번호 3에서의 아미노산 잔기는 P64이며, m은 1 내지 6의 정수이며, p는 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

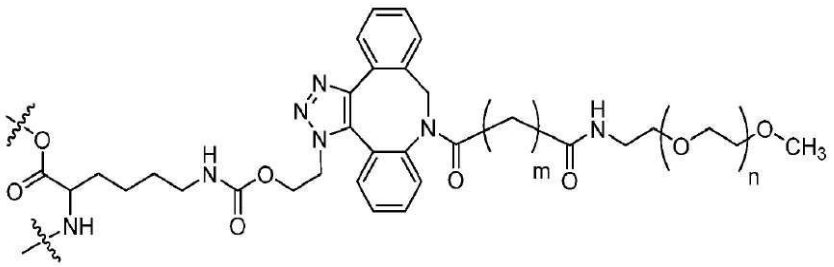
[0609] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함한다:

[0610] [화학식 XVI]



[0611]

[0612] [화학식 XVII]



[0613]

[0614] 여기서,

[0615] m은 0 내지 20의 정수이며;

[0616] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0617] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0618] 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 XVI의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원에서 그리고 전체에 걸쳐, 화학식 XVII의 구조는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0619] 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.

[0620] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 1 내지 20, 또는 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 1이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 2이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 3이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 4이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 5이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 6이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 7이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 8이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 9이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 10이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 11이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 12이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 13이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 14이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 15이다. 일부 실

시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 16이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 17이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 18이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 19이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 m은 20이다.

[0621] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다.

[0622] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 1 내지 6의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2 내지 6의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2 내지 4의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 1이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 3이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 4이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 5이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 6이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 7이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 8이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 9이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 10이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454,

455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 11이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 12이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, n은 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다.

[0623] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 서열 번호 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 K34에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 F41에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 F43에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 K42에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 E61에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 P64에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 R37에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 T40에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 E67에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 Y44에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 위치 V68에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 번호 3의 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 위치 L71에 있다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XVI의 구조의 양:화학식 XVII의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XVI의 구조의 양:화학식 XVII의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 일부 실시 형태에서, 총량의 IL-2 콘쥬게이트에 포함되는 화학식 XVI의 구조의 양:화학식 XVII의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.

[0624] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또

는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 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, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0625] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0626] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 E61 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0627] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열(대체되는 것은 E61임)을 포함하며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0628] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된(대체되는 것은 P64임) 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0629] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약

35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0630] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, m은 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0631] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 E61 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, m은 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0632] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열(대체되는 것은 E61임)을 포함하며, 여기서, m은 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0633] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 P64인, IL-2 콘쥬게이트에서의 하나 이상의 아미노산 잔기가 화학식 XVI, 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, m은 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물의 일부 실시 형태에서, m은 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시 형태에서, n은 약 681이다.

[0634] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 1~98을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15~29를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40~54를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 55~69를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 70~84를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 화학식 I의 구조를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 화학식 II의 구조를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 화학식 III의 구조를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 화학식 IV의 구조를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘

쥬게이트는 화학식 V의 구조를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 1을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 2를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 4를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 5를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 6을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 7을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 8을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 9를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 10을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 11을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 12를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 13을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 14를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 15를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 16을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 17을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 18을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 19를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 20을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 21을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 22를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 23을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 24를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 25를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 26을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 27을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 28을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 24를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 25를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 26을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 27을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 28을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 29를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 30을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 31을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 32를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 33을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 34를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 35를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 36을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 37을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 38을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 39를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 40을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 41을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 42를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 43을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 44를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 45를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 46을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 47을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 48을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 49를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 51을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 52를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 53을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 54를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 55를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 56을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 57을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 58을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 59를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 60을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 61을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 62를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 63을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 64를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 65를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 66을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 67을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 68을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 69를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 70을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 71을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 72를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 73을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 74를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 75를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 76을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 77을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘

쥬게이트는 서열 번호 78을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 79를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 80을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 81을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 82를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 83을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 84를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 85를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 86을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 87을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 88을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 89를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 90을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 91을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 92를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 93을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 94를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 95를 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 96을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 97을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 98을 포함한다.

[0635] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 86, 88, 90, 92, 94, 96, 및 98 중 어느 하나의 아미노산을 포함한다. 상기 실시 형태들 중 어느 하나에서, 화학식 I의 구조, 또는 이의 임의의 변이체, 예컨대 화학식 II~화학식 XV 또는 이의 임의의 변이체는 비천연 아미노산을 포함하는 부위에 혼입된다.

[0636] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 소정 아미노산 위치에서 변형된다. 일부 경우에, 변형은 천연 아미노산에 대한 것이다. 일부 경우에, 변형은 비천연 아미노산에 대한 것이다. 일부 경우에, 적어도 하나의 비천연 아미노산을 포함하는 단리되고 변형된 IL-2 폴리펩티드가 본원에 기술된다. 일부 경우에, IL-2 폴리펩티드는 서열 번호 3 내지 84 중 어느 하나에 대해 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함한다.

[0637] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 추가 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 추가 돌연변이는 K35, T37, R38, T41, F42, K43, F44, Y45, E61, E62, E68, K64, P65, V69, L72, 및 Y107로부터 선택되는 아미노산 위치에 있다. 이러한 경우에, 아미노산은 혈청 반감기, 안정성 또는 이들의 조합을 증가시키기 위해 추가 콘쥬게이팅 모이어티에 콘쥬게이팅된다. 대안적으로, 아미노산은 먼저 라이신, 시스테인, 히스티딘, 아르기닌, 아스파르트산, 글루탐산, 세린, 트레오닌 또는 티로신과 같은 천연 아미노산으로 돌연변이되거나; 또는 비천연 아미노산으로 돌연변이된 후 추가 콘쥬게이팅 모이어티에 결합된다.

[0638] 일부 경우에, PEG 기는 특정 구조로 제한되지는 않는다. 일부 경우에, PEG는 선형(예를 들어, 말단 캡핑된, 예컨대 알콕시 PEG 또는 이작용성 PEG), 분지형 또는 다중 아암형(예를 들어, 포크형 PEG 또는 폴리올 코어에 부착된 PEG), 수지상(또는 별) 구조이고, 각각에는 하나 이상의 분해성 연결이 있거나 없다. 또한, 수용성 중합체의 내부 구조는 다양한 반복 패턴으로 구성될 수 있고, 동종중합체, 교번 공중합체, 랜덤 공중합체, 블록 공중합체, 교번 삼원중합체, 랜덤 삼원중합체, 및 블록 삼원중합체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0639] PEG는 전형적으로 다수의 (OCH_2CH_2) 단량체[또는 PEG가 어떻게 정의되는지에 따라 (CH_2CH_2O) 단량체]를 포함할 것이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 반복 단위의 수는 "$(OCH_2CH_2)_n$"에서 아래 첨자 "n"에 의해 식별된다. 따라서, (n)의 값은 일반적으로 다음 범위 중 하나 이상에 속한다: 2 내지 약 3400, 약 100 내지 약 2300, 약 100 내지 약 2270, 약 136 내지 약 2050, 약 225 내지 약 1930, 약 450 내지 약 1930, 약 1200 내지 약 1930, 약 568 내지 약 2727, 약 660 내지 약 2730, 약 795 내지 약 2730, 약 795 내지 약 2730, 약 909 내지 약 2730, 및 약 1,200 내지 약 1,900. 분자량이 알려진 임의의 소정 중합체에 대해, 중합체의 총 중량 평균 분자량을 반복 단량체의 분자량으로 나누어 반복 단위의 수(즉, "n")를 결정할 수 있다.

[0640] 일부 경우에, PEG는 말단 캡핑된 중합체, 즉 저급 C_{1-6} 알콕시기 또는 히드록실기와 같은 비교적 불활성인 기로 캡핑된 적어도 하나의 말단을 갖는 중합체이다. 중합체가 PEG인 경우, 예를 들어, 메톡시-PEG(일반적으로 mPEG라고 함)가 사용될 수 있으며, 이는 PEG의 선형 형태로서, 중합체의 하나의 말단은 메톡시($-OCH_3$) 기이고, 다른 말단은 히드록실기 또는 필요에 따라 화학적으로 변형될 수 있는 다른 작용기이다.

[0641] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트에 포함된 PEG 기는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 선형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 선형 또는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일

부 실시 형태에서, PEG 기는 평균 분자량이 약 100 Da 내지 약 150,000 Da인 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 예시적인 범위는 예를 들어 5,000 Da 초과 내지 약 100,000 Da의 범위, 약 6,000 Da 내지 약 90,000 Da의 범위, 약 10,000 Da 내지 약 85,000 Da의 범위, 10,000 Da 초과 내지 약 85,000 Da의 범위, 약 20,000 Da 내지 약 85,000 Da의 범위, 약 53,000 Da 내지 약 85,000 Da의 범위, 약 25,000 Da 내지 약 120,000 Da의 범위, 약 29,000 Da 내지 약 120,000 Da의 범위, 약 35,000 Da 내지 약 120,000 Da의 범위, 및 약 40,000 Da 내지 약 120,000 Da의 범위의 중량 평균 분자량을 포함한다. PEG 기에 대한 예시적인 중량 평균 분자량은 약 100 Da, 약 200 Da, 약 300 Da, 약 400 Da, 약 500 Da, 약 600 Da, 약 700 Da, 약 750 Da, 약 800 Da, 약 900 Da, 약 1,000 Da, 약 1,500 Da, 약 2,000 Da, 약 2,200 Da, 약 2,500 Da, 약 3,000 Da, 약 4,000 Da, 약 4,400 Da, 약 4,500 Da, 약 5,000 Da, 약 5,500 Da, 약 6,000 Da, 약 7,000 Da, 약 7,500 Da, 약 8,000 Da, 약 9,000 Da, 약 10,000 Da, 약 11,000 Da, 약 12,000 Da, 약 13,000 Da, 약 14,000 Da, 약 15,000 Da, 약 20,000 Da, 약 22,500 Da, 약 25,000 Da, 약 30,000 Da, 약 35,000 Da, 약 40,000 Da, 약 45,000 Da, 약 50,000 Da, 약 55,000 Da, 약 60,000 Da, 약 65,000 Da, 약 70,000 Da, 약 75,000 Da, 약 80,000 Da, 약 90,000 Da, 약 95,000 Da, 및 약 100,000 Da을 포함한다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 상기에 개시된 바와 같은 평균 분자량을 갖는 선형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 상기에 개시된 바와 같은 평균 분자량을 갖는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트에 포함된 PEG 기는 정의된 분자량 ± 10%, 또는 15% 또는 20% 또는 25%를 갖는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 예를 들어, 30,000 Da ± 3000 Da, 또는 30,000 Da ± 4,500 Da, 또는 30,000 Da ± 6,000 Da의 분자량을 갖는 PEG 기를 포함하는 IL-2 콘쥬게이트는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0642] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트에 포함된 PEG 기는 평균 분자량이 약 5,000 Da 내지 약 60,000 Da인 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 5,500 Da, 약 6,000 Da, 약 7,000 Da, 약 7,500 Da, 약 8,000 Da, 약 9,000 Da, 약 10,000 Da, 약 11,000 Da, 약 12,000 Da, 약 13,000 Da, 약 14,000 Da, 약 15,000 Da, 약 20,000 Da, 약 22,500 Da, 약 25,000 Da, 약 30,000 Da, 약 35,000 Da, 약 40,000 Da, 약 45,000 Da, 약 50,000 Da, 약 55,000 Da, 약 60,000 Da, 약 65,000 Da, 약 70,000 Da, 약 75,000 Da, 약 80,000 Da, 약 90,000 Da, 약 95,000 Da, 및 약 100,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 10,000 Da, 약 20,000 Da, 약 30,000 Da, 약 50,000 Da, 또는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 30,000 Da, 약 50,000 Da, 또는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 10,000 Da, 약 20,000 Da, 약 30,000 Da, 약 50,000 Da, 또는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 10,000 Da, 약 20,000 Da, 약 30,000 Da, 약 50,000 Da, 또는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 분지형 PEG 기이다.

[0643] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트에 포함된 PEG 기는 평균 분자량이 약 5,000 Da 내지 약 60,000 Da인 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 5,500 Da, 약 6,000 Da, 약 7,000 Da, 약 7,500 Da, 약 8,000 Da, 약 9,000 Da, 약 10,000 Da, 약 11,000 Da, 약 12,000 Da, 약 13,000 Da, 약 14,000 Da, 약 15,000 Da, 약 20,000 Da, 약 22,500 Da, 약 25,000 Da, 약 30,000 Da, 약 35,000 Da, 약 40,000 Da, 약 45,000 Da, 약 50,000 Da, 약 55,000 Da, 약 60,000 Da, 약 65,000 Da, 약 70,000 Da, 약 75,000 Da, 약 80,000 Da, 약 90,000 Da, 약 95,000 Da, 및 약 100,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 10,000 Da, 약 20,000 Da, 약 30,000 Da, 약 50,000 Da, 또는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 30,000 Da, 약 50,000 Da, 또는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da, 약 10,000 Da, 약 20,000 Da, 약 30,000 Da, 약 50,000 Da, 또는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 10,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 20,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 30,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 50,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트에 포함된 PEG 기는 정의된 분자량 ± 10%, 또는 15% 또는 20% 또는 25%를 갖는 선형 메톡시 PEG 기이다. 예를 들어, 30,000 Da ± 3000 Da, 또는 30,000 Da ± 4,500 Da, 또는 30,000 Da ± 6,000 Da의 분자량을 갖는 선형 메톡시 PEG 기를 포함하는 IL-2 콘쥬게이트는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0644] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트에 포함된 PEG 기는 평균 분자량이 약 5,000 Da 내지 약 60,000 Da인 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 달톤, 약 5,500 달톤, 약 6,000 달톤, 약 7,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 8,000 달톤, 약 9,000 달톤, 약 10,000 달톤, 약 11,000 달톤, 약 12,000 달톤, 약 13,000 달톤, 약 14,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 22,500 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 55,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 65,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 75,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 95,000 달톤, 및 약 100,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 달톤, 약 10,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 50,000 달톤, 또는 약 60,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 50,000 달톤, 또는 약 60,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 달톤, 약 10,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 50,000 달톤, 또는 약 60,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 달톤, 약 10,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 50,000 달톤, 또는 약 60,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 5,000 Da의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 10,000 Da의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 20,000 Da의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 30,000 Da의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 50,000 Da의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, PEG 기는 약 60,000 Da의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트에 포함된 PEG 기는 정의된 분자량 ± 10%, 또는 15% 또는 20% 또는 25%를 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 예를 들어, 30,000 Da ± 3000 Da, 또는 30,000 Da ± 4,500 Da, 또는 30,000 Da ± 6,000 Da의 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기를 포함하는 IL-2 콘쥬게이트는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0645] 일부 실시 형태에서, 예시적인 PEG 기는 Quanta Biodesign, Ltd의 선형 또는 분지형 이산 PEG(dPEG); Nektar Therapeutics의 선형, 분지형, 또는 포크형 PEG; 및 JenKem Technology의 Y형 PEG 유도체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0646] 본원에 기술된 화학식 I의 임의의 실시 형태 또는 변형 및 이를 포함하는 제약 조성물에서, 평균 분자량은 중량 평균 분자량 및 수평균 분자량 둘 모두를 포함하고; 즉, 예를 들어, 30 kDa의 수평균 분자량과 30 kDa의 중량 평균 분자량 둘 모두가 30 kDa의 분자량으로 간주된다. 일부 실시 형태에서, 평균 분자량은 중량 평균 분자량이다. 다른 실시 형태에서, 평균 분자량은 수평균 분자량이다. 본원에 제공된 방법에서, 본원에 기술된 바와 같은 IL-2 콘쥬게이트를 대상체에게 투여하는 것은 단일 분자 초과의 IL-2 콘쥬게이트를 투여하는 것을 포함하고; 이와 같이, PEG 기의 분자량을 설명하기 위한 용어 "평균"의 사용은 대상체에게 투여되는 용량에서의 IL-2 콘쥬게이트 분자의 PEG 기의 평균 분자량을 지칭한다.

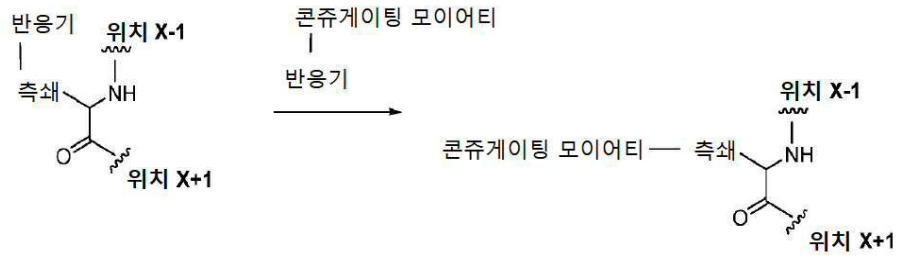
[0647] **콘쥬게이션 화학**

[0648] 다양한 콘쥬게이션 반응을 사용하여 링커들, 콘쥬게이션 모이어티들, 및 비천연 아미노산들(본원에 기술된 IL-2 폴리펩티드에 혼입됨)을 콘쥬게이팅한다. 이러한 콘쥬게이션 반응은 대개 "생물직교" 반응과 같은 수성 조건에 적합하다. 일부 실시 형태에서, 콘쥬게이션 반응은 촉매와 같은 화학 시약; 광; 또는 링커, 콘쥬게이션 모이어티, 또는 비천연 아미노산에서 발견되는 반응성 화학 기에 의해 매개된다. 일부 실시형태에서, 콘쥬게이션 반응은 효소에 의해 매개된다. 일부 실시형태에서, 본원에 사용된 콘쥬게이션 반응은 문헌[Gong, Y., Pan, L. Tett. Lett. 2015, 56, 2123]에 기술되어 있으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다. 일부 실시 형태에서, 본원에 사용된 콘쥬게이션 반응은 문헌[Chen, X.; Wu. Y-W. Org. Biomol. Chem. 2016, 14, 5417]에 기술되어 있으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0649] 일부 변형에서, 본원에 기술된 IL-2 콘쥬게이트는 1,3-쌍극 고리화첨가 반응을 포함하는 콘쥬게이션 반응에 의해 제조될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 1,3-쌍극 고리화첨가 반응은 아지드와 포스핀의 반응("클릭" 반응)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 콘쥬게이션 반응은 구리에 의해 촉매된다. 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 트리아졸을 통해 부착된 링커 또는 콘쥬게이션 모이어티를 포함하는 사이토카인 펩티드를 생성한다. 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 아지드와 변형된 올레핀의 반응을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 아지드와 변형된 알킨의 반응을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 아지드와 시클로알킨, 예를 들어 DBCO의 반응을 포함한다.

[0650] 본원에 기술된 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 반응식 1에 약술된 반응을 포함하며, 여기서, X는 서열 번호 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트에서의 위치이다.

[0651] **반응식 1.**

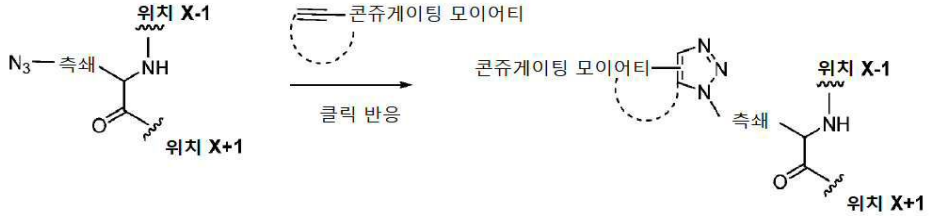


[0652]

[0653] 일부 실시 형태에서, 콘쥬게이팅 모이어티는 수용성 중합체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 반응기는 알킨 또는 아지드를 포함한다.

[0654] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 반응식 2에 약술된 반응을 포함하며, 여기서, X는 서열 번호 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트에서의 위치이다.

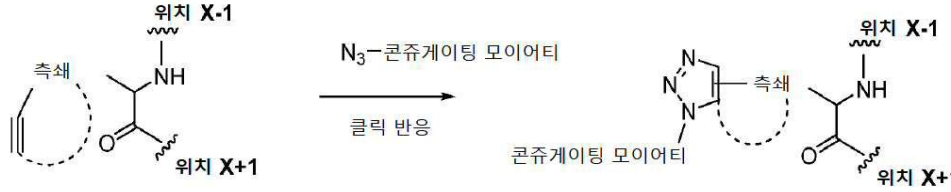
[0655] **반응식 2.**



[0656]

[0657] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 반응식 3에 약술된 반응을 포함하며, 여기서, X는 서열 번호 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트에서의 위치이다.

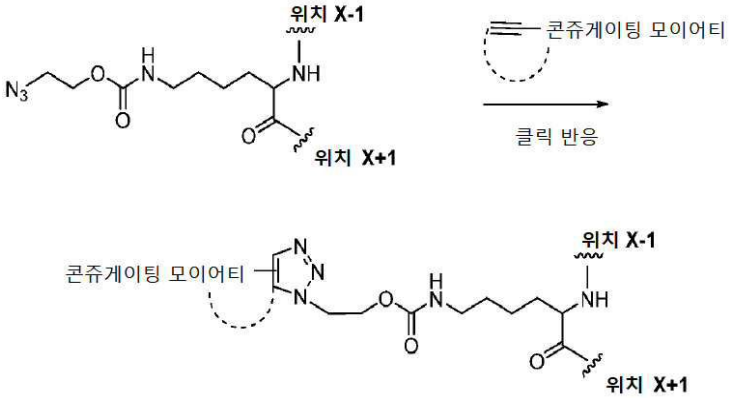
[0658] **반응식 3.**



[0659]

[0660] 본원에 기술된 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 반응식 4에 약술된 반응을 포함하며, 여기서, X는 서열 번호 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트에서의 위치이다.

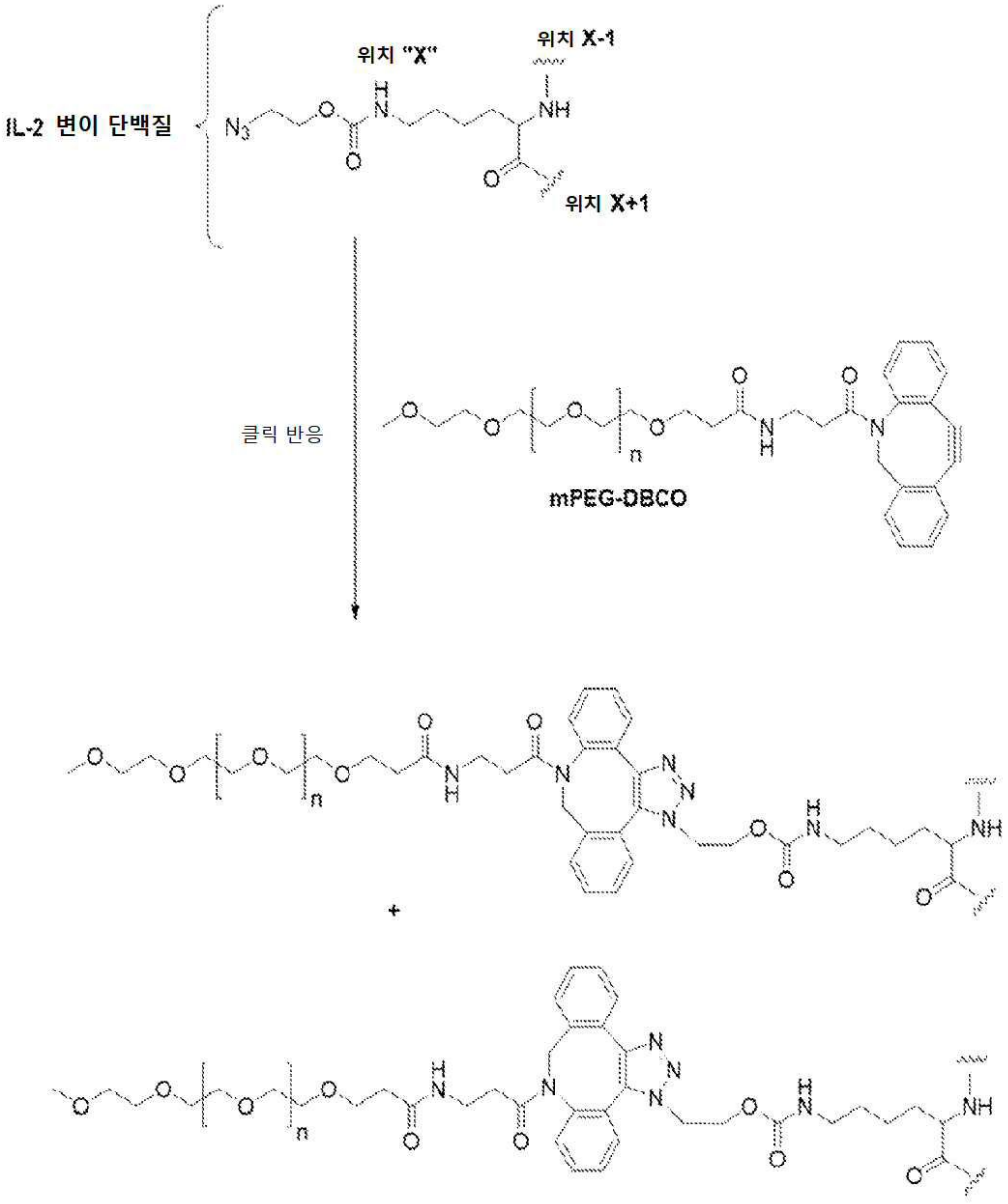
[0661] **반응식 4.**



[0662]

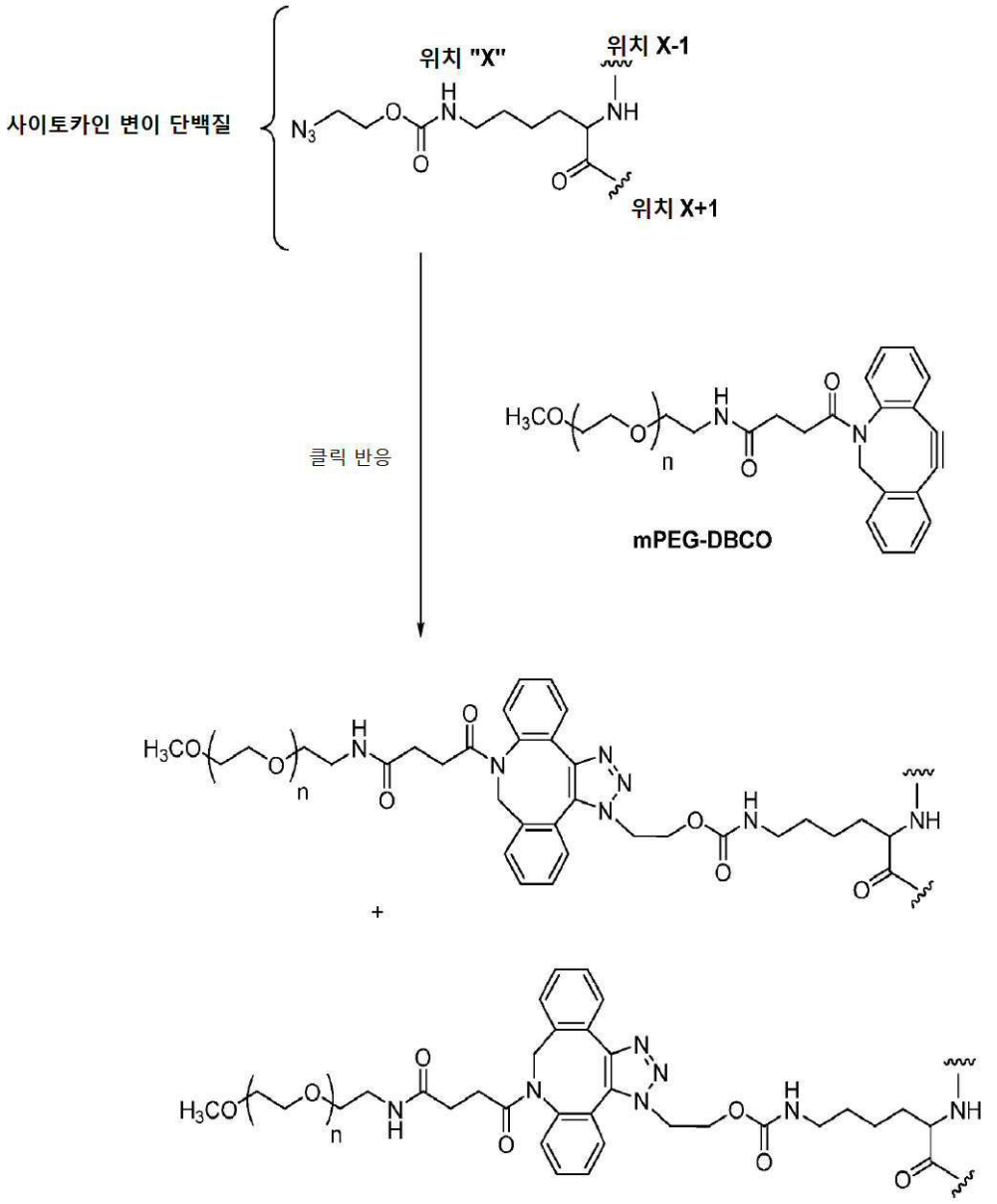
[0663] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 콘쥬게이션 반응은 아지드 모이어티, 예컨대 *N6*-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신(AzK)로부터 유도된 아미노산 잔기를 함유하는 단백질에 포함된 것과, 변형된 시클로알킨, 예컨대 디벤조시클로옥틴 기를 포함하는 화학적 모이어티인 DBCO로부터 유도된 것 사이의 고리화첨가 반응을 포함한다. DBCO 모이어티를 포함하는 PEG 기는 구매가능하거나, 당업자에게 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예시적인 반응은 반응식 5 및 6에 도시되어 있다.

[0664] 반응식 5.



[0665]

[0666] 반응식 6.



[0667]

[0668] 본원에 기술된 클릭 반응과 같은 콘쥬게이션 반응은 단일 위치이성질체, 또는 위치이성질체들의 혼합물을 생성할 수 있다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 2:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1.5:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1.2:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1.1:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 1:1보다 크다.

[0669] **IL-2 폴리펩티드 생산**

[0670] 일부 경우에, 천연 아미노산 돌연변이 또는 비천연 아미노산 돌연변이를 포함하는 본원에 기술된 IL-2 콘쥬게이트는 재조합으로 생성되거나 화학적으로 합성된다. 일부 경우에, 본원에 기술된 IL-2 콘쥬게이트는, 예를 들어 숙주 세포 시스템에 의해 또는 무세포 시스템에서, 재조합으로 생성된다. 본원에 기술된 임의의 실시 형태 또는 변형에서, 아미노산은 L-아미노산 또는 D-아미노산일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 아미노산은 L-아미노산이다. 다른 실시 형태에서, 아미노산은 D-아미노산이다.

[0671] 일부 경우에, IL-2 콘쥬게이트는 숙주 세포 시스템을 통해 재조합으로 생성된다. 일부 경우에, 숙주 세포는 진핵 세포(예를 들어, 포유류 세포, 곤충 세포, 효모 세포, 또는 식물 세포) 또는 원핵 세포(예를 들어, 그람 양성 박테리아 또는 그람 음성 박테리아)이다. 일부 경우에, 진핵 숙주 세포는 포유류 숙주 세포이다. 일부 경우

에, 포유류 숙주 세포는 안정한 세포주이거나, 관심 유전 물질을 자신의 게놈에 통합하고 여러 세대의 세포 분열 후 유전 물질의 산물을 발현하는 능력을 가진 세포주이다. 다른 경우에, 포유류 숙주 세포는 일시적 세포주이거나, 관심 유전 물질을 자신의 게놈에 통합하지 않고 여러 세대의 세포 분열 후 유전 물질의 산물을 발현하는 능력이 없는 세포주이다.

[0672] 예시적인 포유류 숙주 세포는 293T 세포주, 293A 세포주, 293FT 세포주, 293F 세포, 293 H 세포, A549 세포, MDCK 세포, CHO DG44 세포, CHO-S 세포, CHO-K1 세포, Expi293F™ 세포, Flp-In™ T-REx™ 293 세포주, Flp-In™-293 세포주, Flp-In™-3T3 세포주, Flp-In™-BHK 세포주, Flp-In™-CHO 세포주, Flp-In™-CV-1 세포주, Flp-In™-Jurkat 세포주, FreeStyle™ 293-F 세포, FreeStyle™ CHO-S 세포, GripTite™ 293 MSR 세포주, GS-CHO 세포주, HepaRG™ 세포, T-REx™ Jurkat 세포주, Per.C6 세포, T-REx™-293 세포주, T-REx™-CHO 세포주, 및 T-REx™-HeLa 세포주를 포함한다.

[0673] 일부 실시 형태에서, 진핵 숙주 세포는 곤충 숙주 세포이다. 예시적인 곤충 숙주 세포는 *Drosophila* S2 세포, Sf9 세포, Sf21 세포, High Five™ 세포, 및 expresSF+® 세포를 포함한다.

[0674] 일부 실시 형태에서, 진핵 숙주 세포는 효모 숙주 세포이다. 예시적인 효모 숙주 세포는 GS115, KM71H, SMD1168, SMD1168H, 및 X-33과 같은 *피키아 파스토리스*(*Pichia pastoris*)(*K. phaffii*)효모 균주, 및 INVSc1과 같은 *사카로마이세스 세레비지애*(*Saccharomyces cerevisiae*) 효모 균주를 포함한다.

[0675] 일부 실시 형태에서, 진핵 숙주 세포는 식물 숙주 세포이다. 일부 경우에, 식물 세포는 조류의 세포를 포함한다. 예시적인 식물 세포주는 Chlamydomonas reinhardtii 137c, 또는 Synechococcus elongatus PPC 7942의 균주를 포함한다.

[0676] 일부 실시 형태에서, 숙주 세포는 원핵 숙주 세포이다. 예시적인 원핵 숙주 세포는 BL21, Mach1™, DH10B™, TOP10, DH5α, DH10Bac™, OmniMax™, MegaX™, DH12S™, INV110, TOP10F', INVαF, TOP10/P3, ccdB Survival, PIR1, PIR2, Stbl2™, Stbl3™, 또는 Stbl4™를 포함한다.

[0677] 일부 경우에, 본원에 기술된 IL-2 폴리펩티드의 생산에 적합한 폴리핵산 분자 또는 벡터는 진핵생물 또는 원핵생물 원천으로부터 유래된 임의의 적합한 벡터를 포함한다. 예시적인 폴리핵산 분자 또는 벡터는 박테리아(예를 들어, *E. coli*), 곤충, 효모(예를 들어, *피키아 파스토리스*(Pichia pastoris), *K. phaffii*), 조류, 또는 포유류 원천으로부터의 벡터를 포함한다. 박테리아 벡터는, 예를 들어 pACYC177, pASK75, pBAD 벡터 시리즈, pBADM 벡터 시리즈, pET 벡터 시리즈, pETM 벡터 시리즈, pGEX 벡터 시리즈, pHAT, pHAT2, pMal-c2, pMal-p2, pQE 벡터 시리즈, pRSET A, pRSET B, pRSET C, pTrcHis2 시리즈, pZA31-Luc, pZE21-MCS-1, pFLAG ATS, pFLAG CTS, pFLAG MAC, pFLAG Shift-12c, pTAC-MAT-1, pFLAG CTC, 또는 pTAC-MAT-2를 포함한다.

[0678] 곤충 벡터는 예를 들어 pFastBac1, pFastBac DUAL, pFastBac ET, pFastBac HTa, pFastBac HTb, pFastBac HTc, pFastBac M30a, pFastBact M30b, pFastBac, M30c, pVL1392, pVL1393, pVL1393 M10, pVL1393 M11, pVL1393 M12, FLAG 벡터, 예컨대 pPolh-FLAG1 또는 pPolh-MAT 2, 또는 MAT 벡터, 예컨대 pPolh-MAT1 또는 pPolh-MAT2를 포함한다.

[0679] 효모 벡터는 예를 들어 Gateway® pDEST™ 14 벡터, Gateway® pDEST™ 15 벡터, Gateway® pDEST™ 17 벡터, Gateway® pDEST™ 24 벡터, Gateway® pYES-DEST52 벡터, pBAD-DEST49 Gateway® 목표 벡터, pAO815 *Pichia* 벡터, pFLD1 *피키아 파스토리스*(Pichia pastoris)(K. phaffii) 벡터, pGAPZA, B, & C *피키아 파스토리스*(Pichia pastoris)(K. phaffii) 벡터, pPIC3.5K *Pichia* 벡터, pPIC6 A, B, & C *Pichia* 벡터, pPIC9K *Pichia* 벡터, pTEF1/Zeo, pYES2 효모 벡터, pYES2/CT 효모 벡터, pYES2/NT A, B, & C 효모 벡터, 또는 pYES3/CT 효모 벡터를 포함한다.

[0680] 조류 벡터는 예를 들어 pChlamy-4 벡터 또는 MCS 벡터를 포함한다.

[0681] 포유류 벡터는 예를 들어 일시적 발현 벡터 또는 안정한 발현 벡터를 포함한다. 예시적인 포유류 일시적 발현 벡터는 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 또는 pBICEP-CMV 4를 포함한다. 예시적인 포유류 안정한 발현 벡터는 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 또는 pBICEP-CMV 2를 포함한다.

[0682] 일부 경우에, 본원에 기재된 IL-2 폴리펩티드의 생산을 위해 무세포 시스템이 사용된다. 일부 경우에, 무세포 시스템은 세포로부터의 세포질 및/또는 핵 성분의 혼합물을 포함하고, 시험관 내 핵산 합성에 적합하다. 일부 경우에, 무세포 시스템은 원핵 세포 성분을 사용한다. 다른 경우에, 무세포 시스템은 진핵 세포 성분을 사용한다. 핵산 합성은 예를 들어 초파리 세포, 제노프스 알, 고세균, 또는 HeLa 세포에 기초한 무세포 시스템에서 얻어진다. 예시적인 무세포 시스템은 E. 콜라이 S30 Extract 시스템, E. 콜라이 T7 S30 시스템 또는 PURExpress®, XpressCF 및 XpressCF+를 포함한다.

[0683] 무세포 번역 시스템은 플라스미드, mRNA, DNA, tRNAs, 신테타아제, 방출 인자, 리보솜, 샤페론 단백질, 번역 개시 및 신장 인자, 천연 및/또는 비천연 아미노산과 같은 성분, 및/또는 단백질 발현에 사용되는 기타 성분을 다양하게 포함한다. 이러한 성분은 수율 향상, 합성 속도 증가, 단백질 산물 신뢰도 증가, 또는 비천연 아미노산 통합을 위해 필요에 따라 변형된다. 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 사이토카인은 US 8,778,631; US 2017/0283469; US 2018/0051065; US 2014/0315245; 또는 US 8,778,631에 기술된 무세포 번역 시스템을 사용하여 합성된다. 일부 실시 형태에서, 무세포 번역 시스템은 변형된 방출 인자, 또는 심지어 시스템으로부터의 하나 이상의 방출 인자의 제거를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 무세포 번역 시스템은 감소된 프로테아제 농도를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 무세포 번역 시스템은 비천연 아미노산을 코딩하는 데 사용되는 재할당된 코돈을 갖는 변형된 tRNA를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 비천연 아미노산의 통합을 위한 본원에 기술된 신테타아제는 무세포 번역 시스템에 사용된다. 일부 실시 형태에서, tRNA는 무세포 번역 시스템에 첨가되기 전에 효소적 또는 화학적 방법을 사용하여 비천연 아미노산으로 예비로딩된다. 일부 실시 형태에서, 무세포 번역 시스템을 위한 성분은 변형된 유기체, 예컨대 변형된 박테리아, 효모, 또는 기타 유기체로부터 얻어진다.

[0684] 일부 실시 형태에서, IL-2 폴리펩티드는 발현 숙주 시스템을 통해 또는 무세포 시스템을 통해 원형으로 재배치된 형태로 생성된다.

[0685] **비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 폴리펩티드의 생산**

[0686] 직교성 또는 확장된 유전 코드가 본 발명에 사용될 수 있으며, 여기서 IL-2 폴리펩티드의 핵산 서열에 존재하는 하나 이상의 특정 코돈은 비천연 아미노산을 코딩하도록 할당되어 직교성 tRNA 신테타아제/tRNA 쌍을 사용하여 IL-2에 유전적으로 통합될 수 있다. 직교성 tRNA 신테타아제/tRNA 쌍은 tRNA를 비천연 아미노산으로 하전시킬 수 있고, 코돈에 반응하여 비천연 아미노산을 폴리펩티드 사슬에 통합시킬 수 있다.

[0687] 일부 경우에, 코돈은 코돈 앰버, 오커, 오팔, 또는 쿼드러플렛 코돈이다. 일부 경우에, 코돈은 비천연 아미노산을 운반하는 데 사용될 직교성 tRNA에 해당한다. 일부 경우에, 코돈은 앰버이다. 다른 경우에, 코돈은 직교성 코돈이다.

[0688] 일부 경우에, 코돈은 직교성 리보솜 리보-Q1에 의해 해독될 수 있는 쿼드러플렛 코돈이다. 일부 경우에, 쿼드러플렛 코돈은 문헌[Neumann, *et al.*, "Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome," *Nature*, **464**(7287): 441-444 (2010)]에 예시된 바와 같으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0689] 일부 경우에, 본 발명에 사용되는 코돈은 재코딩된 코돈, 예를 들어 대체 코돈으로 대체된 동의 코돈 또는 희귀 코돈이다. 일부 경우에, 재코딩된 코돈은 문헌[Napolitano, *et al.*, "Emergent rules for codon choice elucidated by editing rare arginine codons in *Escherichia coli*," *PNAS*, **113**(38): E5588-5597 (2016)]에 기술된 바와 같으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다. 일부 경우에, 재코딩된 코돈은 문헌[Ostrov *et al.*, "Design, synthesis, and testing toward a 57-codon genome," *Science* **353**(6301): 819-822 (2016)]에 기술된 바와 같으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0690] 일부 경우에, 비천연 핵산이 사용되어 하나 이상의 비천연 아미노산이 IL-2에 통합된다. 예시적인 비천연 핵산은 우라실-5-일, 하이포잔틴-9-일(I), 2-아미노아데닌-9-일, 5-메틸시토신(5-me-C), 5-히드록시메틸 시토신, 잔틴, 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-메틸 및 기타 알킬 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-프로필 및 기타 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실 및 시토신, 5-프로피닐 우라실 및 시토신, 6-아조 우라실, 시토신 및 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-히드록실 및 기타 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 구체적으로 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 기타 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌 및 7-데아자아데닌, 및 3-데아자구아닌 및 3-데아자아데닌을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 특정한 비천연 핵산, 예컨대 5-치환 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2 치환 퓨린, N-6 치환 퓨린, O-6

치환 퓨린, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실, 5-프로피닐시토신, 5-메틸시토신, 듀플렉스 형성의 안정성을 증가시키는 것, 보편적 핵산, 소수성 핵산, 무차별 핵산, 크기 확대된 핵산, 플루오르화 핵산, 5-치환 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환 퓨린(2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실 및 5-프로피닐시토신을 포함함). 5-메틸시토신(5-me-C), 5-히드록시메틸 시토신, 잔틴, 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-메틸, 기타 알킬 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-프로필 및 기타 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실, 5-할로시토신, 5-프로피닐(-C≡C-CH_3) 우라실, 5-프로피닐 시토신, 피리미딘 핵산의 기타 알키닐 유도체, 6-아조 우라실, 6-아조 시토신, 6-아조 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-히드록실 및 기타 8-치환 아데닌 및 구아닌, 5 -할로, 구체적으로 5-브로모, 5-트리플루오로메틸, 기타 5-치환 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌, 7-메틸아데닌, 2-F-아데닌, 2-아미노-아데닌, 8-아자구아닌, 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌, 7-데아자아데닌, 3-데아자구아닌, 3-데아자아데닌, 삼환식 피리미딘, 페녹사진 시티딘([5,4-b][1,4]벤족사진-2(3H)-온), 페노티아진 시티딘(1H-피리미도[5,4-b][1,4]벤조티아진-2(3H)-온), G-클램프, 페녹사진 시티딘(예를 들어 9-(2-아미노에톡시)-H-피리미도[5,4-b][1,4]벤족사진-2(3H)-온), 카르바졸 시티딘(2H-피리미도[4,5-b]인돌-2-온), 피리도인돌 시티딘(H-피리도[3',2':4,5]피롤로[2,3-d]피리미딘-2-온), 퓨린 또는 피리미딘 염기가 다른 복소환으로 대체된 것, 7-데아자-아데닌, 7-데아자구아노신, 2-아미노피리딘, 2-피리돈, 아자시토신, 5-브로모시토신, 브로모우라실, 5-클로로시토신, 염소화 시토신, 시클로시토신, 시토신 아라비노사이드, 5-플루오로시토신, 플루오로피리미딘, 플루오로우라실, 5,6-디히드로시토신, 5-요오도시토신, 히드록시우레아, 요오도우라실, 5-니트로시토신, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-플루오로우라실, 및 5-요오도우라실, 2-아미노-아데닌, 6-티오-구아닌, 2-티오-티민, 4-티오-티민, 5-프로피닐-우라실, 4-티오-우라실, N4-에틸시토신, 7-데아자구아닌, 7-데아자-8-아자구아닌, 5-히드록시시토신, 2'-데옥시우리딘, 2-아미노-2'-데옥시아데노신, 및 미국 특허 제3,687,808호; 미국 특허 제4,845,205호; 미국 특허 제4,910,300호; 미국 특허 제4,948,882호; 미국 특허 제5,093,232호; 미국 특허 제5,130,302호; 미국 특허 제5,134,066호; 미국 특허 제5,175,273호; 미국 특허 제5,367,066호; 미국 특허 제5,432,272호; 미국 특허 제5,457,187호; 미국 특허 제5,459,255호; 미국 특허 제5,484,908호; 미국 특허 제5,502,177호; 미국 특허 제5,525,711호; 미국 특허 제5,552,540호; 미국 특허 제5,587,469호; 미국 특허 제5,594,121호; 미국 특허 제5,596,091호; 미국 특허 제5,614,617호; 미국 특허 제5,645,985호; 미국 특허 제5,681,941호; 미국 특허 제5,750,692호; 미국 특허 제5,763,588호; 미국 특허 제5,830,653호 및 미국 특허 제6,005,096호; 국제 공개 제99/62923호; 문헌[Kandimalla et al., (2001) Bioorg. Med. Chem. 9:807-813]; 문헌[The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Kroschwitz, J.I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859]; 문헌[Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613]; 및 문헌[Sanghvi, Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke and Lebleu Eds., CRC Press, 1993, 273-288]에 기술된 것. 추가의 염기 변형은 예를 들어 미국 특허 제3,687,808호; 문헌[Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613]; 및 문헌[Sanghvi, Chapter 15, Antisense Research and Applications, pages 289-302, Crooke and Lebleu ed., CRC Press, 1993]에서 발견될 수 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0691] 다양한 복소환식 염기 및 다양한 당 모이어티(및 당 유사체)를 포함하는 비천연 핵산은 당업계에서 입수할 수 있고, 일부 경우에 핵산은 자연 발생 핵산의 주요 5가지 염기 성분 이외의 하나 또는 여러 복소환식 염기를 포함한다. 예를 들어, 일부 경우에 복소환식 염기는 우라실-5-일, 시토신-5-일, 아데닌-7-일, 아데닌-8-일, 구아닌-7-일, 구아닌-8-일, 4-아미노피롤로 [2.3-d] 피리미딘-5-일, 2-아미노-4-옥소피롤로 [2, 3-d] 피리미딘-5-일, 2-아미노-4-옥소피롤로 [2.3-d] 피리미딘-3-일 기를 포함하며, 여기서 퓨린은 9-위치를 통하여, 피리미딘은 1-위치를 통하여, 피롤로피리미딘은 7-위치를 통하여, 그리고 피라졸로피리미딘은 1-위치를 통하여 핵산의 당 모이어티에 부착된다.

[0692] 일부 실시 형태에서, 뉴클레오티드 유사체는 또한 포스페이트 모이어티에서 변형된다. 변형된 포스페이트 모이어티는 2개의 뉴클레오티드 사이의 연결에서 변형을 갖는 것을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않으며, 예를 들어 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 예를 들어 3'-알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트, 포스피네이트, 포스포르아미데이트, 예를 들어 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르 및 보라노포스페이트를 함유한다. 2개의 뉴클레오티드 사이의 이러한 포스페이트 또는 변형된 포스페이트 연결은 3'-5' 연결 또는 2'-5' 연결을 통한 것이며, 연결은 3'-5'에서 5'-3', 또는 2'-5'에서 5'-2'와 같은 반전 극성을 포함하는 것으로 이해된다. 다양한 염, 혼합 염 및 유리 산 형태가 또한 포함된다. 다수의 미국 특허

는 변형된 포스페이트를 함유하는 뉴클레오티드의 제조 및 사용 방법을 교시하며, 3,687,808호; 4,469,863호; 4,476,301호; 5,023,243호; 5,177,196호; 5,188,897호; 5,264,423호; 5,276,019호; 5,278,302호; 5,286,717호; 5,321,131호; 5,399,676호; 5,405,939호; 5,453,496호; 5,455,233호; 5,466,677호; 5,476,925호; 5,519,126호; 5,536,821호; 5,541,306호; 5,550,111호; 5,563,253호; 5,571,799호; 5,587,361호; 및 5,625,050호를 포함하지만, 이에 한정되지 않으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0693] 일부 실시 형태에서, 비천연 핵산은 2',3'-디데옥시-2',3'-디데히드로-뉴클레오시드(PCT/US2002/006460), 5'-치환된 DNA 및 RNA 유도체(PCT/US2011/033961; 문헌[Saha et al., J. Org Chem., 1995, 60, 788-789]; 문헌[Wang et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1999, 9, 885-890]; 문헌[Mikhailov et al., Nucleosides & Nucleotides, 1991, 10(1-3), 339-343]; 문헌[Leonid et al., 1995, 14(3-5), 901-905]; 문헌[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), 또는 변형된 염기를 갖는 모노포스페이트로서 제조된 5'-치환된 단량체(문헌[Wang et al., Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids, 2004, 23 (1 & 2), 317-337])를 포함하며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0694] 일부 실시 형태에서, 비천연 핵산은 당 고리의 5'-위치 및 2'-위치에서의 변형(PCT/US94/02993), 예컨대 5'-CH_2-치환 2'-O-보호 뉴클레오시드를 포함한다(문헌[Wu et al., Helvetica Chimica Acta, 2000, 83, 1127-1143] 및 문헌[Wu et al., Bioconjugate Chem. 1999, 10, 921-924], 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함됨). 일부 경우에, 비천연 핵산은 아미드 연결 뉴클레오시드 이량체가 올리고뉴클레오티드 내로의 혼입을 위하여 제조된 것을 포함하며, 여기서, 이량체 중 3' 연결 뉴클레오시드(5'→3')는 2'-OCH_3 및 5'-(S)-CH_3을 포함한다(문헌 [Mesmaeker et al., Synlett, 1997, 1287-1290]). 비천연 핵산은 2'-치환 5'-CH_2(또는 O) 변형 뉴클레오시드를 포함할 수 있다(PCT/US92/01020). 비천연 핵산은 5'-메틸렌포스포네이트 DNA 및 RNA 단량체 및 이량체를 포함할 수 있다(문헌[Bohringer et al., Tet. Lett., 1993, 34, 2723-2726]; 문헌[Collingwood et al., Synlett, 1995, 7, 703-705]; 및 문헌[Hutter et al., Helvetica Chimica Acta, 2002, 85, 2777-2806]). 비천연 핵산은 2'-치환을 갖는 5'-포스포네이트 단량체(US2006/0074035) 및 기타 변형된 5'-포스포네이트 단량체(WO1997/35869)를 포함할 수 있다. 비천연 핵산은 5'-변형된 메틸렌포스포네이트 단량체를 포함할 수 있다(EP614907 및 EP629633). 비천연 핵산은 5' 및/또는 6'-위치에 히드록실 기를 포함하는 5' 또는 6'-포스포네이트 리보뉴클레오시드의 유사체를 포함할 수 있다(문헌[Chen et al., Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2002, 777, 1783-1786]; 문헌[Jung et al., Bioorg. Med. Chem., 2000, 8, 2501-2509]; 문헌[Gallier et al., Eur. J. Org. Chem., 2007, 925-933]; 및 문헌[Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19(8), 1029-1033]). 비천연 핵산은 5'-포스페이트기를 갖는 5'-포스포네이트 데옥시리보뉴클레오시드 단량체 및 이량체를 포함할 수 있다(문헌[Nawrot et al., Oligonucleotides, 2006, 16(1), 68-82]). 비천연 핵산은 6'-포스포네이트 기를 갖는 뉴클레오시드를 포함할 수 있으며, 여기서, 5' 및/또는 6'-위치는 비치환되거나 티오-tert-부틸 기($SC(CH_3)_3$)(및 이의 유사체); 메틸렌아미노 기(CH_2NH_2)(및 이의 유사체) 또는 시아노 기(CN)(및 이의 유사체)로 치환된다(문헌 [Fairhurst et al., Synlett, 2001, 4, 467-472]; 문헌[Kappler et al., J. Med. Chem., 1986, 29, 1030-1038]; 문헌[Kappler et al., J. Med. Chem., 1982, 25, 1179-1184]; 문헌[Vrudhula et al., J. Med. Chem., 1987, 30, 888-894]; 문헌[Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19, 1371-1377]; 문헌[Geze et al., J. Am. Chem. Soc, 1983, 105(26), 7638-7640]; 및 문헌[Hampton et al., J. Am. Chem. Soc, 1973, 95(13), 4404-4414]). 이 단락에 열거된 각 참고 문헌의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0695] 일부 실시 형태에서, 비천연 핵산은 또한 당 모이어티의 변형을 포함한다. 일부 경우에, 핵산은 당 기가 변형된 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함한다. 이러한 당 변형된 뉴클레오시드는 향상된 뉴클레아제 안정성, 증가된 결합 친화성, 또는 일부 다른 유익한 생물학적 특성을 부여할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 핵산은 화학적으로 변형된 리보푸라노스 고리 모이어티를 포함한다. 화학적으로 변형된 리보푸라노스 고리의 예는 치환기(5' 및/또는 2' 치환기 포함)의 부가; 이환 핵산(BNA)을 형성하기 위한 2개의 고리 원자의 가교; S, N(R), 또는 $C(R_1)(R_2)$ (R = H, C_1-C_{12} 알킬 또는 보호기)에 의한 리보실 고리 산소 원자의 대체; 및 이들의 조합을 제한 없이 포함한다. 화학적으로 변형된 당의 예는 WO2008/101157, US2005/0130923, 및 WO2007/134181에서 확인할 수 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0696] 일부 경우에, 변형된 핵산은 변형된 당 또는 당 유사체를 포함한다. 따라서, 리보스 및 데옥시리보스 외에, 당

모이어티는 펜토스, 데옥시펜토스, 헥소스, 데옥시헥소스, 글루코스, 아라비노스, 자일로스, 릭소스, 또는 당 "유사체" 시클로펜틸기일 수 있다. 당은 피라노실 또는 푸라노실 형태일 수 있다. 당 모이어티는 리보스, 데옥시리보스, 아라비노스 또는 2'-O-알킬리보스의 푸라노시드일 수 있고, 당은 [알파] 또는 [베타] 아노머 입체배치로 각각의 헤테로시클릭 염기에 부착될 수 있다. 당 변형은 2'-알콕시-RNA 유사체, 2'-아미노-RNA 유사체, 2'-플루오로-DNA, 및 2'-알콕시- 또는 아미노-RNA/DNA 키메라를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 예를 들어, 당 변형은 2'-O-메틸-우리딘 또는 2'-O-메틸-시티딘을 포함할 수 있다. 당 변형은 2'-O-알킬-치환 데옥시리보뉴클레오시드 및 2'-O-에틸렌글리콜 유사 리보뉴클레오시드를 포함한다. 이러한 당 또는 당 유사체, 및 이러한 당 또는 유사체가 헤테로시클릭 염기(핵산 염기)에 부착된 각각의 "뉴클레오시드"의 제조는 알려져 있다. 당 변형이 또한 이루어지고 다른 변형과 조합될 수 있다.

[0697] 당 모이어티에 대한 변형은 리보스 및 데옥시리보스의 천연 변형, 및 비천연 변형을 포함한다. 당 변형은 2' 위치에서의 다음과 같은 변형을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다: OH; F; O-, S-, 또는 N-알킬; O-, S-, 또는 N-알케닐; O-, S-, 또는 N-알키닐; 또는 O-알킬-O-알킬(알킬, 알케닐, 및 알키닐은 치환 또는 비치환 C_1 내지 C_{10} 알킬 또는 C_2 내지 C_{10} 알케닐 및 알키닐일 수 있음). 2' 당 변형은 또한 $-O[(CH_2)_nO]_m\ CH_3$, $-O(CH_2)_nOCH_3$, $-O(CH_2)_nNH_2$, $-O(CH_2)_nCH_3$, $-O(CH_2)_nONH_2$, 및 $-O(CH_2)_nON[(CH_2)n\ CH_3)]_2$를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다(n 및 m은 1 내지 약 10임).

[0698] 2' 위치에서의 다른 변형은 다음을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다: C_1 내지 C_{10} 저급 알킬, 치환된 저급 알킬, 알카릴, 아랄킬, O-알카릴, O-아랄킬, SH, SCH_3, OCN, Cl, Br, CN, CF_3, OCF_3, $SOCH_3$, $SO_2\ CH_3$, ONO_2, NO_2, N_3, NH_2, 헤테로시클로알킬, 헤테로시클로알카릴, 아미노알킬아미노, 폴리알킬아미노, 치환된 실릴, RNA 절단기, 리포터 기, 인터컬레이터, 올리고뉴클레오티드의 약동학적 특성을 개선하기 위한 기, 또는 올리고뉴클레오티드의 약력학적 특성을 개선하기 위한 기, 및 유사한 특성을 갖는 다른 치환기. 유사한 변형이 또한 당 상의 다른 위치, 구체적으로, 3' 말단 뉴클레오티드 상의 또는 2'-5' 연결 올리고뉴클레오티드들 내의 당의 3' 위치 및 5' 말단 뉴클레오티드의 5' 위치에서 이루어질 수 있다. 변형 당은 또한 CH_2 및 S와 같은 가교 고리 산소에서의 변형을 함유하는 것을 포함한다. 뉴클레오티드 당 유사체는 또한 당 모방체, 예컨대 시클로부틸 모이어티를 펜토푸라노실 당 대신 가질 수 있다. 이러한 변형된 당 구조의 제조를 교시하고 일련의 염기 변형을 상술하고 기술하는 다수의 미국 특허, 예컨대 미국 특허 제4,981,957호; 제5,118,800호; 제5,319,080호; 제5,359,044호; 제5,393,878호; 제5,446,137호; 제5,466,786호; 제5,514,785호; 제5,519,134호; 제5,567,811호; 제5,576,427호; 제5,591,722호; 제5,597,909호; 제5,610,300호; 제5,627,053호; 제5,639,873호; 제5,646,265호; 제5,658,873호; 제5,670,633호; 제4,845,205호; 제5,130,302호; 제5,134,066호; 제5,175,273호; 제5,367,066호; 제5,432,272호; 제5,457,187호; 제5,459,255호; 제5,484,908호; 제5,502,177호; 제5,525,711호; 제5,552,540호; 제5,587,469호; 제5,594,121호; 제5,596,091호; 제5,614,617호; 제5,681,941호; 및 제5,700,920호가 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 그 전체가 참고로 포함된다.

[0699] 변형된 당 모이어티를 갖는 핵산의 예는 5'-비닐, 5'-메틸(R 또는 S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH_3, 및 2'-$O(CH_2)_2OCH_3$ 치환기를 포함하는 핵산을 제한 없이 포함한다. 2' 위치에서의 치환기는 또한 알릴, 아미노, 아지도, 티오, O-알릴, O-(C_1-C_{10} 알킬), OCF_3, $O(CH_2)_2SCH_3$, $O(CH_2)_2$-O-$N(R_m)(R_n)$, 및 O-CH_2-C(=O)-$N(R_m)(R_n)$으로부터 선택될 수 있으며, 여기서 각각의 R_m 및 R_n은 독립적으로 H 또는 치환된 또는 비치환된 C_1-C_{10} 알킬이다.

[0700] 소정의 실시 형태에서, 본원에 기술된 핵산은 하나 이상의 이환식 핵산을 포함한다. 소정의 이러한 실시 형태에서, 이환식 핵산은 4' 및 2' 리보실 고리 원자 사이의 가교체를 포함한다. 소정의 실시 형태에서, 본원에 제공된 핵산은 하나 이상의 이환식 핵산을 포함하며, 여기서 가교체는 4'→2' 이환식 핵산을 포함한다. 이러한 4'→2' 이환식 핵산의 예는 화학식 4'-(CH_2)-O-2'(LNA); 4'-(CH_2)-S-2'; 4'-$(CH_2)_2$-O-2'(ENA); 4'-$CH(CH_3)$-O-2' 및 4'-$CH(CH_2OCH_3)$-O-2', 및 이들의 유사체(미국 특허 제7,399,845호 참조); 4'-$C(CH_3)(CH_3)$-O-2' 및 이의 유사체(국제 공개 제2009/006478호, 국제 공개 제2008/150729호, 미국 특허 출원 공개 공보 제2004/0171570호, 미국 특허 제7,427,672호, 문헌[Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 209, 74, 118-134], 및 국제 공개 제2008/154401호 참조) 중 하나를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 또한 예를 들어 다음을 참조한다: 문헌[Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456]; 문헌[Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630]; 문헌[Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638]; 문헌[Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222]; 문헌[Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-

10039]; 문헌[Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379]; 문헌[Elayadi et al., Curr. Opinion Invens. Drugs, 2001, 2, 558-561]; 문헌[Braasch et al., Chem. Biol, 2001, 8, 1-7]; 문헌[Oram et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243]; 미국 특허 제4,849,513호; 미국 특허 제5,015,733호; 미국 특허 제5,118,800호; 미국 특허 제5,118,802호; 미국 특허 제7,053,207호; 미국 특허 제6,268,490호; 미국 특허 제6,770,748호; 미국 특허 제6,794,499호; 미국 특허 제7,034,133호; 미국 특허 제6,525,191호; 미국 특허 제6,670,461호; 및 미국 특허 제7,399,845호; 국제 공개 제2004/106356호, 국제 공개 제1994/14226호, 국제 공개 제2005/021570호, 국제 공개 제2007/090071호, 및 국제 공개 제2007/134181호; 미국 특허 출원 공개 공보 제2004/0171570호, 미국 특허 출원 공개 공보 제2007/0287831호, 및 미국 특허 출원 공개 공보 제2008/0039618호; 미국 가출원 제60/989,574호, 미국 가출원 제61/026,995호, 미국 가출원 제61/026,998호, 미국 가출원 제61/056,564호, 미국 가출원 제61/086,231호, 미국 가출원 제61/097,787호, 및 미국 가출원 제61/099,844호; 및 국제 출원 PCT/US2008/064591, PCT US2008/066154, PCT US2008/068922, 및 PCT/DK98/00393. 이 단락에 열거된 각 참고 문헌의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0701] 특정 실시 형태에서, 핵산은 연결된 핵산을 포함한다. 핵산은 임의의 핵산간 연결을 사용하여 서로 연결될 수 있다. 핵산간 연결기의 두 가지 주요 부류는 인 원자의 존재 또는 부재에 의해 정의된다. 대표적인 인 함유 핵산간 연결은 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포라미데이트, 및 포스포로티오에이트(P=S)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 대표적인 인 비함유 핵산간 연결기는 메틸렌메틸이미노(-CH_2-$N(CH_3)$-O-CH_2-), 티오디에스테르(-O-C(O)-S-), 티오노카르바메이트(-O-C(O)(NH)-S-); 실록산(-O-$Si(H)_2$-O-); 및 N,N*-디메틸히드라진(-CH_2-$N(CH_3)$-$N(CH_3)$)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 특정 실시 형태에서, 키랄 원자를 갖는 핵산간 연결은 라세미 혼합물, 별개의 거울상이성체, 예를 들어, 알킬포스포네이트 및 포스포로티오에이트로서 제조될 수 있다. 비천연 핵산은 단일 변형을 포함할 수 있다. 비천연 핵산은 모이어티 중 하나 내에 또는 서로 다른 모이어티 사이에 다수의 변형을 포함할 수 있다.

[0702] 핵산에 대한 골격 포스페이트 변형은 메틸 포스포네이트, 포스포로티오에이트, 포스포라미데이트(가교 또는 비가교), 포스포트리에스테르, 포스포로디티오에이트, 포스포디티오에이트, 및 보라노포스페이트를 포함하지만, 이에 한정되지 않으며, 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 다른 비-포스페이트 연결도 사용될 수 있다.

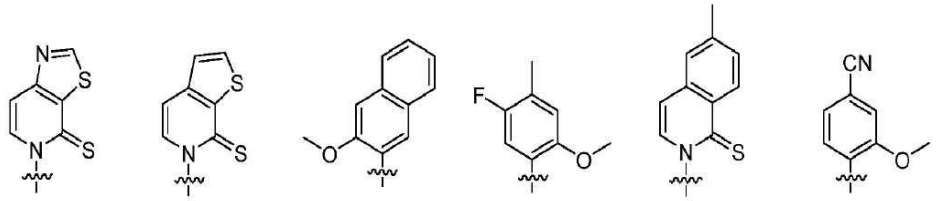
[0703] 일부 실시 형태에서, 백본 변형(예를 들어, 메틸포스포네이트, 포스포로티오에이트, 포스포로아미데이트 및 포스포로디티오에이트 뉴클레오티드간 연결)은 변형 핵산에 면역조절 활성을 부여하고/하거나 그 안정성을 향상시킬 수 있다(생체 내에서).

[0704] 일부 경우에, 인 유도체(또는 변형 포스페이트 기)는 당 또는 당 유사체 모이어티에 부착되며, 모노포스페이트, 디포스페이트, 트리포스페이트, 알킬포스포네이트, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포르아미데이트 등일 수 있다. 변형 포스페이트 연결 또는 비-포스페이트 연결을 포함하는 예시적인 폴리뉴클레오티드가 문헌[Peyrottes et al., 1996, Nucleic Acids Res. 24: 1841-1848]; 문헌[Chaturvedi et al., 1996, Nucleic Acids Res. 24:2318-2323]; 문헌[Schultz et al., (1996) Nucleic Acids Res. 24:2966-2973]; 문헌[Matteucci, 1997, "Oligonucleotide Analogs: an Overview" in Oligonucleotides as Therapeutic Agents, (Chadwick and Cardew, ed.) John Wiley and Sons, New York, NY]; 문헌[Zon, 1993, "Oligonucleoside Phosphorothioates" in Protocols for Oligonucleotides and Analogs, Synthesis and Properties, Humana Press, pp. 165-190]; 문헌[Miller et al., 1971, JACS 93:6657-6665; Jager et al., 1988, Biochem. 27:7247-7246]; 문헌[Nelson et al., 1997, JOC 62:7278-7287]; 미국 특허 제5,453,496호; 및 문헌[Micklefield, 2001, Curr. Med. Chem. 8: 1157-1179]에서 확인될 수 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0705] 일부 경우에, 골격 변형은 포스포디에스테르 연결이 대안적인 모이어티, 예컨대 음이온성, 중성 또는 양이온성 기로 대체된 것을 포함한다. 이러한 변형의 예는 다음을 포함한다: 음이온성 뉴클레오시드간 연결; N3'→P5' 포스포르아미데이트 변형; 보라노포스페이트 DNA; 프로올리고뉴클레오티드; 중성 뉴클레오시드간 연결, 예컨대 메틸포스포네이트; 아미드 연결된 DNA; 메틸렌(메틸이미노) 연결; 포름아세탈 및 티오포름아세탈 연결; 술포닐 기를 함유하는 골격; 모르폴리노 올리고; 펩티드 핵산(PNA); 및 양으로 하전된 데옥시리보핵산 구아니딘(DNG) 올리고(문헌[Micklefield, 2001, Current Medicinal Chemistry 8: 1157-1179]). 변형 핵산은 하나 이상의 변형, 예를 들어 포스페이트 연결들의 조합, 예컨대 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트 연결의 조합을 포함하는 키메라 또는 혼합 골격을 포함할 수 있다.

[0706] 포스페이트의 치환기는, 예를 들어 단쇄 알킬 또는 시클로알킬 뉴클레오시드간 연결, 혼합된 헤테로원자 및 알킬 또는 시클로알킬 뉴클레오시드간 연결, 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로시클릭 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 이들은 (뉴클레오시드의 당 부분으로부터 부분적으로 형성된) 모르폴리노 연결을 갖는 것; 실록산 골격; 술피드, 술폭시드 및 술폰 골격; 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격; 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격; 알켄 함유 골격; 술파메이트 골격; 메틸렌이미노 및 메틸렌히드라지노 골격; 술포네이트 및 술폰아미드 골격; 아미드 골격; 및 혼합된 N, O, S, 및 CH_2 성분 부분을 갖는 그 외의 것들을 포함한다. 다수의 미국 특허는 이러한 유형의 포스페이트 대체물의 제조 및 사용 방법을 개시하며, 미국 특허 제5,034,506호; 제5,166,315호; 제5,185,444호; 제5,214,134호; 제5,216,141호; 제5,235,033호; 제5,264,562호; 제5,264,564호; 제5,405,938호; 제5,434,257호; 제5,466,677호; 제5,470,967호; 제5,489,677호; 제5,541,307호; 제5,561,225호; 제5,596,086호; 제5,602,240호; 제5,610,289호; 제5,602,240호; 제5,608,046호; 제5,610,289호; 제5,618,704호; 제5,623,070호; 제5,663,312호; 제5,633,360호; 제5,677,437호; 및 제5,677,439호를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 또한, 뉴클레오티드 치환에서 뉴클레오티드의 당 및 포스페이트 모이어티 모두가, 예를 들어 아미드 유형 연결(아미노에틸글리신)(PNA)에 의해 대체될 수 있다는 것이 이해된다. 미국 특허 제5,539,082호; 미국 특허 제5,714,331호; 및 미국 특허 제5,719,262호는 PNA 분자의 제조 및 사용 방법을 교시하며, 이들 각각은 본원에 참고로 포함된다. 또한 문헌[Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500]을 참조한다. 다른 유형의 분자(콘쥬게이트)를 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유사체에 연결하여 예를 들어 세포 흡수를 향상시키는 것이 또한 가능하다. 콘쥬게이트는 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유사체에 화학적으로 연결될 수 있다. 이러한 콘쥬게이트는 지질 모이어티, 예컨대 콜레스테롤 모이어티(문헌[Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556]), 콜산(문헌[Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1994, 4, 1053-1060]), 티오에테르, 예를 들어, 헥실-S-트리틸티올(문헌[Manoharan et al., Ann. KY. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309]; 문헌[Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1993, 3, 2765-2770]), 티오콜레스테롤(문헌[Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538]), 지방족 사슬, 예를 들어, 도데칸디올 또는 운데실 잔기(문헌[Saison-Behmoaras et al., EM5OJ, 1991, 10, 1111-1118]; 문헌[Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330]; 문헌[Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54]), 인지질, 예를 들어, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1-디-O-헥사데실-rac-글리세로-S-H-포스포네이트(문헌[Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654]; 문헌[Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783]), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(문헌[Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973]), 또는 아다만탄 아세트산(문헌[Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654]), 팔미틸 모이어티(문헌[Mishra et al., Biochem. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237]), 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 모이어티(문헌[Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937])를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 다수의 미국 특허는 이러한 콘쥬게이트의 제조를 교시하며, 미국 특허 제4,828,979호; 제4,948,882호; 제5,218,105호; 제5,525,465호; 제5,541,313호; 제5,545,730호; 제5,552,538호; 제5,578,717호; 제5,580,731호; 제5,580,731호; 제5,591,584호; 제5,109,124호; 제5,118,802호; 제5,138,045호; 제5,414,077호; 제5,486,603호; 제5,512,439호; 제5,578,718호; 제5,608,046호; 제4,587,044호; 제4,605,735호; 제4,667,025호; 제4,762,779호; 제4,789,737호; 제4,824,941호; 제4,835,263호; 제4,876,335호; 제4,904,582호; 제4,958,013호; 제5,082,830호; 제5,112,963호; 제5,214,136호; 제5,082,830호; 제5,112,963호; 제5,214,136호; 제5,245,022호; 제5,254,469호; 제5,258,506호; 제5,262,536호; 제5,272,250호; 제5,292,873호; 제5,317,098호; 제5,371,241호; 제5,391,723호; 제5,416,203호; 제5,451,463호; 제5,510,475호; 제5,512,667호; 제5,514,785호; 제5,565,552호; 제5,567,810호; 제5,574,142호; 제5,585,481호; 제5,587,371호; 제5,595,726호; 제5,597,696호; 제5,599,923호; 제5,599,928호 및 제5,688,941호를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 이 단락에 열거된 각 참고 문헌의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

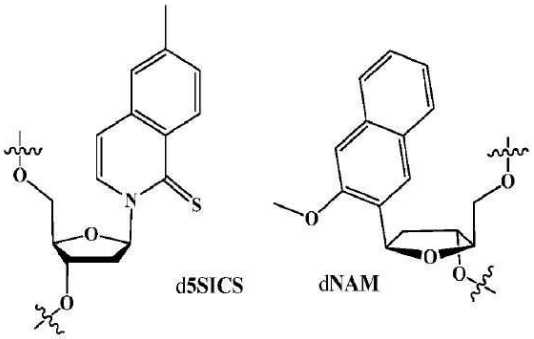
[0707] 일부 경우에, 비천연 핵산은 비천연 염기쌍을 추가로 형성한다. 생체 내 조건 하에서 비천연 DNA 또는 RNA 염기쌍(UBP)을 형성할 수 있는 예시적인 비천연 뉴클레오티드는 TAT1, dTAT1, 5FM, d5FM, TPT3, dTPT3, 5SICS, d5SICS, NaM, dNaM, CNMO, dCNMO, 및 이들의 조합을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 비천연 뉴클레오티드는 다음을 포함한다:

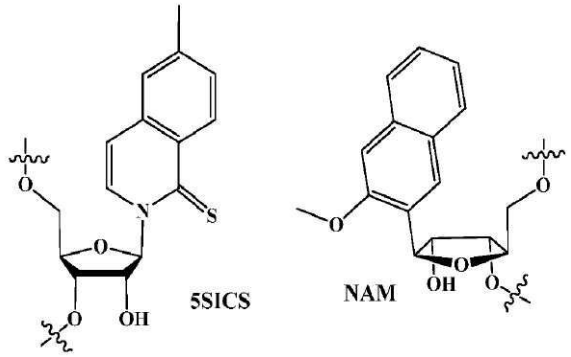
[0708] 

, , , , , 및 .

[0709] 예시적인 비천연 염기쌍은 다음을 포함한다: (d)TPT3-(d)NaM; (d)5SICS-(d)NaM; (d)CNMO-(d)TAT1; (d)NaM-(d)TAT1; (d)CNMO-(d)TPT3; 및 (d)5FM-(d)TAT1.

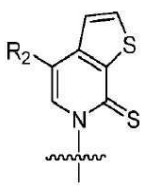
[0710] 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 UBP를 형성할 수 있는 비천연 뉴클레오티드의 다른 예는 문헌[Dien et al., J Am Chem Soc., 2018, 140:16115-16123]; 문헌[Feldman et al., J Am Chem Soc, 2017, 139:11427-11433]; 문헌[Ledbetter et al., J Am Chem Soc., 2018, 140:758-765]; 문헌[Dhami et al., Nucleic Acids Res. 2014, 42:10235-10244]; 문헌[Malyshev et al., Nature, 2014, 509:385-388]; 문헌[Betz et al., J Am Chem Soc., 2013, 135:18637-18643]; 문헌[Lavergne et al., J Am Chem Soc. 2013, 135:5408-5419]; 및 문헌[Malyshev et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109:12005-12010]에서 확인될 수 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다. 일부 실시 형태에서, 비천연 뉴클레오티드는 다음을 포함한다:

[0711] 

[0712] 

.

[0713] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오티드는 하기 화학식의 화합물로부터 유도될 수 있다:

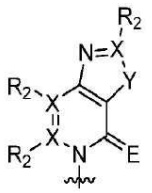
[0714] 

[0715] 여기서, R_2는 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 메톡시, 메탄티올, 메탄셀레노, 할로겐, 시아노, 및 아지도로부터 선택되고;

[0716] 물결선은 리보실 또는 2'-데옥시리보실에 대한 결합을 나타내고, 리보실 또는 2'-데옥시리보실 모이어티의 5'-

히드록시 기는 유리 형태이며, 모노포스페이트, 디포스페이트, 트리포스페이트, α-티오트리포스페이트, β-티오트리포스페이트, 또는 γ-티오트리포스페이트 기에 연결되거나, RNA 또는 DNA 또는 RNA 유사체 또는 DNA 유사체에 포함된다.

[0717] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오티드는 하기 화학식의 화합물로부터 유도될 수 있다:

[0718] 

[0719] 여기서,

[0720] 각각의 X는 독립적으로 탄소 또는 질소이며;

[0721] R_2는 X가 질소일 때 존재하지 않고, X가 탄소일 때 존재하며, 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 메톡시, 메탄티올, 메탄셀레노, 할로겐, 시아노 또는 아지드이며;

[0722] Y는 황, 산소, 셀레늄 또는 2차 아민이고;

[0723] E는 산소, 황 또는 셀레늄이고;

[0724] 물결선은 리보실, 데옥시리보실, 또는 디데옥시리보실 모이어티 또는 이의 유사체에 대한 결합 지점을 나타내며, 여기서 리보실, 데옥시리보실 또는 디데옥시리보실 모이어티 또는 이의 유사체는 유리 형태이고, 모노-포스페이트, 디포스페이트, 트리포스페이트, α-티오트리포스페이트, β-티오트리포스페이트 또는 γ-티오트리포스페이트 기에 연결되거나, RNA 또는 DNA 또는 RNA 유사체 또는 DNA 유사체에 포함된다.

[0725] 일부 실시 형태에서, 각각의 X는 탄소이다. 일부 실시 형태에서, 적어도 하나의 X는 탄소이다. 일부 실시 형태에서, 하나의 X는 탄소이다. 일부 실시 형태에서, 적어도 2개의 X는 탄소이다. 일부 실시 형태에서, 2개의 X는 탄소이다. 일부 실시 형태에서, 적어도 하나의 X는 질소이다. 일부 실시 형태에서, 하나의 X는 질소이다. 일부 실시 형태에서, 적어도 2개의 X는 질소이다. 일부 실시 형태에서, 2개의 X는 질소이다.

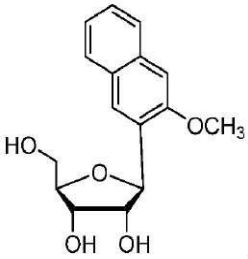
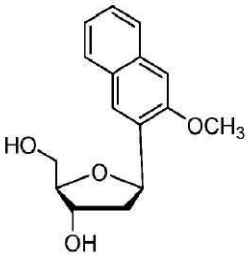
[0726] 일부 실시 형태에서, Y는 황이다. 일부 실시 형태에서, Y는 산소이다. 일부 실시 형태에서, Y는 셀레늄이다. 일부 실시 형태에서, Y는 2차 아민이다.

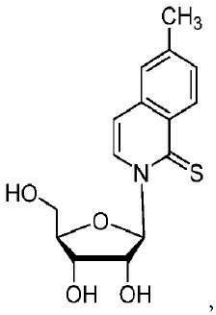
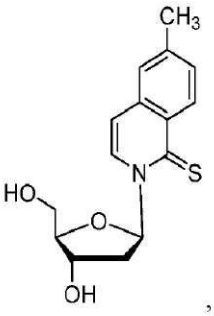
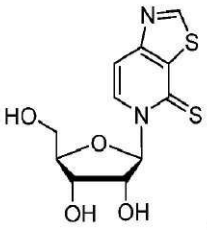
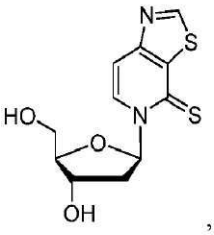
[0727] 일부 실시 형태에서, E는 황이다. 일부 실시 형태에서, E는 산소이다. 일부 실시 형태에서, E는 셀레늄이다.

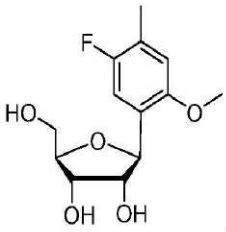
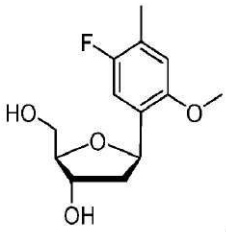
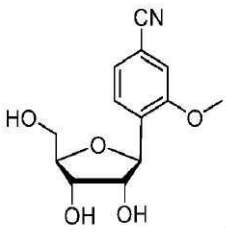
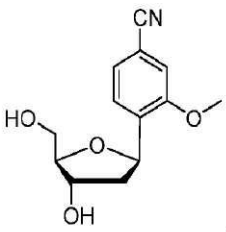
[0728] 일부 실시 형태에서, X가 탄소일 때 R_2가 존재한다. 일부 실시 형태에서, X가 질소일 때 R^2는 존재하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 각각의 R_2는 존재하는 경우 수소이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 알킬, 예컨대 메틸, 에틸 또는 프로필이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 알케닐, 예컨대 $-CH_2=CH_2$이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 알키닐, 예컨대 에티닐이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 메톡시이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 메탄티올이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 메탄셀레노이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 할로겐, 예컨대 클로로, 브로모, 또는 플루오로이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 시아노이다. 일부 실시 형태에서, R_2는 아지드이다.

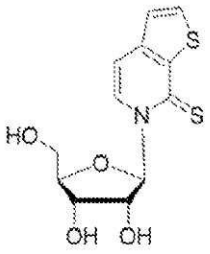
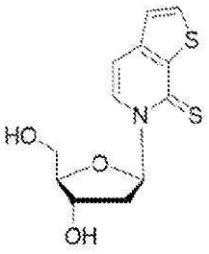
[0729] 일부 실시 형태에서, E는 황이고, Y는 황이고, 각각의 X는 독립적으로 탄소 또는 질소이다. 일부 실시 형태에서, E는 황이고, Y는 황이고, 각각의 X는 탄소이다.

[0730] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오티드는

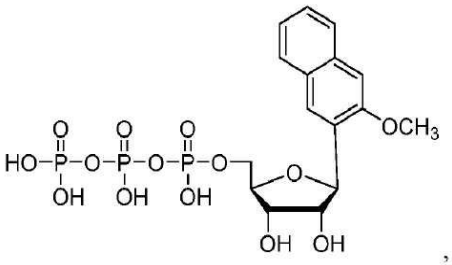

,

,

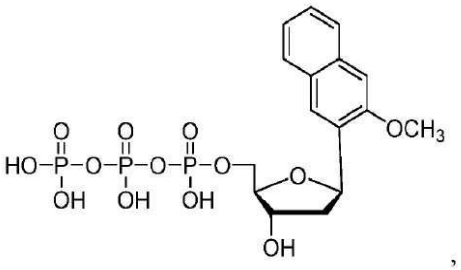
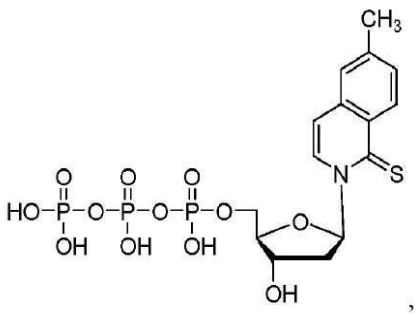

,

,

,

,

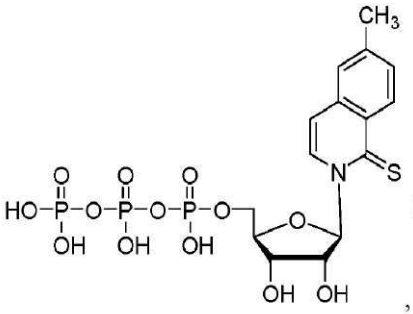
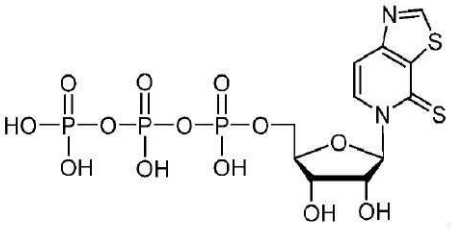
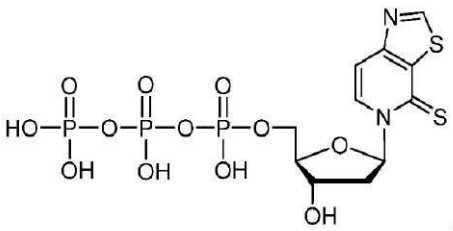
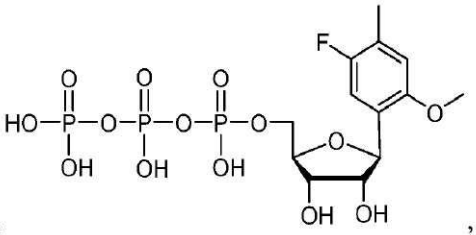
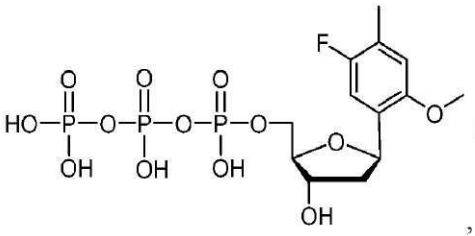
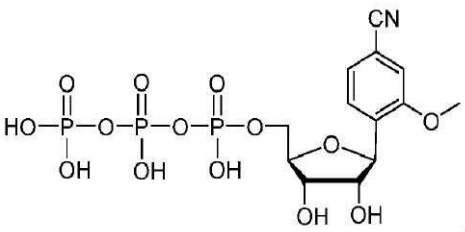
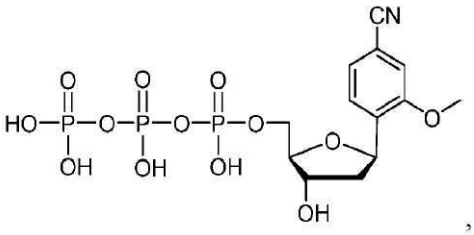
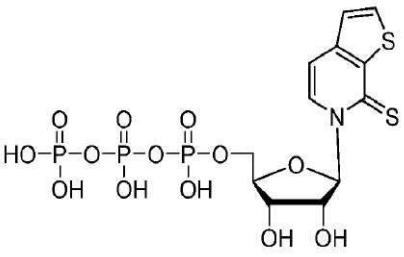
[0731]

,

,

,

,

[0732]

및

로부터 유도될 수 있다.

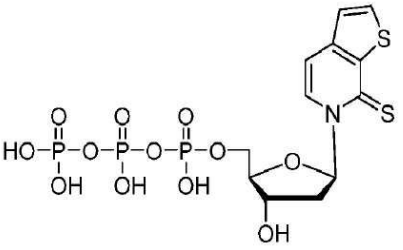
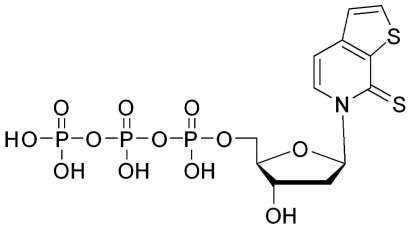
[0733] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오티드는


,

[0734]

,

,

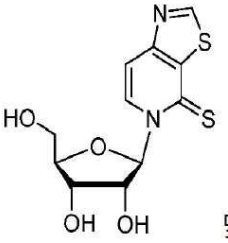
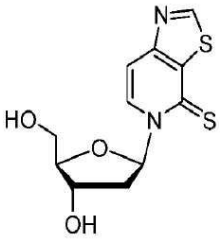

,

,

,

,

,

,

,

및

[0735]

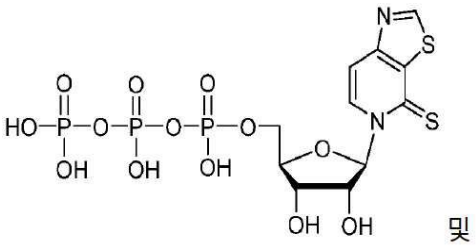
[0736] , 또는 이들의 염을 포함한다.

[0737] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오티드는

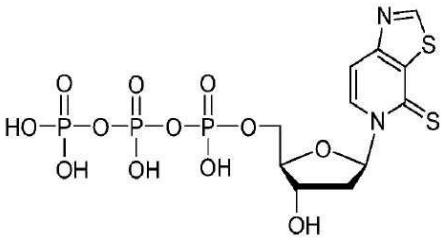

및


로부터 유도될 수 있다.

[0738] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오티드는



및



[0739] 을 포함한다.

[0740] 일부 실시 형태에서, 비천연 염기쌍은 문헌[Dumas et al., "Designing logical codon reassignment - Expanding the chemistry in biology," *Chemical Science*, 6: 50-69 (2015)]에 기술된 바와 같이 비천연 아미노산을 생성한다.

[0741] 일부 실시 형태에서, 비천연 아미노산은 비천연 핵산을 포함하는 합성 코돈에 의해 IL-2 폴리펩티드 내에 혼입된다. 일부 경우에, 비천연 아미노산은 직교성 변형 신테타아제/tRNA 쌍에 의해 IL-2 내에 혼입된다. 이러한 직교성 쌍은, a) 비천연 tRNA에 다른 내인성 아미노산이 차징(charging)되는 것 및 b) 다른 내인성 tRNA에 비천연 아미노산이 차징되는 것을 최소화하면서 비천연 tRNA를 비천연 아미노산으로 차징시킬 수 있는 비천연 신테타아제를 포함한다. 이러한 직교성 쌍은, a) 내인성 신테타아제에 의해 다른 내인성 아미노산으로 차징되는 것을 방지하면서 비천연 신테타아제에 의해 차징될 수 있는 tRNA를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 이러한 쌍은 다양한 유기체, 예컨대 박테리아, 효모, 고세균, 또는 인간 원천으로부터 확인된다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제/tRNA 쌍은 단일 유기체로부터의 성분을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제/tRNA 쌍은 두 상이한 유기체로부터의 성분을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제/tRNA 쌍은 변형 전에 두 상이한 아미노산의 번역을 촉진하는 성분을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 알라닌 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 아르기닌 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 아스파라긴 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 아스파르트산 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 시스테인 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 글루타민 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 글루탐산 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 알라닌 글리신이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 히스티딘 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 류신 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 이소류신 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 라이신 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 메티오닌 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 페닐알라닌 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 프롤린 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 세린 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 트레오닌 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 트립토판 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 티로신 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 발린 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 포스포세린 신테타아제이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 알라닌 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 아르기닌 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 아스파라긴 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 아스파르트산 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 시스테인 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 글루타민 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 글루탐산 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 알라닌 글리신이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 히스티딘 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 류신 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 이소류신 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 라이신 tRNA이다. 일부 실

시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 메티오닌 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 페닐알라닌 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 프롤린 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 세린 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 트레오닌 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 트립토판 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 티로신 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 발린 tRNA이다. 일부 실시 형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 포스포세린 tRNA이다.

[0742] 일부 실시 형태에서, 비천연 아미노산은 아미노아실(aaRS 또는 RS)-tRNA 신테타아제-tRNA 쌍에 의해 IL-2 폴리펩티드 내에 혼입된다. 예시적인 aaRS-tRNA 쌍은 메타노코커스 야나스키(*Methanococcus jannaschii*)(Mj-Tyr) aaRS/tRNA 쌍, 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS(Ec-Tyr)/비. 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*) tRNACUA 쌍, 이. 콜라이 LeuRS(Ec-Leu)/비. 스테아로써모필루스 tRNACUA 쌍 및 피롤라이실-tRNA 쌍을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 일부 경우에, 비천연 아미노산은 *Mj-Tyr*RS/tRNA 쌍에 의해 IL-2 폴리펩티드 내에 혼입된다. *Mj-Tyr*RS/tRNA 쌍에 의해 혼입될 수 있는 예시적인 UAA는 파라-치환된 페닐알라닌 유도체, 예컨대 *p*-아미노 페닐알라닌 및 *p*-메톡시페닐알라닌; 메타-치환된 티로신 유도체, 예컨대 3-아미노티로신, 3-니트로티로신, 3,4-디히드록시페닐알라닌 및 3-요오도티로신; 페닐셀레노시스테인; *p*-보로노페닐알라닌; 및 *o*-니트로벤질티로신을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0743] 일부 경우에, 비천연 아미노산은 *Ec-Tyr*/$tRNA_{CUA}$ 또는 *Ec-Leu*/$tRNA_{CUA}$ 쌍에 의해 IL-2 폴리펩티드 내에 혼입된다. *Ec-Tyr*/$tRNA_{CUA}$ 또는 *Ec-Leu*/$tRNA_{CUA}$ 쌍에 의해 혼입될 수 있는 예시적인 UAA는 벤조페논, 케톤, 요오다이드, 또는 아지드 치환기를 함유하는 페닐알라닌 유도체; *O*-프로파르길티로신; α-아미노카프릴산, O-메틸 티로신, O-니트로벤질 시스테인; 및 3-(나프탈렌-2-일아미노)-2-아미노-프로판산을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0744] 일부 경우에, 비천연 아미노산은 피롤라이실-tRNA 쌍에 의해 IL-2 폴리펩티드 내에 혼입된다. 일부 경우에, PylRS는 고세균, 예를 들어 메탄생성 고세균으로부터 얻어진다. 일부 경우에, PylRS는 메타노사르시나 바르케리(*Methanosarcina barkeri*), 메타노사르시나 마제이(*Methanosarcina mazei*) 또는 메타노사르시나 아세티보란스(*Methanosarcina acetivorans*)로부터 얻어진다. 피롤라이실-tRNA 쌍에 의해 혼입될 수 있는 예시적인 UAA는 아미드 및 카르바메이트 치환된 라이신, 예컨대 2-아미노-6-((R)-테트라히드로푸란-2-카르복스아미도)헥산산, N-ε-D-프롤릴-L-라이신, 및 N-ε-시클로펜틸옥시카르보닐-L-라이신; *N*-ε-아크릴로일-L-라이신; *N*-ε-[(1-(6-니트로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)에톡시)카르보닐]-L-라이신; 및 N-ε-(1-메틸시클로프로-2-엔카르복스아미도)라이신을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트는 엠. 바르케리 피롤라이실-tRNA 신테타아제(*Mb* PylRS)에 의해 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신(AzK)과 같은 비천연 아미노산으로 선택적으로 차징되는 *엠. 마제이*(*M. mazei*) tRNA를 사용하여 제조될 수 있다. 문헌[Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644-647]에 개시된 것과 같은 다른 방법들은 당업자에게 알려져 있으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0745] 일부 경우에, 비천연 아미노산은 US 9,988,619 및 US 9,938,516에 개시된 신테타아제에 의해 IL-2 폴리펩티드 내에 혼입되며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

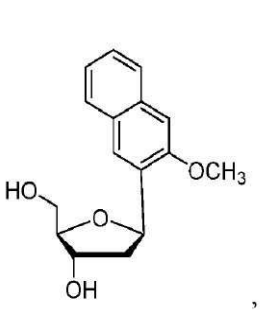
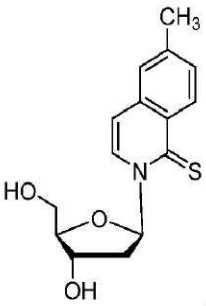
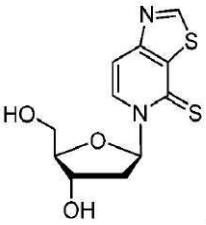
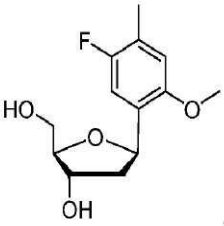
[0746] 본원에 개시된 구축물 또는 벡터가 도입된 숙주 세포는 관심 tRNA, tRNA 신테타아제 및 단백질이 생산되도록 적합한 배지에서 배양되거나 유지된다. 배지는 또한 관심 단백질이 비천연 아미노산(들)을 통합시키도록 비천연 아미노산(들)을 포함한다 . 일부 실시 형태에서, 박테리아, 식물, 또는 조류의 뉴클레오시드 트리포스페이트 수송체(NTT)가 숙주 세포에 또한 존재한다. 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트는 NTT를 발현하는 숙주 세포를 사용하여 제조된다. 일부 실시 형태에서, 숙주 세포에 사용되는 뉴클레오티드 뉴클레오시드 트리포스페이트 수송체는 TpNTT1, TpNTT2, TpNTT3, TpNTT4, TpNTT5, TpNTT6, TpNTT7, TpNTT8(티. 슈도나나(T. pseudonana)), PtNTT1, PtNTT2, PtNTT3, PtNTT4, PtNTT5, PtNTT6(피. 트리코르누툼(P. tricornutum)), GsNTT(갈디에리아 설퍼라리아(Galdieria sulphuraria)), AtNTT1, AtNTT2(아라비돕시스 탈리아나(Arabidopsis thaliana)), CtNTT1, CtNTT2(클라미디아 트라코마티스(Chlamydia trachomatis)), PamNTT1, PamNTT2(프로토클라미디아 아모에보필라(Protochlamydia amoebophila)), CcNTT(카에디박터 카리오필루스(Caedibacter caryophilus)), RpNTT1(리케챠 프로와제키이(Rickettsia prowazekii))로부터 선택될 수 있다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT1, PtNTT2, PtNTT3, PtNTT4, PtNTT5, 및 PtNTT6으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT1이다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT2이다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT3이다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT4이다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT5이다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT6이다. 사용될 수 있는 다른 NTT는 문헌[Zhang et al., *Nature* 2017, 551(7682): 644-647]; 문헌[Malyshev et al.

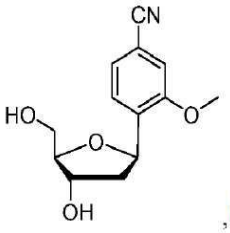
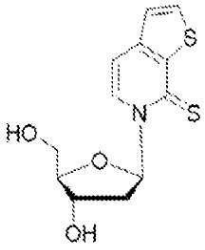
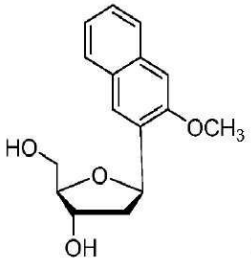
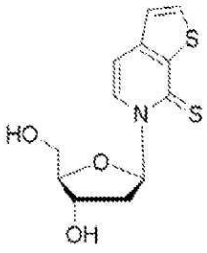
Nature 2014 (509(7500), 385-388]; 및 문헌[Zhang et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114:1317-1322]에 개시되어 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

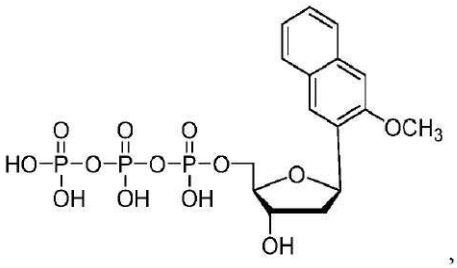
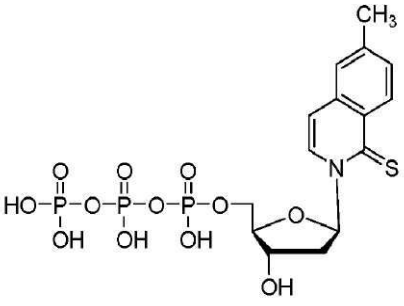
[0747] 직교성 tRNA 신테타아제/tRNA 쌍은 tRNA를 비천연 아미노산으로 차징하고, 코돈에 반응하여 비천연 아미노산을 폴리펩티드 사슬에 통합시킨다. 예시적인 aaRS-tRNA 쌍은 메타노코커스 야나스치(*Mj-Tyr*) aaRS/tRNA 쌍, 이. 콜라이 TyrRS(*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스 $tRNA_{CUA}$ 쌍, 이. 콜라이 LeuRS(*Ec-Leu*)/비. 스테아로써모필루스 $tRNA_{CUA}$ 쌍 및 피롤라이실-tRNA 쌍을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 본 발명에 따라 사용될 수 있는 다른 aaRS-tRNA 쌍은 엠. 마제이로부터 유래된 것, 문헌[Feldman et al., J Am Chem Soc., 2018 140:1447-1454]; 및 문헌[Zhang et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114:1317-1322]에 기술된 것을 포함하며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

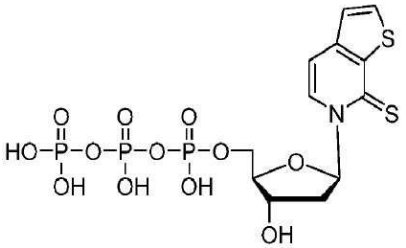
[0748] 일부 실시 형태에서, NTT 및 tRNA 신테타아제를 발현하는 세포 시스템에서 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 방법이 제공된다. 본원에 기술된 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT1, PtNTT2, PtNTT3, PtNTT4, PtNTT5, 및 PtNTT6으로부터 선택되고, tRNA 신테타아제는 *메타노코쿠스 잔나스키*, *이. 콜라이* TyrRS(*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 및 엠. 마제이(*M. mazei*)로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT1이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 잔나스키이, 이. 콜라이(E. coli) TyrRS (*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 또는 엠. 마제이로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT2이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 잔나스키이, 이. 콜라이(E. coli) TyrRS (*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 또는 엠. 마제이로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT3이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 잔나스키이, 이. 콜라이(E. coli) TyrRS (*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 또는 엠. 마제이로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT3이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 잔나스키이, 이. 콜라이(E. coli) TyrRS (*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 또는 엠. 마제이로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT4이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 잔나스키이, 이. 콜라이(E. coli) TyrRS (*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 또는 엠. 마제이로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT5이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 잔나스키이, 이. 콜라이(E. coli) TyrRS (*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 또는 엠. 마제이로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, NTT는 PtNTT6이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 잔나스키이, 이. 콜라이(E. coli) TyrRS (*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스, 또는 엠. 마제이로부터 유래된다.

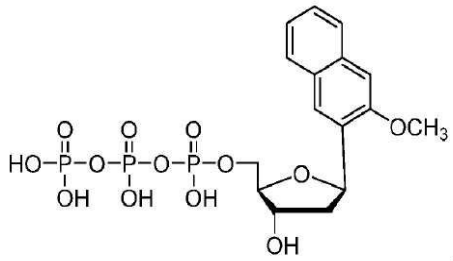
[0749] 일부 실시 형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트는 (a) 뉴클레오티드 트리포스페이트 수송체 *Pt*NTT2(전장 단백질의 처음 65개 아미노산 잔기가 결실된 절단된 변이체 포함), (b) 원하는 아미노산 서열을 갖는 IL-2 변이체를 코딩하고, N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신(AzK)과 같은 비천연 아미노산이 통합될 원하는 위치에 코돈을 제공하기 위해 제1 비천연 뉴클레오티드 및 제2 비천연 뉴클레오티드를 포함하는 비천연 염기쌍을 함유하는 이중가닥 올리고뉴클레오티드를 포함하는 플라스미드, (c) 엠. 마제이로부터 유래된 tRNA를 코딩하고, 천연 서열 대신 (IL-2 변이체의 코돈에 대한) 인식된 안티코돈을 제공하기 위해 비천연 뉴클레오티드를 포함하는 플라스미드, 및 (d) tRNA를 코딩하는 동일한 플라스미드 또는 상이한 플라스미드일 수 있는, *메타노사르시카 바케리*(*M. barkeri*) 유래 피롤라이실-tRNA 신테타아제(*Mb* PylRS)를 코딩하는 플라스미드를 포함하는, *이. 콜라이*와 같은 세포에서 제조될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 세포는 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 데옥시리보 트리포스페이트가 추가로 보충된다. 일부 실시 형태에서, 세포는 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 리보 트리포스페이트가 추가로 보충된다. 일부 실시 형태에서, 세포는 하나 이상의 비천연 아미노산, 예컨대 *N*6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신(AzK)이 추가로 보충된다. 일부 실시 형태에서, 원하는 IL-2 변이체의 아미노산 서열을 코딩하는 이중 가닥 올리고 뉴클레오티드는 예를 들어 서열 번호 3을 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 위치 34, 37, 40, 41, 42, 43, 44, 61, 64, 68 또는 71에서, 또는 서열 번호 4를 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 위치 35, 38, 41, 42, 43, 45, 62, 65, 69 또는 72에서 코돈 AXC를 함유하며, 여기서 X는 비천연 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 세포는 천연 서열 대신 AXC-매칭 안티코돈 GYT를 포함하는 엠. 마제이로부터의 직교성 tRNA 유전자를 코딩하는, 단백질 발현 플라스미드 또는 다른 플라스미드일 수 있는 플라스미드를 추가로 포함하고, 여기서 Y는 코돈의 비천연 뉴클레오티드와 동일하거나 상이할 수 있고 상보성인 비천연 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 코돈의 비천연 뉴클레오티드는 안티코돈의 비천연 뉴클레오티드와 상이하고 상보적이다. 일부 실시 형태에서, 코돈의 비천연 뉴클레오티드는 안티코돈의 비천연 뉴클레오티드와 동일하다. 일부 실시 형태에서, 이중 가닥 올리고뉴클레오티드에 비천연 염기쌍을 포함하는 제1 및 제2 비천연 뉴클레오티드는

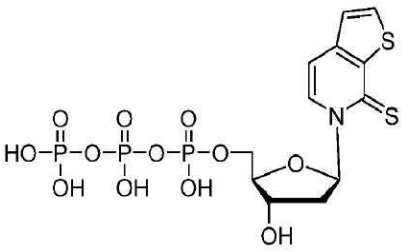
[0750]  ,  ,  ,  ,

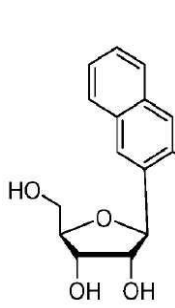
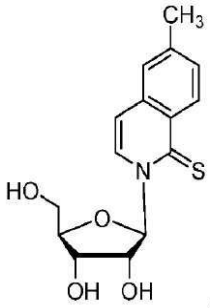
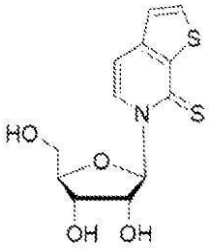
[0751]  , 및  로부터 유도될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 이중가닥 올리고뉴클레오티드에 비천연 염기쌍을 포함하는 제1 및 제2 비천연 뉴클레오티드는  및  로부터 유도될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 제1 및 제2 비천연 뉴클레오티드의 트리포스페이트는

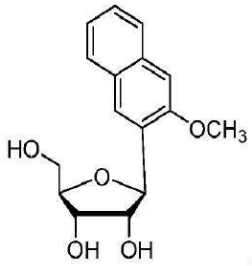
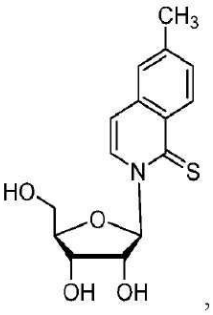
[0752]  ,  및

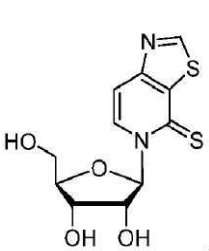
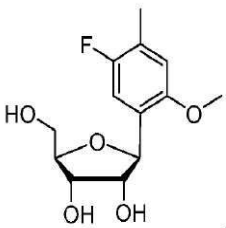
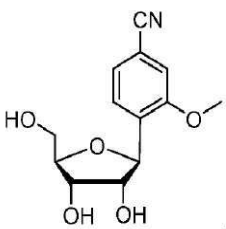
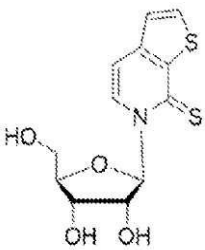
[0753]  , 또는 이들의 염을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 및 제2 비천연 뉴클레오티드의 트리포스페이트는

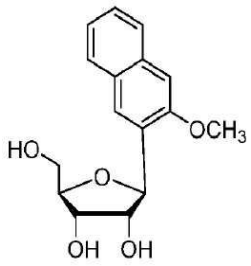
[0754]  , 및

[0755]  , 또는 이들의 염을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 비천연 뉴클레오티드 및 제2 비천연 뉴클레오티드를 포함하는 mRNA 유래 이중 가닥 올리고뉴클레오티드는

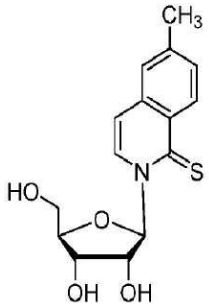
[0756]  ,  , 및  로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함하는 코돈을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 엠. 마제이 tRNA는 mRNA의 비천연 뉴클레오티드를 포함하는 코돈을 인식하는 비천연 뉴클레오티드를 포함하는 안티코돈을 포함할 수 있다. 엠. 마제이 tRNA의 안티코돈은

[0757]  ,  ,

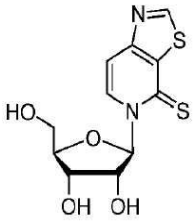
[0758]  ,  ,  , 및  로부터 유래된 비천연 뉴



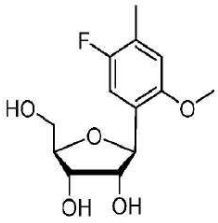
클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레



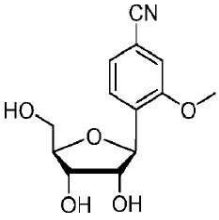
오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함



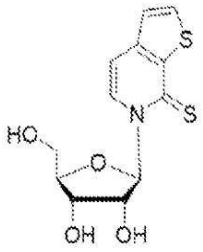
한다. 일부 실시 형태에서, mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시



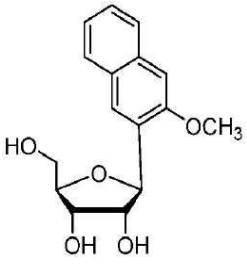
형태에서, mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서,



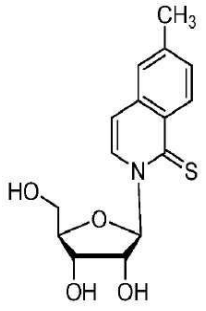
mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, mRNA는



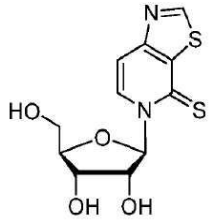
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, tRNA는



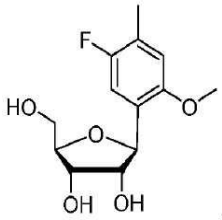
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, tRNA는



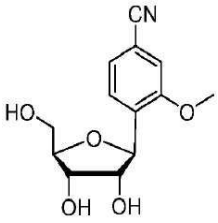
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, tRNA는



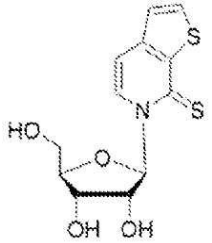
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, tRNA는



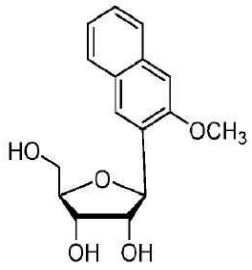
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, tRNA는



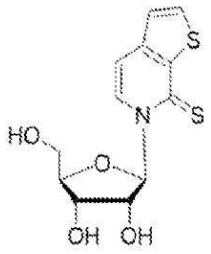
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, tRNA는



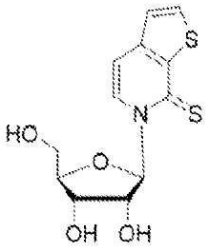
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, mRNA는



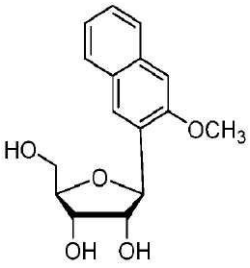
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함하고, tRNA는



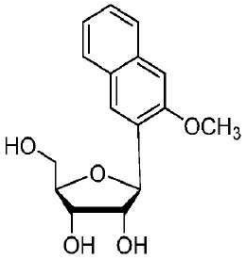
로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, mRNA는



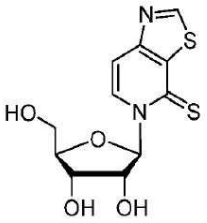
로부터 유도된 비천연 뉴



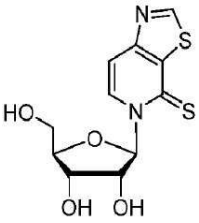
클레오티드를 포함하고, tRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실



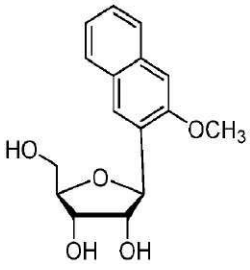
시 형태에서, mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함하고, tRNA는



로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, mRNA는



로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함하고, tRNA는



로부터 유도된 비천연 뉴클레오티드를 포함한다. 숙주 세포는 적절한 영양소가 포함된 배지에서 배양되며, (a) 코돈을 포함하는 사이토카인 유전자를 코딩하는 플라스미드(들)의 복제에 필요한 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 데옥시리보 뉴클레오시드의 트리포스페이트, (b) (i) 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 코돈을 포함하고 사이토카인의 코딩 서열에 상응하는 mRNA, 및 (ii) 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 안티코돈을 포함하는 tRNA의 전사에 필요한 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 리보 뉴클레오시드의 트리포스페이트, 및 (c) 관심 사이토카인의 폴리펩티드 서열에 혼입될 비천연 아미노산(들)으로 보충된다. 이어서, 숙주 세포는 관심 단백질의 발현을 허용하는 조건 하에서 유지된다.

[0759] 발현된 결과 AzK-함유 단백질은 당업자에게 알려진 방법에 의해 정제될 수 있고, 이어서, 당업자에게 알려진 조건 하에서, 본원에 개시된 바와 같은 원하는 평균 분자량을 갖는 PEG 사슬을 포함하는 DBCO와 같은 알킨과 반응하도록 하여 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제공할 수 있다. 문헌[Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644647]; WO 2015157555; WO 2015021432; WO 2016115168; WO 2017106767; WO 2017223528; WO 2019014262; WO 2019014267; WO 2019028419; 및 WO2019/028425에 개시된 것과 같은 다른 방법은 당업자에게 알려져 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0760] 예를 들어 발현된, 상기 하나 이상의 비천연 아미노산, AzK를 포함하는 생성 단백질은 당업자에게 알려진 방법에 의해 정제될 수 있고, 이어서, 당업자에게 알려진 조건 하에서, 본원에 개시된 바와 같은 원하는 평균 분자량을 갖는 PEG 사슬을 포함하는 DBCO와 같은 알킨과 반응하도록 하여 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제공할 수 있다. 문헌[Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644647]; WO 2015157555; WO 2015021432; WO 2016115168; WO 2017106767; WO 2017223528; WO 2019014262; WO 2019014267; WO 2019028419; 및 WO2019/028425에 개시된 것과 같은 다른 방법은 당업자에게 알려져 있으며, 이들 각각의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0761] 대안적으로, 비천연 아미노산(들)을 포함하는 IL-2 폴리펩티드는, tRNA 및 아미노아실 tRNA 신테타아제를 포함하고 하나 이상의 인-프레임 직교성 (종결) 코돈과 함께 관심 핵산 서열을 포함하는 본원에 기술된 핵산 구축물을 숙주 세포에 도입함으로써 제조된다. 숙주 세포는 적절한 영양소가 포함된 배지에서 배양되며, (a) 새로운 코돈 및 안티코돈을 포함하는 사이토카인 유전자를 코딩하는 플라스미드(들)의 복제에 필요한 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 데옥시리보 뉴클레오시드의 트리포스페이트, (b) (i) 코돈을 포함하는 사이토카인 서열, 및 (ii) 안티코돈을 포함하는 직교성 tRNA에 상응하는 mRNA의 전사에 필요한 리보 뉴클레오시드의 트리포스페이트, 및 (c) 비천연 아미노산(들)으로 보충된다. 이어서, 숙주 세포는 관심 단백질의 발현을 허용하는 조건 하에서 유지된다. 비천연 아미노산(들)은 비천연 코돈에 반응하여 폴리펩티드 사슬에 혼입된다. 예를 들어, 하나 이상의 비천연 아미노산이 IL-2 폴리펩티드에 혼입된다. 대안적으로, 2개 이상의 비천연 아미노산이 단백질의 2개 이상의 부위에서 IL-2 폴리펩티드에 혼입될 수 있다.

[0762] 비천연 아미노산(들)을 포함하는 IL-2 폴리펩티드가 숙주 세포에서 생성되면, 효소적, 화학적, 및/또는 삼투적 용해 및 물리적 파괴를 포함하여 당업계에 알려진 다양한 기법에 의해 숙주 세포로부터 추출될 수 있다. IL-2 폴리펩티드는 당업계에 알려진 표준 기법, 예컨대 분취 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 또는 당업자에게 알려진 임의의 다른 적합한 기법에 의해 정제될 수 있다.

[0763] 적합한 숙주 세포는 박테리아 세포(예를 들어, 이. 콜라이, BL21(DE3))를 포함할 수 있지만, 가장 적합하게는 숙주 세포는 진핵 세포, 예를 들어 곤충 세포(예를 들어, 드로소필라 멜라노가스테르(*Drosophila melanogaster*)와 같은 초파리), 효모 세포, 선충(예를 들어, 씨. 엘레간스(*C. elegans*)), 마우스(예를 들어, 무스 무스쿨루스(*Mus musculus*)), 또는 포유류 세포(예컨대, 중국 햄스터 난소 세포(CHO) 또는 COS 세포, 인간 293T 세포, Hela 세포, NIH 3T3 세포, 및 마우스 적백혈병(MEL) 세포) 또는 인간 세포 또는 기타 진핵 세포이다. 다른 적합한 숙주 세포는 당업자에게 알려져 있다. 적합하게는, 숙주 세포는 포유류 세포, 예컨대 인간 세포 또는 곤충 세포이다. 일부 실시 형태에서, 적합한 숙주 세포는 이. 콜라이를 포함한다.

[0764] 본 발명의 실시 형태에서 일반적으로 사용될 수 있는 다른 적합한 숙주 세포는 실시예 부문에 언급된 것들이다. 벡터 DNA는 통상적인 형질전환 또는 형질감염 기법을 통해 숙주 세포에 도입될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "형질전환" 및 "형질감염"은 인산칼슘 또는 염화칼슘 동시침전, DEAE-덱스트란-매개 형질감염, 리포펙션, 또는 전기천공을 포함하여, 외부 핵산 분자(예를 들어, DNA)를 숙주 세포에 도입하기 위한 잘 알려진 다양한 기법을 의미하는 것이다. 숙주 세포를 형질전환 또는 형질감염하기 위한 적합한 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다.

[0765] 세포주를 생성할 때, 안정한 세포주가 제조되는 것이 일반적으로 바람직하다. 예를 들어, 포유류 세포의 안정한 형질감염을 위해, 사용된 발현 벡터 및 형질감염 기법에 따라 오직 작은 분획의 세포가 외래 DNA를 이의 게놈으로 통합시킬 수 있다는 것이 알려져 있다. 이 통합체를 확인하고 선택하기 위해, (예를 들어, 항생제에 대한 내성에 대해) 선발 가능한 마커를 코딩하는 유전자는 관심 유전자와 함께 일반적으로 숙주 세포로 도입된다. 바람직한 선발 가능한 마커는 G418, 하이그로마이신 또는 메토트렉세이트와 같은 약물에 내성을 부여하는 것을 포함한다. 선발 가능한 마커를 코딩하는 핵산 분자는 동일한 벡터에서 숙주 세포로 도입될 수 있거나, 별개의 벡터에서 도입될 수 있다. 도입된 핵산 분자로 안정하게 형질감염된 세포는 약물 선택에 의해 확인될 수 있다(예를 들어, 선발 가능한 마커 유전자가 통합된 세포는 생존하는 반면에, 다른 세포는 죽는다).

[0766] 일 실시 형태에서, 본원에 기술된 구축물은 숙주 세포의 게놈으로 통합된다. 안정한 통합의 장점은 개별 세포 또는 클론 사이의 균일성이 달성된다는 점이다. 다른 장점은 최적의 생산자가 선택될 수 있다는 것이다. 따라서, 안정한 세포주를 생성하는 것이 바람직하다. 다른 실시 형태에서, 본원에 기술된 구축물은 숙주 세포를 형질감염시킨다. 숙주 세포를 구축물로 형질감염시키는 것의 장점은 단백질 수율이 최대화될 수 있다는 것이다. 일 양태에서, 본원에 기술된 핵산 구축물 또는 벡터를 포함하는 세포가 기술된다.

[0767] **항-EGFR 항체**

[0768] 본원에 기술된 암의 치료 방법은 항-EGFR 항체를 본원에 기술된 IL-2 콘쥬게이트와 조합하여 투여하는 것을 포함한다.

[0769] 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체는 억제 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 세툭시맙(Erbitux), 파니투무맙(Vectibix), 네시투무맙(Portrazza), JNJ-61186372(아미반타맙), IMC-C225, ABX-EGF, ICR62 및 EMD 55900으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 세툭시맙(Erbitux)이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 파니투무맙(Vectibix)이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 네

시투무맙(Portrazza)이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 JNJ-61186372(Amivantamab)이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 IMC-C225이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 ABX-EGF이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 ICR62이다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 억제 항체는 EMD 55900이다.x

[0770] **치료 방법**

[0771] 일 양태에서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에서 제공되며, 본 방법은 유효량의 (a) 본원에 기술된 IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 항-EGFR를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0772] 또한, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 본원에 개시된 방법에서 사용하기 위한 본원에 기술된 바와 같은 IL-2 콘쥬게이트가 제공된다.

[0773] 추가 양태에서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 본원에 개시된 방법을 위한 의약의 제조를 위한 본원에 기술된 바와 같은 IL-2 콘쥬게이트의 용도가 제공된다.

[0774] *암 유형*

[0775] 일부 실시 형태에서, 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 고전적 호지킨 림프종(cHL), 원발성 종격동 거대 B 세포 림프종(PMBCL), 요로상피 암종, 현미부수체 불안정 암, 현미부수체 안정 암, 위암, 결장암, 결장직장암, 자궁경부암, 간세포 암종(HCC), 메르켈 세포 암종(MCC), 흑색종, 소세포폐암(SCLC), 식도암, 식도 편평세포암종(ESCC), 교모세포종, 중피종, 유방암, 삼중 음성 유방암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암, 전이성 거세 저항성 전립선암, 또는 DNA 손상 반응(DDR) 결함이 있는 전이성 거세 저항성 전립선암 , 방광암, 난소암, 중등도 내지 저 돌연변이 부담 종양, 피부 편평 세포 암종(CSCC), 편평 세포 피부암(SCSC), 저 발현 내지 비-발현 PD-L1 종양, 해부학적 원발 기원 부위를 넘어 간 및 CNS에 전신적으로 파종된 종양, 및 미만성 거대 B-세포 림프종으로부터 선택된다.

[0776] 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 요로상피 암종, 흑색종, 메르켈 세포 암종(MCC), 및 두경부 편평 세포 암(HNSCC)으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 암은 신장 세포 암종(RCC)이다. 일부 실시 형태에서, 암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다. 일부 실시 형태에서, 암은 요로상피 암종이다. 일부 실시 형태에서, 암은 흑색종이다. 일부 실시 형태에서, 암은 메르켈 세포 암종(MCC)이다. 일부 실시 형태에서, 암은 두경부 편평 세포 암(HNSCC)이다.

[0777] 일부 실시 형태에서, 암은 고형 종양의 형태이다. 일부 실시 형태에서, 암은 진행성 또는 전이성 고형 종양이다. 일부 실시 형태에서, 암은 액상 종양의 형태이다.

[0778] *투여*

[0779] 일부 실시 형태에서, 반응은 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환이다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 정맥내, 피하, 근육내, 뇌내, 비강내, 동맥내, 관절내, 피내, 유리체내, 골내 주입, 복강내, 또는 척추강내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 정맥내, 피하 또는 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 피하 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여된다.

[0780] 일부 실시 형태에서, 치료 지속 기간은 최대 24개월, 예컨대 1개월, 2개월, 3개월, 6개월, 9개월, 12개월, 15개월, 18개월, 21개월 또는 24개월이다. 일부 실시 형태에서, 치료 지속 기간은 최대 24개월까지 추가로 연장된다.

[0781] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 항-EGFR 항체를 대상체에 투여하기 전에 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체는 IL-2 콘쥬게이트를 대상체에 투여하기 전에 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 대상체에게 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 항-EGFR 항체의 투여와는 별개로 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 대상체에게 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 동일한 날에 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체는 상이한 날에 대상체에게 투여된다.

[0782] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회, 8주에 1회, 9주에 1회, 10주에 1회, 11주에 1회, 12주에 1회,

13주에 1회, 14주에 1회, 15주에 1회, 16주에 1회, 17주에 1회, 18주에 1회, 19주에 1회, 20주에 1회, 21주에 1회, 22주에 1회, 23주에 1회, 24주에 1회, 25주에 1회, 26주에 1회, 27주에 1회, 또는 28주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 주 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 2주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 3주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 4주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 5주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 6주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 7주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 8주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 9주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 10주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 11주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 12주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 13주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 14주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 15주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 16주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 17주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 18주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 19주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 20주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 21주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 22주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 23주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 24주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 약 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21일마다 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 유효량은 약 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 또는 21일마다 1회 투여된다.

[0783] 일부 실시 형태에서, 이러한 양에 상응하는 주어진 제제의 양은 특정 화합물, 질환의 중증도, 치료가 필요한 대상체 또는 숙주의 독자성(예를 들어, 체중)과 같은 인자에 따라 다르지만, 그럼에도 불구하고, 예를 들어 투여되는 특정 제제, 투여 경로, 및 치료받는 대상체 또는 숙주를 비롯한 사례 주변의 특정 상황에 따라 당업계에 알려진 방식으로 통상적으로 결정된다. 일부 경우에, 원하는 용량은 단회 용량으로, 또는 동시에(또는 단기간에 걸쳐) 또는 적절한 간격으로 투여되는 분할 용량으로, 예를 들어 매일 2회, 3회, 4회 이상의 하위용량으로 편리하게 제시된다.

[0784] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약 8 μg/kg 내지 24 μg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약 8 μg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약 16 μg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약 24 μg/kg의 용량으로 투여된다. 임의의 이들 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 3주마다 본원에 기술된 바와 같은 용량으로 투여된다.

[0785] 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체는 단독으로 또는 IL-2 콘쥬게이트와 조합하여, 상기 항체에 대해 안전하고 효능이 있는 것으로 결정된 용량으로, 그리고 투여 요법을 사용하여 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체는 정맥내 주입에 의해 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회, 8주에 1회, 9주에 1회, 10주에 1회, 11주에 1회, 12주에 1회, 13주에 1회, 14주에 1회, 15주에 1회, 16주에 1회, 17주에 1회, 18주에 1회, 19주에 1회, 20주에 1회, 21주에 1회, 22주에 1회, 23주에 1회, 24주에 1회, 25주에 1회, 26주에 1회, 27주에 1회, 또는 28주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 주 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 2주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 3주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 4주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 5주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또

다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 6주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 7주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 8주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 9주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 10주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 11주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 12주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 13주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 14주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 15주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 16주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 17주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 18주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 19주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 20주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 21주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 22주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 23주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 이를 필요로 하는 대상체에게 24주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙(또는 또 다른 항-EGFR 항체)은 약 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21일마다 1회 투여된다.

[0786] 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체는 세툭시맙이다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 100 mg/m^2 내지 약 500 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 본원에 기술된 임의의 실시 형태에서, 세툭시맙의 로딩 용량은 대상체의 체표면적 1 m^2당 mg이다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 100 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 150 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 200 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 250 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 300 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 350 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 400 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 450 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 정맥내 주입에 의해 약 500 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙의 초기 용량은 정맥내 주입에 의해 약 400 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여되고, 세툭시맙의 모든 후속 용량은 정맥내 주입에 의해 약 250 mg/m^2의 로딩 용량으로 투여된다. 임의의 이들 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 30~240분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 30분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 60분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 90분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 120분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 150분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 180분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 210분에 걸쳐 주입된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 240분에 걸쳐 주입된다. 임의의 이들 실시 형태에서, 세툭시맙은 약 1 mg/분 내지 약 10 mg/분, 예컨대 1 mg/분, 2 mg/분, 3 mg/분, 4 mg/분, 5 mg/분, 6 mg/분, 7 mg/분, 8 mg/분, 9 mg/분, 또는 10 mg/분의 주입 속도로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙의 제1 용량은 세툭시맙의 후속 용량들의 용량보다 더 높은 로딩 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙의 제1 용량의 주입 시간은 세툭시맙의 후속 용량들의 주입 시간보다 더 길다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 3주마다 본원에 기술된 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 2주마다 본원에 기술된 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙은 매주 본원에 기술된 용량으로 투여된다.

[0787] *추가 제제/예비투약제*

[0788] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 항히스타민제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시

형태에서, 항히스타민제는 세티리진이다. 일부 실시 형태에서, 항히스타민제는 프로메타진이다. 일부 실시 형태에서, 항히스타민제는 덱스클로르페니라민이다. 일부 실시 형태에서, 항히스타민제는 디펜히드라민이다. 일부 실시 형태에서, 디펜히드라민은 약 25 내지 50 mg의 용량으로 정맥내 투여된다.

[0789] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 아세트아미노펜과 같은 진통제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 아세트아미노펜은 약 650 내지 1000 mg의 용량으로 경구 투여된다.

[0790] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 그라니세트론이다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 돌라세트론이다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 트로피세트론이다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 팔로노세트론이다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 온단세트론이다. 일부 실시 형태에서, 온단세트론은 약 8 mg 내지 0.15 mg/kg의 용량으로 정맥내 투여된다.

[0791] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 항히스타민제(예컨대 세티리진, 프로메타진, 덱스클로르페니라민 또는 디펜히드라민), 진통제(예컨대 아세트아미노펜) 및/또는 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제(예컨대 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론 또는 온단세트론)를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 방법은 항히스타민제(예컨대 세티리진, 프로메타진, 덱스클로르페니라민 또는 디펜히드라민) 및 진통제(예컨대 아세트아미노펜)를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 방법은 항히스타민제(예컨대 세티리진, 프로메타진, 덱스클로르페니라민 또는 디펜히드라민) 및 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제(예컨대 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론 또는 온단세트론)를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 방법은 진통제(예컨대 아세트아미노펜) 및 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제(예컨대 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론 또는 온단세트론)를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 항히스타민제(예컨대 세티리진, 프로메타진, 덱스클로르페니라민 또는 디펜히드라민), 진통제(예컨대 아세트아미노펜) 및 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제(예컨대 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론 또는 온단세트론)를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0792] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 예를 들어 주입-관련 반응(IAR) 또는 독감-유사 증상의 급성 효과를 예방하거나 감소시키기 위해 예비투약제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 IL-2 콘쥬게이트 및/또는 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)를 투여하기 전에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 IL-2 콘쥬게이트를 투여하기 전에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)를 투여하기 전에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)를 투여하기 전에 투여된다.

[0793] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제는 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제와 상이하다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제는 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제와 동일하다. IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제가 동일한 일부 경우에는 예비투약제의 단회 용량만이 투여된다. IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제가 동일한 다른 경우에는 예비투약제의 다회 용량이 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 IL-2 콘쥬게이트의 모든 투여 용량에 대해 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 IL-2 콘쥬게이트의 처음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 용량에 대해 투여되고 IL-2 콘쥬게이트의 임의의 후속 용량에 대해서는 투여되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 IL-2 콘쥬게이트의 처음 4회 용량에 대해 투여되고 IL-2 콘쥬게이트의 임의의 후속 용량에 대해서는 투여되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)의 모든 투여 용량에 대해 예비투약제가 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 항-EGFR 항체(예를 들어, 세툭시맙)의 처음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 용량에 대해 투여되고 항-EGFR 항체의 임의의 후속 용량에 대해서는 투여되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 항-EGFR 항체(예를 들어, 세툭시맙)의 첫 번째 용량에 대해 투여되고 항-EGFR 항체의 임의의 후속 용량에 대해서는 투여되지 않는다.

[0794] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 IL-2 콘쥬게이트를 투여하기 전에 예비투약제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 예비투약제는 세티리진, 프로메타진, 덱스클로르페니라민 또는 디펜히드라민과 같은 항히스타민제이다. 일부 실시 형태에서, 항히스타민제는 디펜히드라민이다. 일부 실시 형태에서, 디펜히드라민은 약 25 내지 50 mg의 용량으로 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2

콘쥬게이트 예비투약제는 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제(예컨대 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론 또는 온단세트론)이다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 온단세트론이다. 일부 실시 형태에서, 온단세트론은 약 8 mg 내지 0.15 mg/kg의 용량으로 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 예비투약제는 진통제(예컨대 아세트아미노펜)이다. 일부 실시 형태에서, 아세트아미노펜은 약 650 내지 1000 mg의 용량으로 경구 투여된다.

[0795] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)를 투여하기 전에 예비투약제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체 예비투약제는 세티리진, 프로메타진, 덱스클로르페니라민 또는 디펜히드라민과 같은 항히스타민제이다. 일부 실시 형태에서, 항히스타민제는 디펜히드라민이다. 일부 실시 형태에서, 디펜히드라민은 약 25 내지 50 mg의 용량으로 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 세툭시맙 예비투약제는 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제(예컨대 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론 또는 온단세트론)이다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 온단세트론이다. 일부 실시 형태에서, 온단세트론은 약 8 mg 내지 0.15 mg/kg의 용량으로 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 항-EGFR 항체 예비투약제는 진통제(예컨대 아세트아미노펜)이다. 일부 실시 형태에서, 아세트아미노펜은 약 650 내지 1000 mg의 용량으로 경구 투여된다.

[0796] 일부 실시 형태에서, 본원에 기술된 임의의 방법은 IL-2 콘쥬게이트를 투여하기 전에 제1 용량의 예비투약제를 투여하고 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)를 투여하기 전에 제2 용량의 예비투약제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제는 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제와 동일하다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제는 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제와 상이하다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 세티리진, 프로메타진, 덱스클로르페니라민 또는 디펜히드라민과 같은 항히스타민제이다. 일부 실시 형태에서, 항히스타민제는 디펜히드라민이다. 일부 실시 형태에서, 디펜히드라민은 약 25 내지 50 mg의 용량으로 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제(예컨대 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론 또는 온단세트론)이다. 일부 실시 형태에서, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제는 온단세트론이다. 일부 실시 형태에서, 온단세트론은 약 8 mg 내지 0.15 mg/kg의 용량으로 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 진통제(예컨대 아세트아미노펜)이다. 일부 실시 형태에서, 아세트아미노펜은 약 650 내지 1000 mg의 용량으로 경구 투여된다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 항히스타민제 및 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 항히스타민제 및 진통제를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제 및 진통제를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 예비투약제는 항히스타민제, 세로토닌 5-HT_3 수용체 길항제 및 진통제를 포함한다. IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제가 (디펜히드라민과 같이) 동일한 일부 경우에는 예비투약제의 단회 용량만이 투여된다. IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제가 동일한 다른 경우에는 예비투약제의 다회 용량이 투여된다.

[0797] 본원에 기술된 방법의 일부 실시 형태에서, 투약 순서는 다음과 같다: (i) 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제; (ii) 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙); (iii) IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제; 및 (iv) IL-2 콘쥬게이트. 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제가 IL-2 콘쥬게이트(예컨대 디펜히드라민)에 대한 예비투약제와 동일한 일부 변형에서, IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제의 투여는 생략될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 투약 순서는 다음과 같다: (i) IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제; (ii) IL-2 콘쥬게이트; (iii) 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제; 및 (iv) 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙). 항-EGFR 항체(예컨대 세툭시맙)에 대한 예비투약제가 IL-2 콘쥬게이트(예컨대 디펜히드라민)에 대한 예비투약제와 동일한 일부 변형에서, 항-EGFR 항체에 대한 예비투약제의 투여는 생략될 수 있다.

[0798] *대상체*

[0799] 일부 실시 형태에서, 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 성인에 대한 것이다. 일부 실시 형태에서, 성인은 남성이다. 다른 실시 형태에서, 성인은 여성이다. 일부 실시 형태에서, 성인은 적어도 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 또는 95세이다. 일부 실시 형태에서, 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 유아, 소아 또는 청소년에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 적어도 1개월, 2개월, 3개월, 6개월, 9개월 또는 12개월령이다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 또는 19세이다.

[0800] 일부 실시 형태에서, 대상체는 RECIST v1.1에 의해 결정되는 바와 같은 측정 가능한 질환(즉, 암)을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 미국 동부 종양학 협력 그룹(Eastern Cooperative Oncology Group; ECOG) 수행 능력 상태가 0 또는 1인 것으로 결정되었다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 적절한 심혈관, 혈액학적, 간 및 신장 기능을 가지며, 이는 의사에 의해 결정되는 바와 같다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 12주 이상의 기대 수명을 갖는 것으로 (예를 들어, 의사에 의해) 결정되었다.

[0801] 일부 실시 형태에서, 대상체는 적절한 심혈관, 혈액학적, 간 및 신장 기능을 갖는다.

[0802] 일부 실시 형태에서, 대상체는 임상적 판단(즉, 의사에 의해 결정되는 바와 같음)에 따라 안전하게 생검에 접근할 수 있는 위치를 갖는 적어도 하나의 종양 병변을 갖는 진행성 및/또는 전이성 고형 종양의 진단이 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인되었다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전에 선행 항암 요법을 받았다. 일부 실시 형태에서, 선행 항암 요법의 치료 관련 독성이 적절한 수준까지 해결되었다.

[0803] 일부 실시 형태에서, 대상체는 가임기 여성이고 치료 동안 및 마지막 치료 용량이 투여된 후 적어도 3개월 동안 의학적으로 허용되는 산아 제한 방법을 사용하고 있다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전 7일 이내에 (혈청 임신 테스트에 의해) 임신에 대해 음성으로 테스트된 폐경전 여성이다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전 7일 이내에 (혈청 임신 테스트에 의해) 임신에 대해 음성으로 테스트된 폐경 후 12개월 미만의 여성이다.

[0804] 일부 실시 형태에서, 대상체는 외과적으로 불임이 아니며 치료 동안 및 마지막 용량이 투여된 후 적어도 3개월 동안 의학적으로 허용되는 산아 제한 방법을 사용하고 있는 남성이다. 일부 실시 형태에서, 남성은 치료 기간 동안 및 마지막 치료 용량의 투여 후 적어도 3개월 동안 정자를 기증하지 않거나 정자 은행에 보관하지 않는다.

[0805] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 14일 이내에 방사선 요법을 받지 않았다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 7일 이내에 고식적 방사선 또는 정위적 방사선수술을 받지 않았다.

[0806] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 2주 이내에 전신 항암 요법 또는 연구용 항암제로 치료받지 않았다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 4주 이내에 면역요법 또는 티로신 키나아제 억제제 요법으로 치료받지 않았다.

[0807] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 30일 이내에 대수술을 받지 않았다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전 30일보다 더 이전에 대수술을 받았고 상기 시술과 관련된 임의의 부작용으로부터 적어도 1등급까지 회복되었다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 치료 과정 동안 대수술의 필요성을 예상하지 않는다.

[0808] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전 3개월 이내에 전신 치료를 필요로 하는 활동성 자가면역 질환을 앓지 않았다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전에 전신 스테로이드 또는 면역억제제를 필요로 하는 임상적 중증 자가면역 질환의 이력이 기록된 적이 없었다.

[0809] 일부 실시 형태에서, 대상체는 원발성 중추신경계(CNS) 질환 또는 연수막 질환을 갖지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 알려진 CNS 전이를 갖지만 적절한 치료를 받았고, 제1 치료 용량의 투여 전 적어도 8주 동안 방사선학적 진행의 증거 없이 무증상이고, 제1 치료 용량의 투여 전 14일 이내에 항경련제를 유도하는 스테로이드 또는 효소에 대한 요구가 없었다.

[0810] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 6개월 이내에 폐렴, 활동성 폐렴, 스테로이드 사용을 필요로 하는 간질성 폐 질환, 특발성 폐 섬유증, 확인된 흉막 삼출, 및 안정시 중증 호흡곤란 또는 보충 산소 요법을 필요로 하는 중증 호흡곤란을 비롯한 비정상적인 폐 기능을 갖지 않았다.

[0811] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 14일 이내에 비경구적 항생제를 복용하지 않았다.

[0812] 일부 실시 형태에서, 대상체는 동종이계 또는 고형 장기 이식의 이력이 없다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염 또는 C형 간염의 활동성 감염을 갖지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 통제되지 않는 B형 간염 바이러스(HBV) 감염을 갖지 않는다.

[0813] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전 2주 이내에 임상적으로 유의한 출혈(예를 들어, 위장관 출혈, 두개내 출혈)이 없었다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량을 투여한지 3개월 이내에 심부 정맥 혈전증 또는 폐색전증의 이전 진단이 없었다.

[0814] 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전 6개월 이내에 중증 또는 불안정 심장 병태(예컨대 울혈성 심부전(뉴욕 심장 협회 클래스 III 또는 IV), 심장 바이패스 수술 또는 관상 동맥 스텐트 배치, 혈관성형술, 정상의 하한 미만의 심장 박출률, 불안정 협심증, 의학적으로 통제되지 않는 고혈압(예를 들어 ≥160 mmHg 수축기 또는 ≥100 mmHg 이완기), 약물이 필요한 통제되지 않는 심장 부정맥(NCI CTCAE v5.0에 따라 2등급 이상) 또는 심근 경색)이 없었다.

[0815] 일부 실시 형태에서, 대상체는 남성에서 > 450 밀리초(msec) 또는 여성에서 > 470 msec의, Fridericia의 공식을 사용하여 결정된, 약리학적으로 유도된 것이 아닌 연장된 교정 QT 간격(QTcF)의 이력이 없다.

[0816] 일부 실시 형태에서, 대상체는 본원에 개시된 임의의 IL-2 콘쥬게이트, PEG, 페길화된 약물, 또는 예를 들어 세툭시맙과 같은 항-EGFR 항체에 대해 알려진 과민성 또는 금기 사항이 없다.

[0817] 일부 실시 형태에서, 대상체는 활동성 이차 악성종양을 갖지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 이전 악성종양의 이력이 없다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 제1 치료 용량의 투여 전에 근치적으로 외과적으로 절제된 비흑색종 피부암 또는 자궁경부암을 앓았다.

[0818] 일부 실시 형태에서, 대상체는 임의의 심각한 의학적 병태(기존 자가면역 질환 또는 염증성 장애 포함), 검사실 이상, 정신과적 병태, 또는 치료를 배제하거나 치료를 부적절하게 만드는 임의의 다른 유의한 또는 불안정한 동시적 의학적 질병을 갖지 않는다.

[0819] 일부 실시 형태에서, 대상체는 임신 중이 아니거나 모유 수유 중이 아니다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 치료 과정 동안 및 최종 치료 용량 투여 후 최대 3개월 후 아이를 임신하거나 아이의 아버지가 될 것으로 예상되지 않는다.

[0820] 일부 실시 형태에서, 대상체는 치료 과정 동안 임의의 임상시험(investigational) 제제, 백신 또는 디바이스를 이용한 동시 요법을 받고 있지 않다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 의사의 승인 후 치료 과정 동안 임상시험 제제, 백신 또는 디바이스를 이용한 동시 요법을 받고 있다.

[0821] *투여 효과*

[0822] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체를 투여한 후, 대상체는 고형 종양의 면역-관련 반응 평가 기준 (iRECIST)에 의해 측정된 바와 같은 반응을 경험한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 후, 대상체는 RECIST 버전 1.1에 따른 객관적 반응률(ORR)을 경험한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 후, 대상체는 RECIST 버전 1.1에 따른 반응 지속 기간(DOR)을 경험한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 후, 대상체는 RECIST 버전 1.1에 따른 무진행 생존(PFS)을 경험한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 후, 대상체는 RECIST 버전 1.1에 따른 전체 생존성을 경험한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 후, 대상체는 RECIST 버전 1.1에 따른 반응까지의 시간(TTR)을 경험한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 후, 대상체는 RECIST 버전 1.1에 따른 질병 통제율(DCR)을 경험한다. 임의의 이들 실시 형태에서, 대상체의 경험은 대상체의 촬영된 방사선 이미지에 대한 의사의 검토를 기반으로 한다.

[0823] 일부 실시 형태에서, 치료는 대상체의 촬영된 방사선 이미지에 대한 의사의 검토를 기반으로 하여 중단된다.

[0824] 일부 실시 형태에서, 치료는 다양한 시점에서 말초 혈액의 면역표현형 분석에 대한 의사의 검토를 기반으로 하여 중단된다. 일부 실시 형태에서, 치료는 다양한 시점에서 종양 샘플의 면역표현형 분석에 대한 의사의 검토를 기반으로 하여 중단된다. 일부 실시 형태에서, 치료는 다양한 시점에서 본원에 개시된 임의의 IL-2 콘쥬게이트에 대한 항체의 존재에 대한 의사의 검토를 기반으로 하여 중단된다. 일부 실시 형태에서, 치료는 다양한 시점에서 본원에 개시된 임의의 IL-2 콘쥬게이트의 혈장 농도에 대한 의사의 검토를 기반으로 하여 중단된다. 임의의 이들 실시 형태에서, 의사의 검토는 관련 파라미터의 적절한 분석을 기반으로 한다.

[0825] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 2등급, 3등급, 또는 4등급 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 2등급 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 3등급 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 4등급 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다.

[0826] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 혈관 긴장도의 손실을 야기하지 않는다.

[0827] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 혈관외 공간 내로의 혈장 단백질 및 체액의 혈관외 유출을 야기하지 않는다.

[0828] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 저혈압 및 기관 관류 감소를 야기하지 않는다.

[0829] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 호중구 기능 손상을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 주화성 감소를 야기하지 않는다.

[0830] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 파종성 감염의 위험 증가와 관련되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 파종성 감염은 패혈증 또는 세균성 심내막염이다. 일부 실시 형태에서, 파종성 감염은 패혈증이다. 일부 실시 형태에서, 파종성 감염은 세균성 심내막염이다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 전에 임의의 기존 세균성 감염에 대해 치료를 받는다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여 전에 옥사실린, 나프실린, 시프로플록사신 및 반코마이신으로부터 선택되는 항균제를 이용한 치료를 받는다.

[0831] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 자가면역 질환 또는 염증성 장애의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 자가면역 질환의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 염증성 장애의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 크론병, 경피증, 갑상선염, 염증성 관절염, 진성 당뇨병, 안구-구근 중증 근무력증, 반월상 IgA 사구체신염, 담낭염, 뇌혈관염, 스티븐스-존슨 증후군 및 수포성 유천포창으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 크론병이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 경피증이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 갑상선염이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 염증성 관절염이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 진성 당뇨병이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 안구-구근 중증 근무력증이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 반월상 IgA 사구체신염이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 담낭염이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 뇌혈관염이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 스티븐스-존슨 증후군이다. 일부 실시 형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 수포성 유천포창이다.

[0832] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 정신 상태의 변화, 언어 장애, 피질맹, 사지 또는 보행 실조증, 환각, 동요, 둔감 또는 혼수 상태를 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 발작을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 공지된 발작 장애를 갖는 대상체에서 금기 사항이 아니다.

[0833] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 2등급, 3등급, 또는 4등급 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 2등급 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 3등급 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 4등급 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다.

[0834] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에게 IL-2 콘쥬게이트를 투여한 후 대상체에서 평균 동맥 혈압의 저하를 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 저혈압을 야기한다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체가 90 mm Hg 미만의 수축기 혈압 또는 기

준선 수축기 혈압으로부터의 20 ㎜ Hg 강하를 경험하게 하지 않는다.

[0835] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 부종 또는 신장 또는 간 기능의 손상을 야기하지 않는다.

[0836] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 호산구 증가증을 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 500개/μL를 초과하지 않도록 한다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 500 μL 내지 1500개/μL를 초과하지 않도록 한다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 1500개/μL 내지 5000개/μL를 초과하지 않도록 한다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 5000개/μL를 초과하지 않도록 한다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 기존의 향정신성 약물 요법을 받는 대상체에서 금기 사항이 아니다.

[0837] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 신독성, 골수독성, 심장독성 또는 간독성 약물의 기존 요법을 받는 대상체에서 금기 사항이 아니다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 아미노글리코시드, 세포독성 화학요법, 독소루비신, 메토트렉세이트 또는 아스파라기나아제의 기존 요법을 받는 대상체에서 금기 사항이 아니다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 항신생물제를 함유하는 병용 요법을 받는 대상체에서 금기 사항이 아니다. 일부 실시 형태에서, 항신생물제는 다카르바진, 시스-백금, 타목시펜 및 인터페론-알파로부터 선택된다.

[0838] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에게 IL-2 콘쥬게이트를 투여한 후 대상체에서 하나 이상의 4등급 유해 사례를 야기하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 4등급 유해 사례는 저체온증; 쇼크; 서맥; 심실 주기외수축; 심근 허혈; 실신; 출혈; 심방 부정맥; 정맥염; 2도 AV 차단; 심내막염; 심낭 삼출; 말초 괴저; 혈전증; 관상 동맥 장애; 구내염; 오심 및 구토; 간 기능 검사 비정상; 위장관 출혈; 토혈; 혈성 설사; 위장 장애; 장 천공; 췌장염; 빈혈; 백혈구 감소증; 백혈구 증가증; 저칼슘혈증; 알칼리 포스파타아제 증가; 혈액 요소 질소(BUN) 증가; 고요산혈증; 비-단백질 질소(NPN) 증가; 호흡성 산증; 졸림; 동요; 신경병증; 편집병양 반응; 경련; 대발작 경련; 섬망; 천식, 폐 부종; 과호흡; 저산소증; 객혈; 저호흡; 기흉; 산동; 동공 장애; 신장 기능 이상; 신부전; 및 급성 세뇨관 괴사로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 대상체 군에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에게 IL-2 콘쥬게이트를 투여한 후 1% 이하의 대상체에서 하나 이상의 4등급 유해 사례를 야기한다. 일부 실시 형태에서, 4등급 유해 사례는 저체온증; 쇼크; 서맥; 심실 주기외수축; 심근 허혈; 실신; 출혈; 심방 부정맥; 정맥염; 2도 AV 차단; 심내막염; 심낭 삼출; 말초 괴저; 혈전증; 관상 동맥 장애; 구내염; 오심 및 구토; 간 기능 검사 비정상; 위장관 출혈; 토혈; 혈성 설사; 위장 장애; 장 천공; 췌장염; 빈혈; 백혈구 감소증; 백혈구 증가증; 저칼슘혈증; 알칼리 포스파타아제 증가; 혈액 요소 질소(BUN) 증가; 고요산혈증; 비-단백질 질소(NPN) 증가; 호흡성 산증; 졸림; 동요; 신경병증; 편집병양 반응; 경련; 대발작 경련; 섬망; 천식, 폐 부종; 과호흡; 저산소증; 객혈; 저호흡; 기흉; 산동; 동공 장애; 신장 기능 이상; 신부전; 및 급성 세뇨관 괴사로부터 선택된다.

[0839] 일부 실시 형태에서, 대상체 군에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에게 IL-2 콘쥬게이트를 투여한 후 1% 이하의 대상체에서 하나 이상의 유해 사례를 야기하며, 여기서, 상기 하나 이상의 유해 사례는 십이지장 궤양; 장 괴사; 심근염; 심실상빈맥; 시신경염에 이차적인 영구적 또는 일시적 실명; 일과성 허혈 발작; 수막염; 뇌 부종; 심낭염; 알러지성 간질성 신염; 및 기관식도 누공으로부터 선택된다.

[0840] 일부 실시 형태에서, 대상체 군에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는, 투여 후 1% 이하의 대상체에서 하나 이상의 유해 사례를 야기하며, 여기서, 상기 하나 이상의 유해 사례는 악성 고열증; 심정지; 심근 경색증; 폐색전; 뇌졸중; 장 천공; 간부전 또는 신부전; 자살로 이어지는 중증 우울증; 폐 부종; 호흡 정지; 호흡 부전으로부터 선택된다.

[0841] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 말초 CD4+ 조절 T 세포의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 말초 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시킨다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 말초 호산구의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 말초 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시킨다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘쥬게이트

및 항-EGFR 항체의 투여는 대상체에서 종양내 CD4+ 조절 T 세포의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 종양내 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시키지 않으면서, 대상체에서 말초 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시킨다.

[0842] 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 유효량의 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 집중 치료 시설의 가용성 또는 심폐 또는 집중 치료 의학의 숙련된 전문가의 가용성을 필요로 하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘쥬게이트의 유효량의 투여는 집중 치료 시설의 가용성 또는 심폐 또는 집중 치료 의학의 숙련된 전문가의 가용성을 필요로 하지 않는다. 대상체에 대한 IL-2 콘쥬게이트의 유효량의 투여는 집중 치료 시설의 가용성을 필요로 하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘쥬게이트의 유효량의 투여는 심폐 또는 집중 치료 의학 분야의 숙련된 전문가의 가용성을 필요로 하지 않는다.

[0843] 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체 병용 요법제의 투여는 예를 들어 항-EGFR 항체의 ADCC 기능을 개선함으로써 암에 대한 ADCC 반응을 개선한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체 병용 요법제의 투여는 선천 및 적응 면역 세포를 확장시킨다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체 병용 요법제의 투여는 종양 미세환경 내에서의 면역 활성화를 촉진한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체의 투여는 이들 중 어느 하나의 제제 단독의 항암 활성과 비교할 때 상기 두 제제의 조합의 항암 활성의 상승적 개선을 초래한다. 일부 실시 형태에서, IL-2 콘쥬게이트의 투여는 NK 세포의 활성화의 양 및 수를 증가시키고, 이는 항-EGFR 항체에 의해 촉발되는 ADCC를 강화시킨다.

[0844] *추가 제제*

[0845] 일부 실시 형태에서, 본 방법은 대상체에게 항-EGFR 항체에 더하여 하나 이상의 화학요법제의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 하나 이상의 백금계 화학요법제를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 카르보플라틴 및 페메트렉세드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 카르보플라틴 및 nab-파클리탁셀을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 카르보플라틴 및 도세탁셀을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 대상체의 암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다.

[0846] **키트/제조 물품**

[0847] 특정 실시 형태에서, 본원에 기술된 하나 이상의 방법 및 조성물과 함께 사용하기 위한 키트 및 제조 물품이 본원에 개시된다. 이러한 키트는 바이알, 튜브 등과 같은 하나 이상의 용기를 수용하도록 구획화된 캐리어, 패키지, 또는 용기를 포함하고, 각각의 용기는 본원에 기재된 방법에 사용될 개별 요소들 중 하나를 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 주사기, 및 시험관을 포함한다. 일 실시 형태에서, 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성된다. 이 키트는 IL-2 콘쥬게이트 및 항-EGFR 항체를 포함한다.

[0848] 전형적으로 키트는 내용물을 열거한 라벨 및/또는 사용 설명서, 및 사용 설명서가 있는 패키지 인서트를 포함한다. 전형적으로 설명서 세트도 포함될 것이다.

[0849] 일 실시 형태에서, 라벨은 용기 상에 있거나 용기와 결부되어 있다. 일 실시 형태에서, 라벨을 구성하는 글자, 숫자, 또는 다른 문자가 용기 자체에 부착, 성형, 또는 에칭된 경우 라벨은 용기 상에 있고, 라벨이 예를 들어 패키지 인서트로서, 용기를 또한 수용하는 리셉터클 또는 캐리어 내에 존재하는 경우 라벨은 용기와 결부되어 있다. 일 실시 형태에서, 라벨은 내용물이 특정 치료 용도로 사용될 것임을 나타내기 위해 사용된다. 라벨은 또한, 예컨대 본원에 기술된 방법에서 내용물의 사용 지침을 나타낸다.

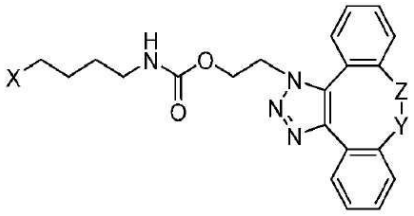
[0850] 특정 실시 형태에서, 제약 조성물은 본원에 제공된 화합물을 함유하는 하나 이상의 단위 투여 형태를 함유하는 팩 또는 디스펜서 장치 형태로 제공된다. 팩은 예를 들어 금속 또는 플라스틱 호일, 예컨대 블리스터 팩을 함유한다. 일 실시 형태에서, 팩 또는 디스펜서 장치에는 투여 설명서가 함께 제공된다. 일 실시 형태에서, 팩 또는 디스펜서에는 또한 의약품의 제조, 사용, 또는 판매를 규제하는 정부 기관이 정한 형태로 용기와 관련된 안내문이 함께 제공되며, 이 안내문은 인체 또는 수의학적 투여용 약물 형태에 대한 기관의 승인을 반영한다. 이러한 안내문은, 예를 들어 미국 식품의약국에서 의약품에 대해 승인한 라벨링, 또는 승인된 제품 인서트이다. 일 실시 형태에서, 적합한 약학적 담체에 제형화된 본원에 제공된 화합물을 함유하는 조성물이 또한 제조되고, 적절한 용기에 배치되고, 표시된 병태의 치료에 대해 표지된다.

[0851] **예시적인 실시 형태**

[0852] 본 발명은 하기 실시 형태에 의해 추가로 설명된다. 각각의 실시 형태의 특징은 적절하고 실용적인 경우 다른 실시 형태와 결합될 수 있다.

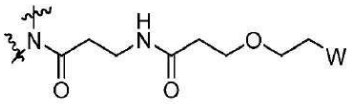
[0853] 실시 형태 P1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 항-EGFR 항체를 투여하는 단계를 포함하고, IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트의 하나 이상의 아미노산 잔기가 하기 화학식 I의 구조(또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물)로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는, 방법:

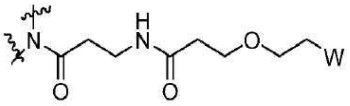
[0854] [화학식 I]

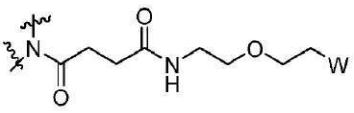


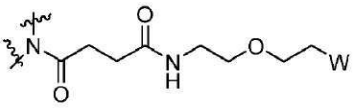
[0855]

[0856] 여기서,

[0857] Z는 CH_2이고 Y는  이거나;

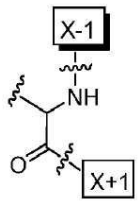
[0858] Y는 CH_2이고 Z는  이거나;

[0859] Z는 CH_2이고 Y는  이거나; 또는

[0860] Y는 CH_2이고 Z는  이며;

[0861] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

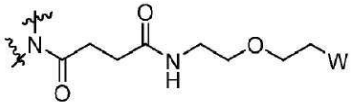
[0862] X는 하기 구조:

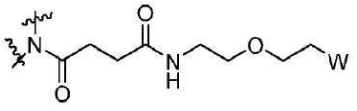
[0863]  를 가지며;

[0864] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0865] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0866] IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다.

[0867] 실시 형태 P2. 실시 형태 P1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH_2이고, Y는  인, 방법.



[0868] 실시 형태 P3. 실시 형태 P1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH_2이고, Z는 인, 방법.

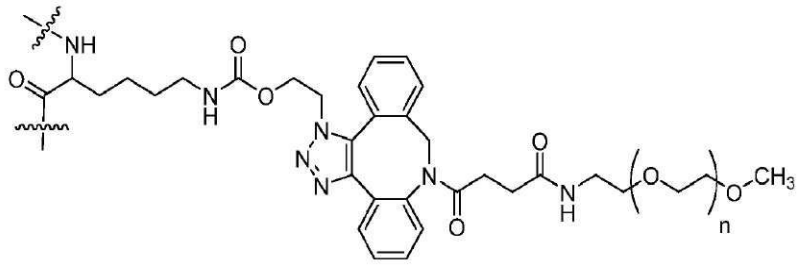
[0869] 실시 형태 P4. 실시 형태 P1 내지 P3 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 25 kDa, 30kDa, 또는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

[0870] 실시 형태 P5. 실시 형태 4에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

[0871] 실시 형태 P6. 실시 형태 P1 내지 P5 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서 화학식 I의 구조의 위치는 P64인, 방법.

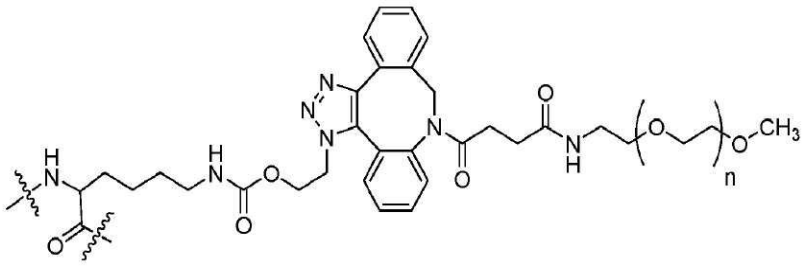
[0872] 실시 형태 P7. 실시 형태 P1에 있어서, 화학식 I의 구조는 하기 화학식 XII 또는 하기 화학식 XIII의 구조(또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물)를 갖거나, 또는 하기 화학식 XII의 구조와 하기 화학식 XIII의 구조의 혼합물(또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물)인, 방법:

[0873] [화학식 XII]



[0874]

[0875] [화학식 XIII]



[0876]

[0877] 여기서,

[0878] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0879] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

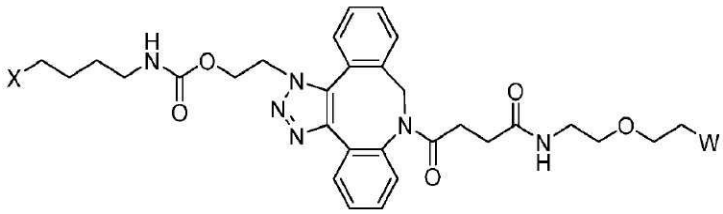
[0880] 실시 형태 P8. 실시 형태 P7에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$이 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수인, 방법.

[0881] 실시 형태 P9. 실시 형태 P8에 있어서, IL-2 콘쥬게이트에서 n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수인, 방법.

[0882] 실시 형태 P10. 실시 형태 P7 내지 P9 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조의 위치는 P64인, 방법.

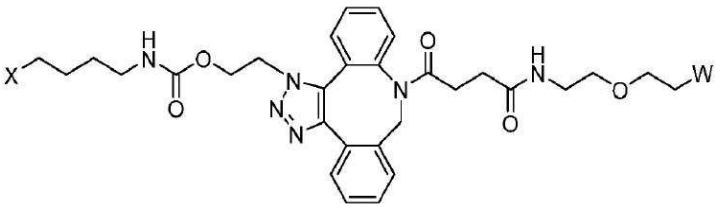
[0883] 실시 형태 P11. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 항-EGFR 항체를 투여하는 단계를 포함하고, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 IV 또는 하기 화학식 V의 구조(또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물)를 갖거나, 또는 하기 화학식 IV의 구조와 하기 화학식 V의 구조의 혼합물(또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물)인, 방법:

[0884] [화학식 IV]



[0885]

[0886] [화학식 V]

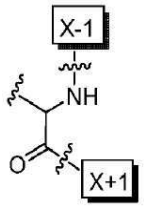


[0887]

[0888] 여기서,

[0889] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0890] X는 하기 구조:



[0891] 를 가지며;

[0892] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0893] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

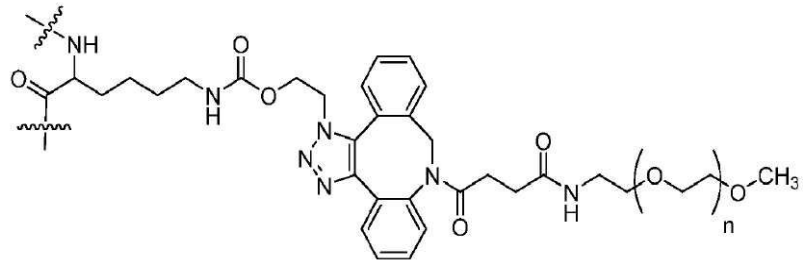
[0894] 실시 형태 P12. 실시 형태 P11에 있어서, W는 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0895] 실시 형태 P13. 실시 형태 P12에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0896] 실시 형태 P14. 실시 형태 P1 내지 P13 중 어느 하나에 있어서, 항-EGFR 항체는 세툭시맙인, 방법.

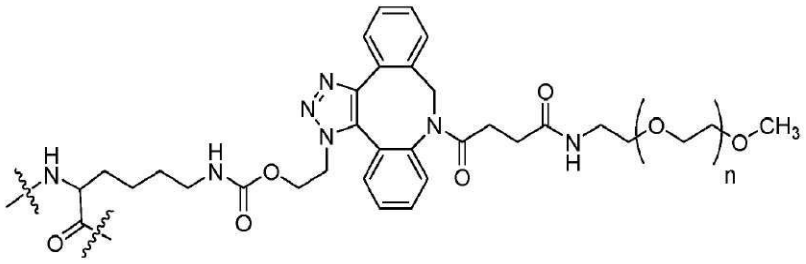
[0897] 실시 형태 P15. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 세툭시맙을 투여하는 단계를 포함하고, IL-2 콘쥬게이트는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 XII 또는 하기 화학식 XIII의 구조(또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물)를 갖거나, 또는 하기 화학식 XII의 구조와 하기 화학식 XIII의 구조의 혼합물(또는 이의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 또는 수화물)인, 방법:

[0898] [화학식 XII]



[0899]

[0900] [화학식 XIII]



[0901]

[0902] 여기서,

[0903] n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이며;

[0904] 물결선은 대체되지 않은 서열 번호 50 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0905] 실시 형태 P16. 실시 형태 P1 내지 P15 중 어느 하나에 있어서, 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 고전적 호지킨 림프종(cHL), 원발성 종격동 거대 B 세포 림프종(PMBCL), 요로상피 암종, 현미부수체 불안정 암, 현미부수체 안정 암, 위암, 결장암, 결장직장암, 자궁경부암, 간세포 암종(HCC), 메르켈 세포 암종(MCC), 흑색종, 소세포폐암(SCLC), 식도암, 식도 편평세포암종(ESCC), 교모세포종, 중피종, 유방암, 삼중 음성 유방암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암, 전이성 거세 저항성 전립선암, 또는 DNA 손상 반응(DDR) 결함이 있는 전이성 거세 저항성 전립선암 , 방광암, 난소암, 중등도 내지 저 돌연변이 부담 종양, 피부 편평 세포 암종(CSCC), 편평 세포 피부암(SCSC), 저-발현 내지 비-발현 PD-L1 종양, 해부학적 원발 기원 부위를 넘어 간 및 CNS에 전신적으로 파종된 종양, 및 미만성 거대 B-세포 림프종으로부터 선택되는, 방법.

[0906] 실시 형태 P17. 실시 형태 P1 내지 P16 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 대상체에게 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회 또는 8주에 1회 투여되는, 방법.

[0907] 실시 형태 P18. 실시 형태 P1 내지 P17 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘쥬게이트는 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.

[0908] **실시예**

[0909] 이들 실시예는 예시 목적으로만 제공되고, 본원에 제공된 청구범위의 범주를 제한하기 위한 것이 아니다.

[0910] **실시예 1. IL-2 콘쥬게이트 IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1의 제조.**

[0911] 바이오콘쥬게이션에 사용된 IL-2는 하기를 사용하여, 본원에 개시된 방법들을 사용하여 이. 콜라이에서 봉입체로서 발현되었다: (a) (i) 원하는 아미노산 서열을 갖는 단백질로서, 그 유전자가 비천연 아미노산 *N*6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-라이신(AzK)이 혼입된 원하는 위치에 코돈을 제공하는 제1 비천연 염기쌍을 함유하는, 단백질 및 (ii) 엠. 마제이 Pyl로부터 유래된 tRNA로서, 그 유전자가 그의 천연 서열 대신 매칭 안티코돈을 제공하는 제2 비천연 뉴클레오티드를 포함하는, tRNA를 코딩하는 발현 플라스미드; (b) *메타노사르시카 바케리(M. barkeri)* 유래 피롤라이실-tRNA 신테타아제(*Mb* PylRS)를 코딩하는 플라스미드, (c) AzK; 및 (d) 전장 단백질의 처음 65개의 아미노산 잔기가 결실된 뉴클레오티드 트리포스페이트 수송체 PtNTT2의 절단된 변이체. IL-2 변이체의 아미노산 서열을 코딩하는 이중가닥 올리고뉴클레오티드는 P64가 본원에 기술된 비천연 아미노산으로 대체된 서열 번호 3을 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 코돈 64로서 코돈 AXC를 함유하였다. 엠. 마제이로부터의 직교성 tRNA 유전자를 코딩하는 플라스미드는, 그의 천연 서열 대신 AXC-매칭 안티코돈 GYT를 포함하며, 여기서 Y는 본원에 개시된 비천연 뉴클레오티드이다. X 및 Y는 본원에 개시된 바와 같이 비천연 뉴클레오티드 dTPT3 및 dNaM으로부터 선택되었다. 발현된 단백질을 봉입체로부터 추출하여 재폴딩시키고(표준 절차를 사용), 그 후 DBCO-매개 구리 무함유 클릭 화학을 사용하여 AzK-함유 IL-2 생성물을 부위-특이적으로 페길화하여 안정한 공유 mPEG 모이어티(30 kDa의 평균 분자량을 갖는 메톡시, 선형 PEG 기)를 AzK에 부착하였다(상기 반응식 6에 요약된 바와 같음).

[0912] IL-2 콘쥬게이트 "IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1"은 위치 64에서의 프롤린이 AzK_L1_PEG30kD로 대체된 서열 번호 50을 포함하며, 여기서 AzK_L1_PEG30kD는 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물, 및 30 kDa, 선형 mPEG 사슬로 정의된다. IL-2 콘쥬게이트 "IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1"은 또한 위치 64에서의 프롤린 잔기(P64)가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대

체된 서열 번호 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다. IL-2 콘쥬게이트 "IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1"은 또한 위치 64에서의 프롤린 잔기(P64)가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다.

[0913] **실시예 2. IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1 및 세툭시맙을 사용한 항체 의존성 세포 독성(ADCC) 분석.**

[0914] 세툭시맙의 ADCC 기능에 대한 IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1의 효과를 칼세인-아세티옥시메틸(Calcein-AM; Invitrogen) 방출 분석을 사용하여 검사한다.

[0915] *재료.*

[0916] 하기 세포주를 사용한다: A431(EGFR 고발현 세포주), 인간 PBMC를 건강한 기증자로부터 얻고, EasySep Human NK Cell Enrichment Kit(Stemcell)를 사용하여 풍부화한다.

[0917] 하기 시약을 사용한다: 칼세인-아세티옥시메틸(Calcein-AM; Invitrogen), Probenecid(Invitrogen), 초저 IgG 소 태아 혈청(Thermofisher), 및 인간 이소타입 IgG1 항체(Biolegend).

[0918] *절차.*

[0919] 제조업체 권장 프로토콜에 따라 RoboSep™ 기기를 사용하여 인간 일차 NK 세포를 PBMC로부터 음성 선별한다. 정제된 NK 세포는, 5% CO_2가 포함된 가습 인큐베이터에서 37℃에서 18시간 동안, 다양한 농도(0.1 μg/mL, 0.01 μg/mL, 0.001 μg/mL 및 0 μg/mL)의 IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1을 이용하여, 1% 저 IgG FBS가 보충된 RPMI 1640 배지에서 배양한다. 이러한 배양 세포를 이펙터 세포로 사용한다. 인간 EGFR 양성 암 세포주(A431)를 칼세인-AM으로 30분 동안 표지하고(50 μg을 25 μL DMSO에 희석하여 스톡 용액을 제조하고, 그 후 10 μL의 칼세인 스톡 용액을 4 mL의 RPMI 1640 + 1% 저 IgG FBS + 1% 프로베네시드(4×10^6개의 세포의 염색을 위해)에 첨가함), 그 후 세척하고, 5×10^3개의 세포/웰의 밀도로 96웰 둥근 바닥 플레이트에 플레이팅한다. 세툭시맙 및 이소타입 인간 IgG1 항체를 다양한 농도(10 μg/mL~1 pg/mL)로 30분 동안 첨가하여 옵소닌화를 허용한 후 NK 세포를 첨가한다. IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1로 활성화된 NK 세포를 수집하고, 이펙터 세포로서 3:1의 E:T 비로 첨가한다(2×10^4개의 표적 세포에 대해 6 x 10^4개의 NK 세포). 그 후 플레이트를 5% CO_2가 포함된 가습 인큐베이터에서 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 90 μL의 상청액을 수확하여 불투명한 96웰 마이크로플레이트로 옮겨, Envision 2104 플레이트 판독기(여기: 492 nm, 방출: 515 nm)에서 형광측정법을 사용하여 분석한다.

[0920] 최대 방출을 위해 세포를 2% Triton X-100으로 용해시킨다. 실험 방출(A), 표적 세포 자발적 방출(B), 및 표적 세포 최대 방출(C)의 형광 값에서 배양 배지 백그라운드의 형광 값을 차감한다.

[0921] 각 플레이트(중복)에 대한 세포독성 및 ADCC 백분율을 다음과 같은 공식을 사용하여 계산한다:

[0922] 세포독성 (%) = (A - B) / (C - B)×100

[0923] ADCC (%) = 세포독성 (%, 항체를 이용) - 세포독성 (%, 항체를 이용하지 않음)

[0924] 각 실험에 대해 3개의 중복 웰을 사용하여 측정을 삼중으로 수행한다. 각 실험을 적어도 3회 반복한다. GraphPad Prism 5(GraphPad Software, Inc., 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)를 사용하여 데이터 포인트를 4-파라미터 방정식에 대해 피팅하여 반치 최대 유효 농도(EC50) 값을 계산한다.

[0925] *결과.*

[0926] IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1에 의한 활성화 없이, 세툭시맙 처리된 인간 NK 세포는 EGFR 발현 암 세포주(A431 및 A549)에 대해 세포독성을 나타내지만 EGFR 널(null) 발현 세포(NCI-H69)에 대해서는 그렇지 않다. IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1에 의한 활성화 후, 세툭시맙 처리된 인간 NK 세포는 EGFR 발현 암 세포주(A431 및 A549)에 대해 향상된 세포독성을 나타낸다.

[0927] **실시예 3. IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙의 시험관 내 연구(PBMC ADCC 분석).**

[0928] 인간 PBMC를 칼세인-표지된 암 세포주(CAL27 및 A431)와 함께 공동배양한 것을 사용하여 세툭시맙과 조합된 실시예 1의 IL-2 콘쥬게이트에 의한 항체 의존성 세포 독성(ADCC)의 효과를 조사하기 위해 연구를 수행하였다.

[0929] *CAL27 세포.*

[0930] *시약.*

[0931] 바이오분석 완충제: 1% 초저 IgG FBS를 페놀 레드 무함유 RPMI에 첨가한 것. 완전 분석 완충제: 450 μL 프로베네시드를 45 mL 바이오분석 완충제에 첨가한 것(이때 최종 프로베네시드 농도는 77 μg/mL임). 칼세인-아세톡시메틸 에스테르(Calcein-AM): 25 μL DMSO 중 50 μg. Calcein-AM 염색 완충제: 10 μL Calcein-AM을 4 mL의 완전 분석 완충제에 첨가한 것(최종 Calcein-AM 농도: 5 μg/mL). Triton-X-100 용해 완충제: 20 μL Triton-X-100을 4 mL 완전 분석 완충제에 첨가한 것(최종 농도: 0.5%).

[0932] *절차.*

[0933] 제1일에, IL-2 콘쥬게이트의 6-포인트, 1/5 희석 시리즈(PBS 중)를 제조하였다. IL-2 콘쥬게이트 농도는 2, 0.4, 0.08, 0.016, 0.0032 및 0 μg/mL이었다. PBMC를 200 x g에서 5분 동안 원심분리하여 수집하고, 2천만개의 세포/mL로 페놀 레드 무함유 RPMI + 10% 초저 IgG에 재현탁하였다. 이들 PBMC의 적절한 부피를 다양한 IL-2 콘쥬게이트 희석물이 첨가된 다중-웰 저장소의 6개 섹션으로 옮겼다. PBMC를 위아래로 피펫팅하여 IL-2 콘쥬게이트와 잘 혼합하고, 다중 채널 피펫을 사용하여 50 mL를 둥근 바닥 96웰 플레이트로 옮겼다(웰당 최종 PBMC 수는 100만개였다). 다음 날 대조군 첨가를 위해 6개의 빈 웰을 따로 남겨 두었다. 플레이트를 5% 이산화탄소의 존재 하에 37℃의 가습 인큐베이터에서 하룻밤 인큐베이션하였다.

[0934] 제2일에, CAL27 세포(EGFR-발현 구강 상피 편평 세포 암종 세포주)를 TrypLE 익스프레스(express) 해리 완충제를 사용하여 수확하고, 200 x g에서 5분 동안 원심분리하여 수집하였다. 세포를 카운팅하고, 500만개의 세포를 4 mL calcein-AM 염색 완충제에 재현탁하고, 5% 이산화탄소의 존재 하에 37℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 그 후 세포를 수집하고, 200 x g에서 5분 동안 원심분리에 의해 완전 분석 완충제에서 2회 세척하였다. 세포를 카운팅하고, 20,000개/웰의 최종 표적 세포 수를 위해 40만개의 세포/mL로 재현탁시켰다.

[0935] 세툭시맙 항체(Eli Lilly & Co.)를 1, 0.1, 0.001, 0.0001 μg/mL의 최종 분석 농도를 위해 3X(3, 0.3, 0.03, 0.003 μg/mL)의 작업 농도까지 희석하였다. 이소타입 대조군(hIgG1, Biolegend)을 완전 분석 완충제에서 1 μg/mL의 최종 농도에 대해 3 μg/mL까지 희석하였다. 40만개의 세포/mL의 동일한 부피의 염색된 CAL27 세포를 항체 희석액 또는 이소타입 대조군과 혼합하고, 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하여 항체가 결합하도록 하였다. 인큐베이션 후, 항체-CAL27 세포 혼합물 100 μL를 제1일부터의 IL-2 콘쥬게이트 처리 PBMC 50 μL를 함유하는 96웰 플레이트에 첨가하였다.

[0936] PBMC가 없지만 완전 분석 완충제(백그라운드 신호)로 처리된 50 μL calcein-AM 염색 CAL27 세포 또는 50 μL Triton-X-100 처리제(세포 용해 후 최대 신호를 위해)로 처리된 염색 CAL27(이들 둘 모두 완전 분석 완충제로 최대 150 μL의 최종 부피로 만들어짐)이 있는 대조 웰을 삼중으로 준비하였다. 플레이트를 200 x g에서 1분 동안 원심분리하고, 그 후 5% 이산화탄소의 존재 하에 37℃에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 플레이트를 다시 잠시 원심분리한 후 90 μL의 상청액을 새로운 흑색의 투명-바닥 플레이트로 옮기고, 형광 신호를 Envision 2104 플레이트 판독기에서 판독하였다(여기: 492 nm; 방출: 515 nm).

[0937] 다음의 식을 사용하여 세포독성을 계산하였다.

[0938] 세포독성 (%) = (A - B) / (C - B)×100

[0939] 여기서, A는 처리된 세포의 형광 값이며; B는 표적 세포 단독으로부터의 백그라운드이며; C는 Triton-X-100 처리제로부터 얻어진 최대 방출 값이다.

[0940] 데이터는 세툭시맙의 존재 하에 표적 암세포에 대한 IL-2 콘쥬게이트 처리 인간 PBMC의 % 세포독성을 나타낸다. 기술적 중복으로부터의 평균 백분율을 비율로 변환하였다. 분석은 무작위 기증자 효과, 처리 비율을 유사이항 변수로서 사용하여, IL-2 콘쥬게이트, 세툭시맙 및 이들의 상호작용에 대한 인자를 이용하여 양방향 일반화 선형 혼합 모델(GLMM)을 사용하여 수행하였다. 이것에 이어서 IL-2 콘쥬게이트 처리군을 대조군과 비교하기 위한 사후 검정(Dunnett-Hsu 조정을 이용)이 뒤따랐다. 통계 분석을 SAS (1) 버전 9.4 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 5% 미만의 확률($p<0.05$)을 유의한 것으로 간주하였다.

[0941] *결과.*

[0942] 1, 0.1 및 0.01 mg/mL의 세툭시맙 용량 수준에서, IL-2 콘쥬게이트는 0.08, 0.4 및 2 mg/mL의 농도에서 EGFR 발현 CAL27 세포에 대한 세툭시맙의 ADCC 기능을 향상시켰다($p<0.05$)(**도 1a~도 1c**). 0.001 mg/mL의 세툭시맙 용량 수준에서, IL-2 콘쥬게이트는 0.4 및 2 mg/mL의 농도에서 EGFR 발현 CAL27 세포에 대한 세툭시맙의 ADCC 기능을 향상시켰다($p<0.05$). **도 2a**는 EGFR 발현 CAL27 세포(PBMC:CAL27 비 50:1)에 대한 세툭시맙의 향상된

ADCC 기능을 추가로 보여준다.

[0943] GLMM 모델로부터의 고정 효과의 테스트는 인자들인 IL-2 콘쥬게이트, 세툭시맙 및 이들의 상호작용이 세포독성에 유의한 영향을 미친다는 것을 나타낸다(즉, IL-2 콘쥬게이트 군들 간의 차이는 상이한 세툭시맙 농도들에 대해 유의하게 다름). 쌍별 비교는 0.001 mg/mL의 세툭시맙 농도에서 IL-2 콘쥬게이트 2 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p=0.0001$) 및 IL-2 콘쥬게이트 0.4 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p=0.0001$) 유의한 차이를 나타냈다. 쌍별 비교는 또한, 0.01 mg/mL의 세툭시맙 농도에서 IL-2 콘쥬게이트 2 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$), IL-2 콘쥬게이트 0.4 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$), 및 IL-2 콘쥬게이트 0.08 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p=0.0003$) 상당한 차이를 나타냈다. 또한, 쌍별 비교는 0.1 mg/mL의 세툭시맙 농도에서 IL-2 콘쥬게이트 2 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$), IL-2 콘쥬게이트 0.4 mg/mL군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$), 및 IL-2 콘쥬게이트 0.08 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$) 유의한 차이를 나타냈다. 마지막으로, 쌍별 비교는 1 mg/mL의 세툭시맙 농도에서 IL-2 콘쥬게이트 2 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$), IL-2 콘쥬게이트 0.4 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$), 및 IL-2 콘쥬게이트 0.08 mg/mL 군 대 대조군 사이에서($p<0.0001$) 유의한 차이를 나타냈다.

[0944] 데이터는 IL-2 콘쥬게이트가 EGFR 발현 CAL27 암세포에 대한 세툭시맙의 ADCC 기능을 향상시켰음을 입증한다. IL-2 콘쥬게이트를 이소타입 대조군과 조합하여 사용하면 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

[0945] *A431 세포.*

[0946] CAL27 세포에 대해 위에서 약술된 절차에 따라 EGFR 발현 A431 세포(표피양 암종)를 사용하여 연구를 수행하였다. **도 2b**는 EGFR 발현 A431 세포(PBMC:A431 비 50:1)에 대한 세툭시맙의 향상된 ADCC 기능을 보여준다. 데이터는 IL-2 콘쥬게이트가 EGFR 발현 A431 암세포에 대한 세툭시맙의 ADCC 기능을 향상시켰음을 입증한다.

[0947] **실시예 4. 이펙터 세포로서 조작된 세포주 NK-92.CD16 V를 사용한 ADCC 분석.**

[0948] 세툭시맙의 ADCC 기능에 대한 IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1의 효과를 칼세인-아세티옥시메틸(Calcein-AM; Invitrogen) 방출 분석을 사용하여 검사하였다.

[0949] *재료.*

[0950] NK-92.CD16 V(고친화성 변이체)(Conkwest Inc., 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)를 이펙터 세포주로 사용하였다. 하기 세포주를 표적 세포로 사용하였다: CAL27, A431, DLD-1, 및 FaDu.

[0951] 하기 시약을 사용하였다: 세툭시맙 항체(Eli Lilly & Co.); 인간 이소타입 IgG1 항체(Biolegend); 칼세인-아세티옥시메틸(Calcein-AM; Invitrogen C3100MP), 및 프로베네시드(Invitrogen; P36400). 바이오분석 배지는 완전 분석 배지를 위해 1% 프로베네시드가 보충된, 1% 초저 IgG 소 태아 혈청을 포함하는 페놀 레드 무함유 RPMI였다. IL-2(100 U/mL) 및 히드로코르티손(Sigma H6909; 50 μM, 10 mL)이 보충된 MyeloCult H5100(Stemcell 카탈로그 번호 05150)을 NK-92.CD16 V 세포 배양에 사용하였다.

[0952] *절차.*

[0953] IL-2 보충물을 NK-92.CD16 V 세포 배양물로부터 꺼낸 다음 하룻밤 인큐베이션한 후 분석을 시작하였다. 다음날, 1% 저 IgG FBS가 보충된 페놀 레드 무함유 RPMI 1640 배지 중 다양한 농도(0.1 μg/mL, 0.01 μg/mL, 0.001 μg/mL, 및 0 μg/mL)의 IL-2_P65_[AzK_L1_PEG30kD]-1의 존재 하에 세포를 96웰 둥근 바닥 플레이트에 플레이팅하였다(이펙터:표적 세포의 3:1 비를 위해 60,000개의 세포를 플레이팅하였다)(5% CO_2가 있는 가습 인큐베이터에서 37℃에서 18시간 동안). 이러한 세포를 이펙터 세포로 사용한다. 다음날, 인간 EGFR 양성 암 세포주(A431, DLD-1, FaDu 또는 CAL27)를 calcein-AM으로 30분 동안 표지하고(50 μg을 25 μL DMSO에 희석하여 스톡 용액을 제조하고, 그 후 10 μL의 칼세인 스톡 용액을 5 x 10^6개의 세포의 염색을 위해 1% 저 IgG FBS 및 1% 프로베네시드를 함유하는 4 mL RPMI 1640에 첨가함), 그 후 세척하였다. 다양한 농도의 세툭시맙 또는 이소타입 대조군과 함께 인큐베이션하기 위해 세포를 여러 라벨링된 튜브로 나누었다. 세툭시맙 및 이소타입 인간 IgG1 항체를 3X 농도로 첨가하고(10 μg/mL~1 pg/mL의 최종 분석 농도를 위해), 표지된 표적 세포 및 항체를 혼합하고 30분 동안 정치시켜 옵소닌화를 허용하였다. 이 인큐베이션 후, 표적 세포(20,000개) 및 항체를 100 μL의 NK-92.CD16 V 세포 위에 첨가하였다. 플레이트를 1100 rpm에서 1분 동안 잠시 원심분리한 후 37℃ 및 5% CO_2에서 1시간 동안 인큐베이션하였다.

[0954] 인큐베이션 후, 플레이트를 이전과 같이 다시 잠시 원심분리하고, 세포를 방해하지 않고서 90 μL의 상청액을

각 웰로부터 투명한 바닥이 있는 흑색 플레이트로 옮겼다. 형광 신호를 Envision 2104를 사용하여 판독하였다(여기: 492 nm; 방출: 515 nm).

[0955] 최대 방출을 위해 세포를 2% Triton X-100으로 용해시켰다. 실험 방출(A), 표적 세포 자발적 방출(B), 및 표적 세포 최대 방출(C)의 형광 값에서 배양 배지 백그라운드의 형광 값을 차감하였다.

[0956] 각 플레이트(중복)에 대한 세포독성 및 ADCC 백분율을 다음과 같은 공식을 사용하여 계산하였다:

[0957] 세포독성 (%) = (A - B) / (C - B)×100

[0958] ADCC (%) = 세포독성 (%, 항체를 이용) - 세포독성 (%, 항체를 이용하지 않음)

[0959] 각 실험에 대해 3개의 중복 웰을 사용하여 측정을 삼중으로 수행하였다. 각 실험을 적어도 3회 반복한다. GraphPad Prism 5(GraphPad Software, Inc., 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)를 사용하여 데이터 포인트를 4-파라미터 방정식에 대해 피팅하여 반치 최대 유효 농도(EC50) 값을 계산한다.

[0960] *결과.*

[0961] NK92 세포주 ADCC 분석을 사용한 세포독성 데이터는 각각 EGFR 발현 A431(표피양 암종)(NK92:A431 비 3:1), DLD-1(선암종, 결장직장암)(NK92:DLD-1 비 3:1), FaDu(상피 편평 세포 암종)(NK92:FaDu 비 3:1) 및 CAL27(상피 편평 세포 암종)(NK92:CAL27 비 3:1) 세포에 대해 **도 3a~도 3d**에 예시되어 있다. 데이터는 IL-2 콘쥬게이트가 EGFR 발현 암세포에 대한 세툭시맙의 ADCC 기능을 향상시켰음을 입증한다.

[0962] **실시예 5. IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙을 이용한 병용 요법의 임상 연구.**

[0963] *개요.* 실시예 1의 IL-2 콘쥬게이트를 사용한 단일요법은 세툭시맙과 같은 IgG1 항체에 대한 항체 의존성 세포독성(ADCC)을 매개하는 중요한 이펙터 세포인 NK 세포의 수의 말초적 증가를 촉진하는 것으로 입증되었다.

[0964] 진행성 또는 전이성 고형 종양이 있는 참가자의 치료를 위해 실시예 1에 기술된 IL-2 콘쥬게이트를 세툭시맙과 조합한 것의 임상적 이점을 평가하는 1/2상, 공개, 다기관 연구를 수행하였다.

[0965] 참가자들은 3주마다 1회 IV 주입에 의해 IL-2 콘쥬게이트(16 또는 24 μg/kg 용량)를 받았다. 본원에서 그리고 이 코호트에 대한 논의 전반에 걸쳐, 대상체 1 kg당 약물 질량(예를 들어, 16 μg/kg)은 *PEG 및 링커 질량을 제외한* IL-2 질량을 지칭한다. 세툭시맙을 사이클 1의 제1일에 120분에 걸쳐 400 mg/m^{2}의 초기 로딩 용량으로 제공하고(최대 주입 속도 10 mg/분), 이어서 사이클 1의 제8일 투여로 시작하는 모든 후속 용량에 대해 60분에 걸쳐 주입되는 250 mg/m^{2}으로 제공하였다(최대 주입 속도 10 mg/분). 세툭시맙을 각 21일 사이클의 제1일, 제8일 및 제15일에 제공하였다. IL-2 콘쥬게이트의 주입 시간은 각각 약 30분이었다. 각 치료 사이클에 대해, IL-2 콘쥬게이트를 투여하기 전에 모든 참가자는 주입 관련 반응(IAR) 또는 독감-유사 증상의 급성 영향을 예방하거나 감소시키기 위해 IL-2 콘쥬게이트 예비투약제를 IL-2 콘쥬게이트의 주입 30~60분 전에 받았다. IL-2 콘쥬게이트 예비투약제는 다음과 같았다: 해열제(경구) 및 항히스타민제(H1 차단제). 주치의의 재량에 따라 항구토제가 제공되었다. 제1 용량의 세툭시맙을 투여하기 전에 모든 참가자에 디펜히드라민(약 25~50 mg, 정맥내)을 예비투약하였다. 세툭시맙의 후속 용량을 위한 예비투약은 주치의의 평가를 기반으로 한 선택 사항이었다. IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙을 같은 날 제공하는 경우 세툭시맙 예비투약제로서 디펜히드라민을 받은 참가자는 IL-2 콘쥬게이트 예비투약제로서의 디펜히드라민을 스킵했을 수 있다. 투약 순서는 다음과 같았다: (i) 세툭시맙을 위한 예비투약제(세툭시맙 주입 시작 30~60분 전); (ii) 세툭시맙; (iii) IL-2 콘쥬게이트에 대한 예비투약제(IL-2 콘쥬게이트 주입 시작 30~60분 전에 투여됨); 및 (iv) IL-2 콘쥬게이트. 최대 총 35 사이클 동안 또는 최대 735일의 지속 기간 동안 치료를 반복하였다.

[0966] 하기 바이오마커는 안전성 및/또는 효능의 대리 예측 인자 역할을 한다:

[0967] 호산구 증가증(말초 호산구 카운트 상승): 혈관 누출 증후군(VLS)과 관련된 세포(호산구)의 IL-2 유도된 증식에 대한 세포 대리 마커;

[0968] **인터류킨 5(IL-5)**: 2형 선천성 림프양 세포의 IL-2 유도된 활성화 및 호산구증가증 및 잠재적으로 VLS를 초래하는 이 화학유인 물질의 방출에 대한 사이토카인 대리 마커;

[0969] **인터류킨 6(IL-6)**: IL-2 유도된 사이토카인 방출 증후군(CRS)에 대한 사이토카인 대리 마커; 및

[0970] **인터페론 γ(IFN-γ)**: CD8+ 세포독성 T 림프구의 IL-2 유도된 활성화에 대한 사이토카인 대리 마커.

[0971] 하기 바이오마커는 항종양 면역 활동의 대리 예측 인자 역할을 한다:

[0972] **말초 CD8+ 이펙터 세포:** 침윤시 가능성이 있는 잠재적 치료 반응을 유도하는 대리 마커가 되는 말초부에서의 이들 표적 세포의 IL-2 유도된 증식에 대한 마커;

[0973] **말초 CD8+ 기억 세포:** 침윤시 가능성이 있는 지속성 잠재적 치료 및 기억 집단의 유지를 유도하는 대리 마커가 되는 말초부에서의 이들 표적 세포의 IL-2 유도된 증식에 대한 마커;

[0974] **말초 NK 세포:** 침윤시 가능성이 있는 빠른 치료 반응을 유도하는 대리 마커가 되는 말초부에서의 이들 표적 세포의 IL-2 유도된 증식에 대한 마커; 및

[0975] **말초 CD4+ 조절 세포:** 침윤시 면역억제성 TME를 유도하고 이펙터 기반 치료 효과를 상쇄하는 대리 마커가 되는 말초부에서의 이들 표적 세포의 IL-2 유도된 증식에 대한 마커.

[0976] **16 μg/kg 용량의 IL-2 콘쥬게이트를 사용하는 제1 코호트**

[0977] *결과.* 5명의 대상체는 중위 연령이 69세(65~72세 범위)인 남성 2명 및 여성 3명을 포함하였다. 모든 대상체는 미국 동부 종양학 협력 그룹(ECOG) 수행 능력 상태가 0 또는 1이었고, 1~4회의 이전 라인의 전신 요법을 받았다. 암은 항문암(1명의 대상체), 결장 선암종(1명의 대상체), 부신피질암(1명의 대상체), 폐 편평 세포 암종(1명의 대상체), 및 소장암(1명의 대상체)이었다. 5명의 대상체 모두 전이성 질환이 있었다.

[0978] 대상체는 IL-2 콘쥬게이트(16 μg/kg) 및 세툭시맙 병용 치료를 2~7 사이클 동안 받았다(IL-2 콘쥬게이트의 2~7회 용량). 2명의 대상체(항문암이 있는 1명과 전이성 부신피질 암종이 있는 1명)는 2 사이클의 병용 치료 후 진행성 질환(PD)을 보여서 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙 병용 치료를 중단하였다. 결장암이 있는 1명의 대상체는 5 사이클 후에 질환 진행을 보였다. 2명의 대상체는 다음과 같이 진행 중이다: 폐 편평 세포 암종의 경우 3 사이클에서 1명, 소장 암종의 경우 7 사이클에서 1명.

[0979] 말초 CD8+ T_{eff} 세포 카운트를 측정하였다(**도 4a~도 4b**). 일부 대상체에서 이전 용량 후 3주에 기준선에 비해 연장된 CD8+ 확장(예를 들어, 2배 이상의 변화)이 관찰되었다.

[0980] 말초 NK 세포 카운트는 **도 5a~도 5b**에 예시되어 있다. 각 대상체에서 NK 세포 카운트의 증가가 관찰되었다. 대상체는 일반적으로 이전 투여 후 8일 및 3주에 기준선에 비해 증가된 NK 세포 카운트를 보였다.

[0981] 말초 CD4+ T_{reg} 카운트는 **도 6a~도 6b**에 예시되어 있다

[0982] 호산구 카운트를 측정하였다(**도 7a~도 7b**). 측정된 값은 4배 증가를 초과하지 않았으며, IL-2 유도된 호산구증가증 환자에서 일관되게 2328~15958개의 호산구/μL의 범위 미만이었고, 이는 문헌[Pisani et al., *Blood* 1991 Sep 15;78(6):1538-44]에 보고된 바와 같았다. 림프구 카운트를 또한 측정하였다(도 8a~도 8b).

[0983] *결과 요약 및 논의.* 테스트한 모든 대상체는 CD8+ T 이펙터(Teff) 세포, NK 세포 및 CD4+ T_{reg} 세포의, 투여 후 말초 확장이 있었다.

[0984] 유해 사례(AE)는 인과관계와 관계 없이 의약품을 투여한 임상 조사 대상체에서 발생하는 뜻밖의 의학적 발생이었다. 용량 제한 독성은 치료 사이클의 제1일~제29일(종점 포함) ±1일 이내에 발생하는 AE로 정의되었는데, 이는 명확하거나 논란의 여지가 없이 전적으로 외부 원인과 관련이 없고 다음 기준 중 하나 이상을 충족하였다:

[0985] · 7일 이상 지속되는 3등급 호중구 감소증(절대 호중구 카운트 < 1000/mm^3 > 500/mm^3), 또는 임의의 지속 기간의 4등급 호중구 감소증

[0986] · 3+ 등급 열성 호중구 감소증

[0987] · 4+ 등급 혈소판 감소증(혈소판 카운트 < 25,000/mm^3)

[0988] · 5일 이상 지속되거나, 또는 임상적으로 유의한 출혈과 관련되거나 혈소판 수혈을 필요로 하는 3+ 등급 혈소판 감소증(혈소판 카운트 < 50,000~25,000/mm^3)

[0989] · 10일 이내에 적어도 1,000개의 세포/mm^3의 절대 호중구 카운트 및 적어도 75,000개의 세포/mm^3의 혈소판 카운트의 회복 기준을 충족하지 못함

[0990] · 5일 이상 지속되는 임의의 기타 4+ 등급 혈액학적 독성

[0991] · 담즙정체 또는 다른 원인, 예컨대 바이러스 감염 또는 기타 약물(즉, Hy의 법칙)의 증거 없이 ULN의 2배를 초과하는 빌리루빈과 조합된 3+ 등급 ALT 또는 AST

[0992] · 예비투약제로 발생하는 3등급 주입 관련 반응; 4등급 주입 관련 반응

[0993] · 폐부종 및 체액 저류와 관련된 저혈압으로 정의되는 3등급 혈관 누출 증후군

[0994] · 3+ 등급 아나필락시스

[0995] · 3+ 등급 저혈압

[0996] · 케어 의료 관리의 허용된 표준을 시작한지 7일 이내에 2 미만의 등급까지 해결되지 않는 3+ 등급 AE

[0997] · 3+ 등급 사이토카인 방출 증후군

[0998] 하기 예외가 비혈액학적 AE에 적용된다:

[0999] · ≤ 3일 내에 최적의 의학적 관리로 2등급 이하까지 해결되는 3등급 피로, 오심, 구토 또는 설사

[1000] · 3등급 발열(24시간 이하 동안 40℃ 초과로 정의됨)

[1001] · 예비투약제 없이 발생하는 3등급 주입 관련 반응; 후속 용량들은 예비투약제를 사용해야 하며 반응이 재발하면 DLT가 된다.

[1002] · 케어 의료 관리의 허용된 표준(예를 들어, 전신 코르티코스테로이드 요법)을 시작한지 7일 이내에 2등급 이하까지 해결되는 3등급 관절통 또는 발진

[1003] 대상체가 간 전이에 간접적으로 영향을 받은 것으로 간주되는 기준선에서의 1등급 또는 2등급 ALT 또는 AST 상승을 가진 경우, 3등급 상승은 또한 기준선의 3배 이상이고 7일 넘게 지속되어야 한다.

[1004] 심각한 AE는 다음 결과 중 임의의 것을 초래하는 임의의 AE로 정의되었다: 사망; 생명을 위협하는 AE; 입원 환자 입원 또는 기존 입원의 연장; 정상적인 생활 기능을 수행하는 능력의 지속적인 또는 유의한 무능력 또는 상당한 파괴; 또는 선천적 기형/출생 결함. 사망을 초래하지 않거나, 생명을 위협하지 않거나, 입원이 필요하지 않을 수 있는 중요한 의학적 사건은, 적절한 의학적 판단에 따라 대상체를 위험에 빠뜨릴 수 있고 위에 열거된 결과 중 하나를 방지하기 위해 의학적 또는 외과적 개입이 필요할 수 있는 경우, 심각한 것으로 간주될 수 있다. 이러한 의학적 사건의 예는 응급실이나 가정에서 집중 치료가 필요한 알러지성 기관지 경련, 입원 환자 입원을 초래하지 않는 혈액 질환 또는 경련, 또는 약물 의존성 또는 약물 남용의 발생을 포함한다.

[1005] IL-5의 유의미한 상승은 없었다. 누적 독성은 없었다. 말단 기관 독성은 없었다. QTc 연장 또는 기타 심장 독성은 없었다. 전반적으로, IL-2 콘쥬게이트는 내약성이 좋은 것으로 간주되었다.

[1006] 5명의 대상체 중 4명은 적어도 하나의 치료 유발 AE(TEAE)를 가졌다. 대부분의 TEAE는 1~2등급이었고, 1명의 대상체는 적어도 하나의 3등급, 그리고 1명의 대상체는 적어도 하나의 4등급의 TEAE를 가졌다. 4명의 대상체는 치료 관련 AE를 가졌다. 이들은 다음을 포함하였다: 하나의 1등급 주입 반응; 하나의 1등급 오심; 하나의 1등급 피로; 하나의 2등급 설사; 및 하나의 4등급 림프구 카운트 감소. 2명의 대상체는 3개의 관련 없는 SAE를 가졌다: 하나의 연하곤란 및 척수 압박; 및 하나의 흉막 삼출. TEAE는 약물 중단, 용량 감소, DLT, 및 아나필락시스 또는 CRS를 초래하지 않았다. 치료 관련 AE는 허용된 케어 표준으로 해결되었다. TEAE는 표 2에 자세히 설명되어 있으며 치료 관련 유해 사례는 표 3에 요약되어 있다.

[1007] [표 2]

치료 유발 유해 사례: n = 5.

기관계 대분류	1 등급	2 등급	3 등급	4 등급	5 등급
일반 장애 및 투여 부위 상태	2/5 (40%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
위장관 장애	2/5 (40%)	0/5 (0%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
조사	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	1/5(20%)	0/5 (0%)
감염 및 체내 침입	0/5 (0%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
상해, 시술 합병증	2/5 (40%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
신경계 장애	0/5 (0%)	0/5 (0%)	2/5(40%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
피부 및 피하 조직 장애	3/5 (60%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
혈액 및 림프계 장애	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
눈 장애	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
대사 및 영양 장애	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
호흡기, 흉부 및 종격동 장애	0/5 (0%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)

[1008]

기관계 대분류	1 등급	2 등급	3 등급	4 등급	5 등급
내분비 장애	0/5 (0%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
근골격계 및 결합 조직 장애	1/5 (20%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
정신 장애	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
생식계 및 유방 장애	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
신장 및 요로 장애	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)

[1009]

[1010] [표 3]

치료 관련 유해 사례: n = 5.

기관계 대분류	1 등급	2 등급	3 등급	4 등급	5 등급
내분비 장애	0/5 (0%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
일반 장애 및 투여 부위 상태	2/5 (40%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
위장관 장애	1/5 (20%)	1/5(205%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
연구	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)
상해, 시술 합병증	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
신경계 장애	0/5 (0%)	0/5 (0%)	1/5(20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)

[1011]

[1012] **24 μg/kg 용량의 IL-2 콘쥬게이트를 사용하는 제2 코호트**

[1013] *결과*. 3명의 대상체는 중위 연령이 71세(65~72세 범위)인 남성이었다. 모든 대상체는 미국 동부 종양학 협력 그룹(ECOG) 수행 능력 상태가 1이었다. 1명의 대상체는 1회의 이전 라인의 요법을 받았고, 두 번째 대상체는 4회의 이전 라인의 요법을 받았다. 암은 위암(1명의 대상체), 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)(1명의 대상체) 및 결장암(1명의 대상체)이었다. 대상체 모두 전이성 질환이 있었다. 대상체는 IL-2 콘쥬게이트(24 μg/kg) 및 세툭시맙 병용 치료를 1 사이클 동안 받았다(IL-2 콘쥬게이트의 1회 용량). 1명의 대상자는 병용 치료의 제1 사이클 이후 진행성 질환(PD)을 보여 IL-2 콘쥬게이트 및 세툭시맙 병용 치료의 추가 치료 용량의 투여를 막았다.

[1014] 대상체 중 2명은 적어도 하나의 TEAE를 경험하였다. 대상체 중 1명은 적어도 하나의 3등급 치료 관련 AE를 경험했는데, 이는 3등급 오한이었다. 어떤 대상체도 관련된 SAE가 없었다. DLT는 관찰되지 않았으며 TEAE로 인한 약물 중단이 없었다. TEAE는 표 4에 자세히 설명되어 있으며 치료 관련 유해 사례는 표 5에 요약되어 있다.

[1015] [표 4]

치료 유발 유해 사례: n = 3.

기관계 대분류	1 등급	2 등급	3 등급	4 등급	5 등급
위장관 장애	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
일반 장애 및 투여 상태	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
감염 및 체내 침입	0/3 (0%)	2/3 (66.7%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
대사 및 영양 장애	0/3 (0%)	2/3 (66.7%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
근골격계 및 결합 조직 장애	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
신경계 장애	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
신장 및 요로 장애	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
호흡기 및 종격동 장애	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
피부 및 피하 조직 장애	1/3 (33.3%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)

[1016]

[1017] [표 5]

치료 관련 유해 사례: n = 3.

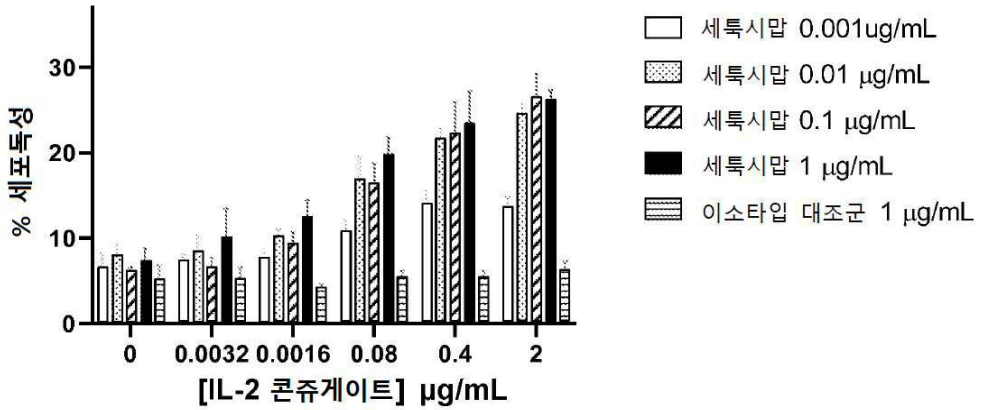
기관계 대분류	1 등급	2 등급	3 등급	4 등급	5 등급
위장관 장애	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
일반 장애 및 투여 상태	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
감염 및 체내 침입	0/3 (0%)	2/3 (66.7%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
대사 및 영양 장애	0/3 (0%)	2/3 (66.7%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
신경계 장애	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
호흡기 및 종격동 장애	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
피부 및 피하 조직 장애	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)

[1018]

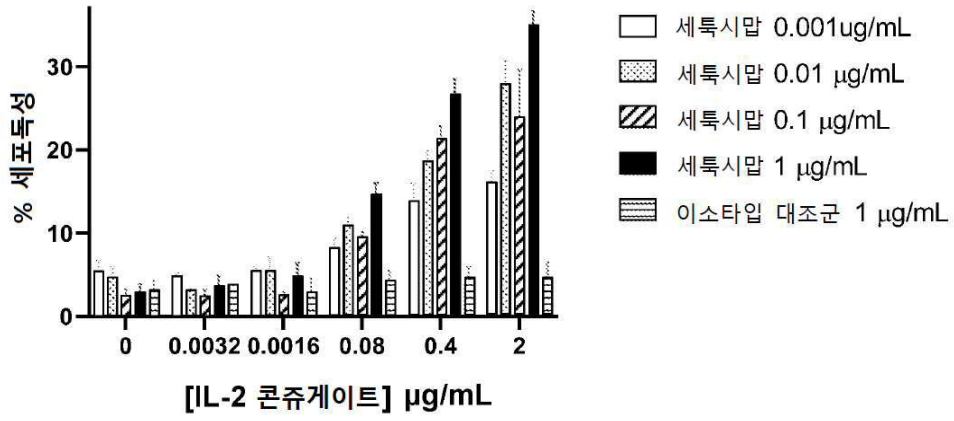
[1019] 상기 발명이 명확성 및 이해의 목적을 위해 예시 및 실시예에 의해 약간 자세히 기술되어 있지만, 설명 및 실시예는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 이제, 본 발명으로부터 벗어나지 않으면서 여러 변형, 변경, 및 대체가 당업자에 의해 이루어질 것이다. 본원에 기술된 본 발명의 실시 형태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음을 이해해야 한다. 다음의 청구범위는 본 발명의 범주를 정의하고 이러한 청구범위 내의 방법과 구조 및 그 균등물은 청구범위에 포함되는 것으로 의도된다. 본원에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시 내용은 그 전체가 참고로 본원에 명시적으로 포함된다. 본원에 참고로 포함된 임의의 자료가 본 개시 내용의 명시적 내용과 일치하지 않는 경우, 본 개시 내용의 명시적 내용이 좌우한다.

도면

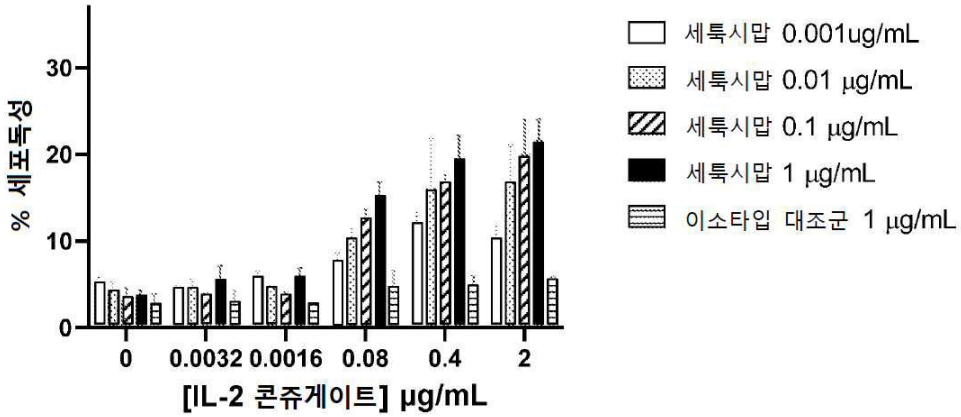
도면1a



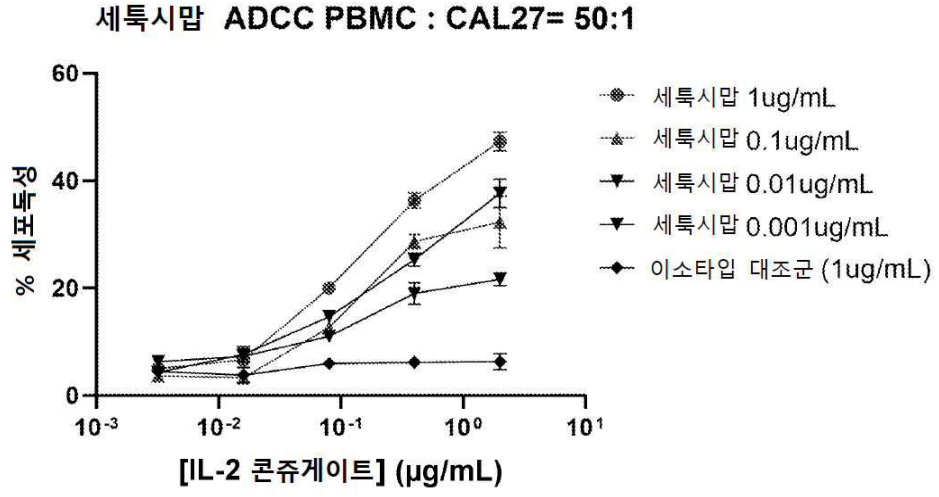
도면1b



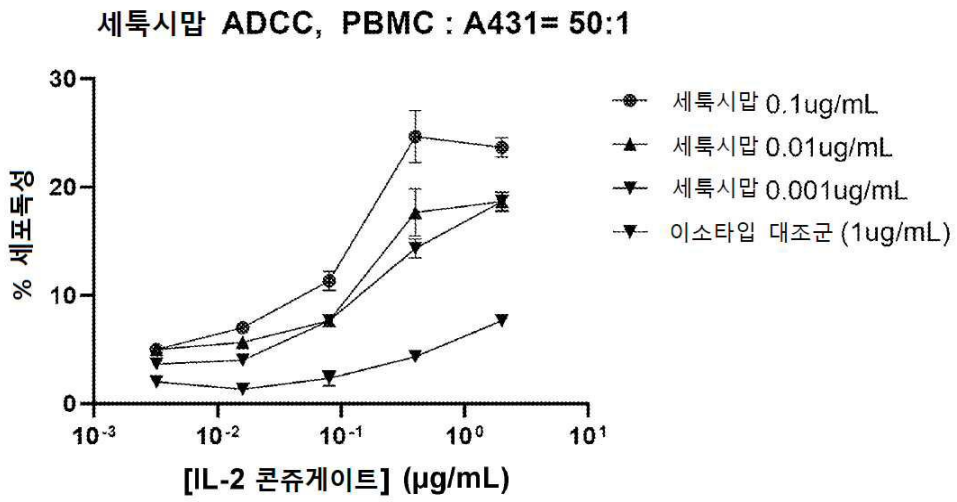
도면1c



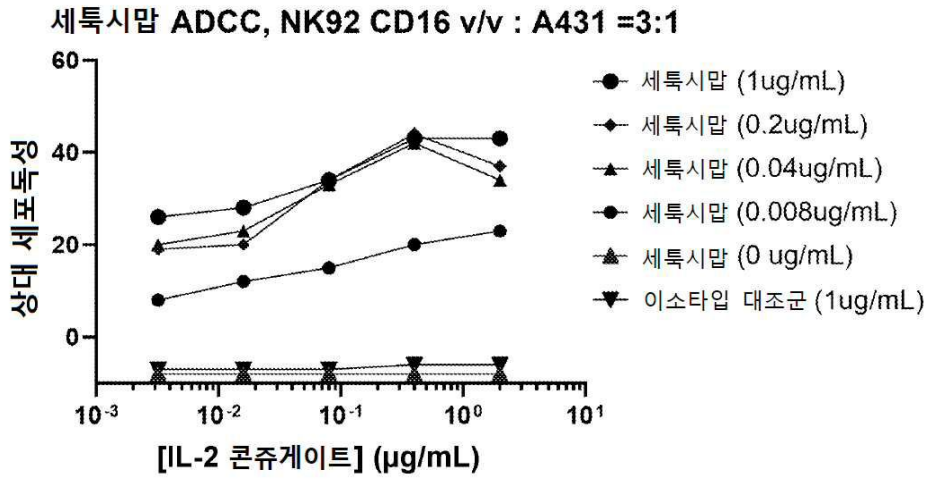
도면2a



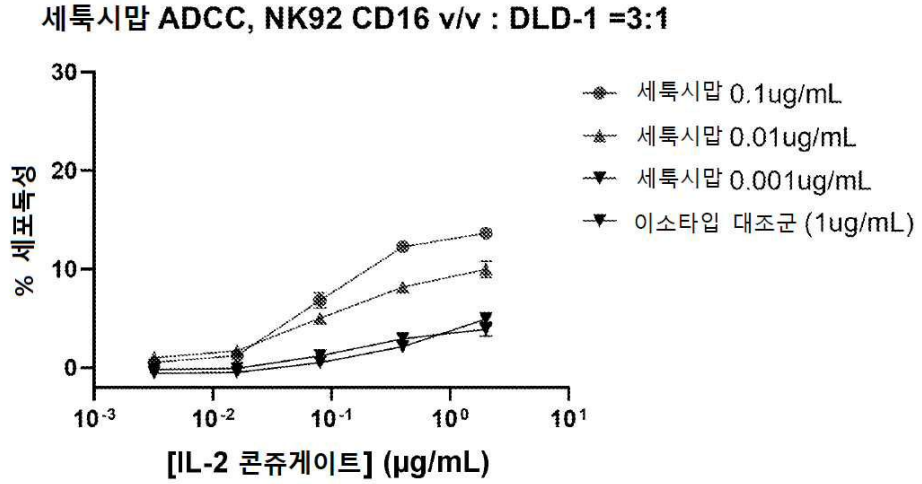
도면2b



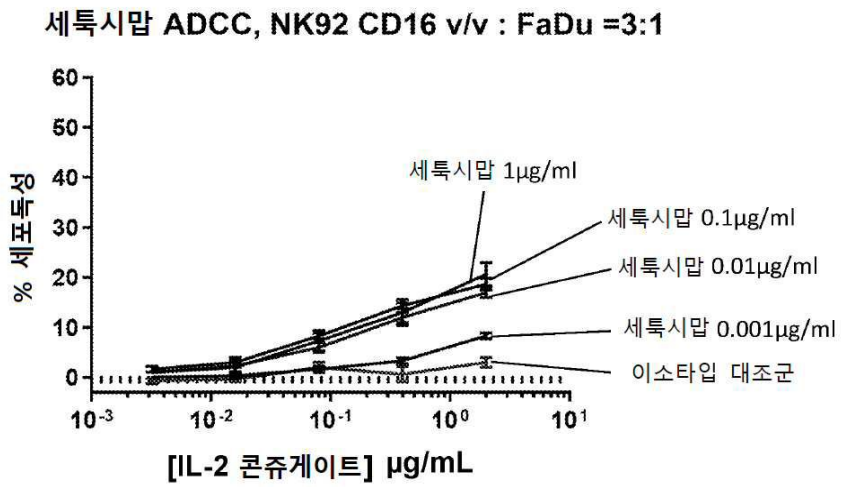
도면3a



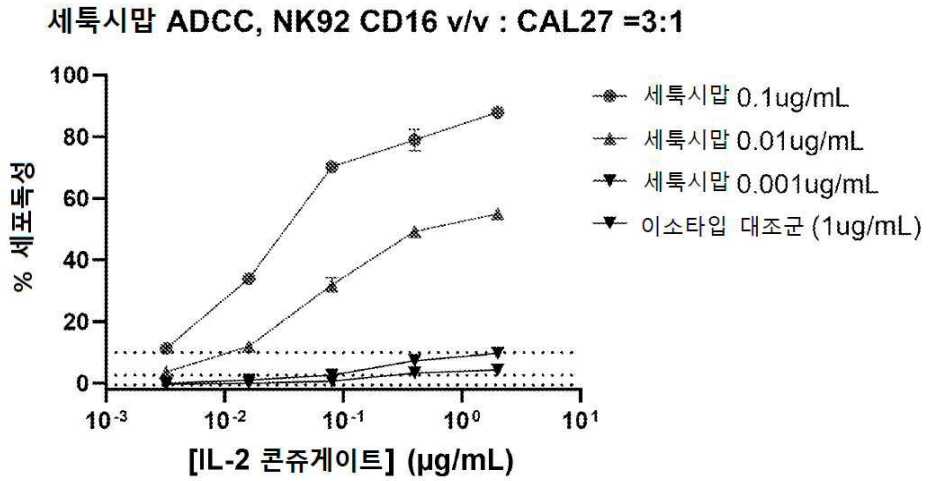
도면3b



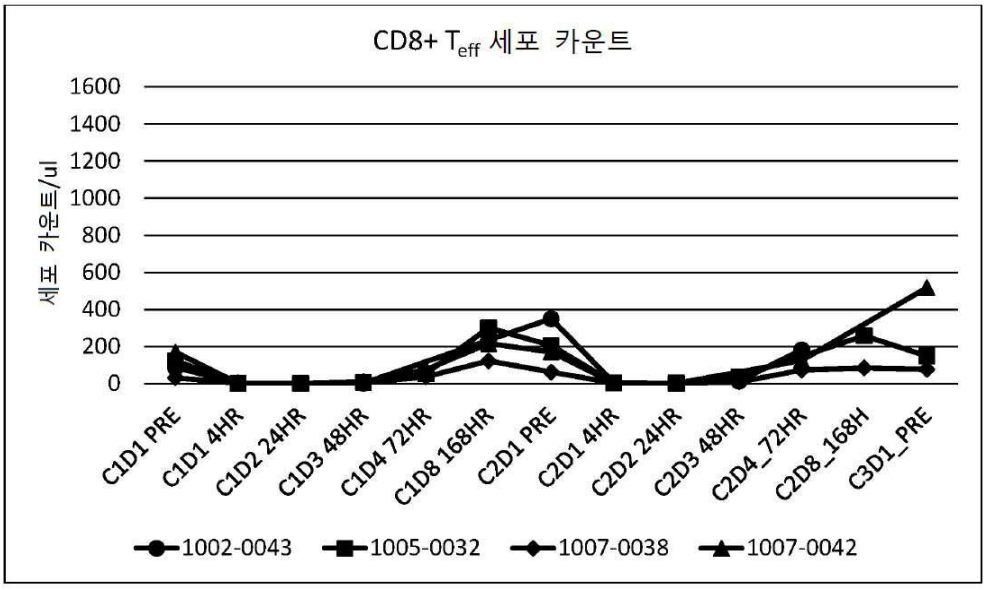
도면3c



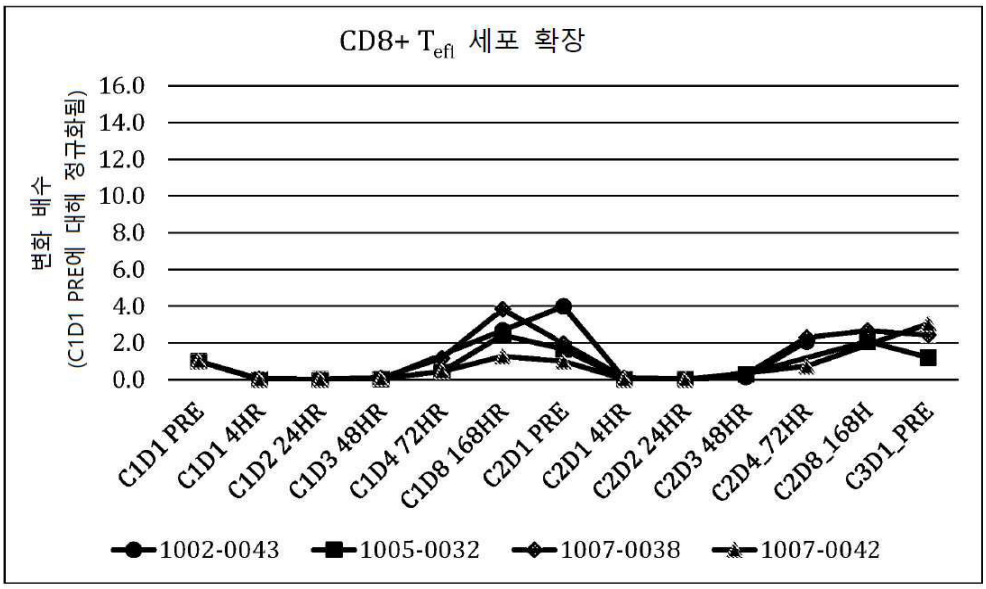
도면3d



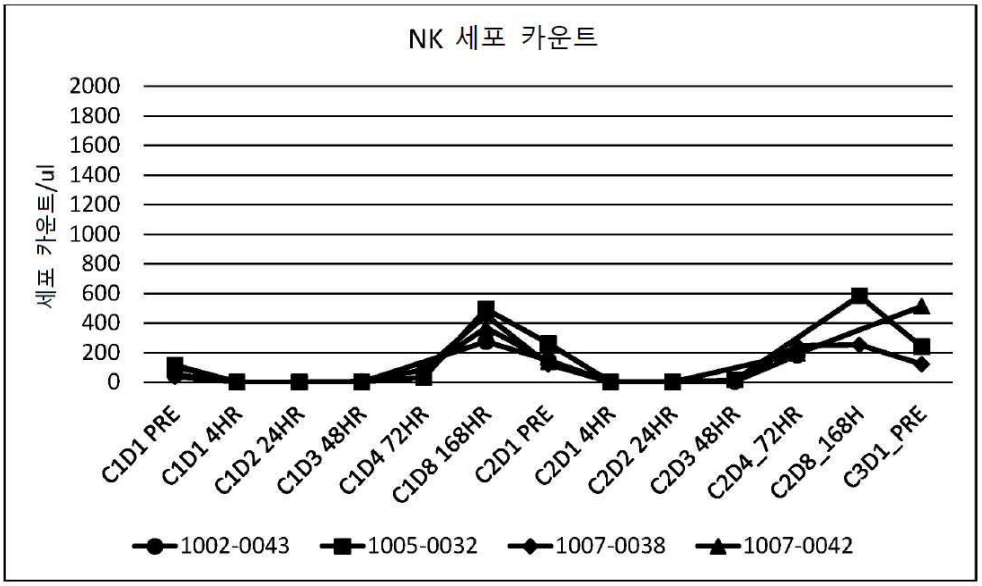
도면4a



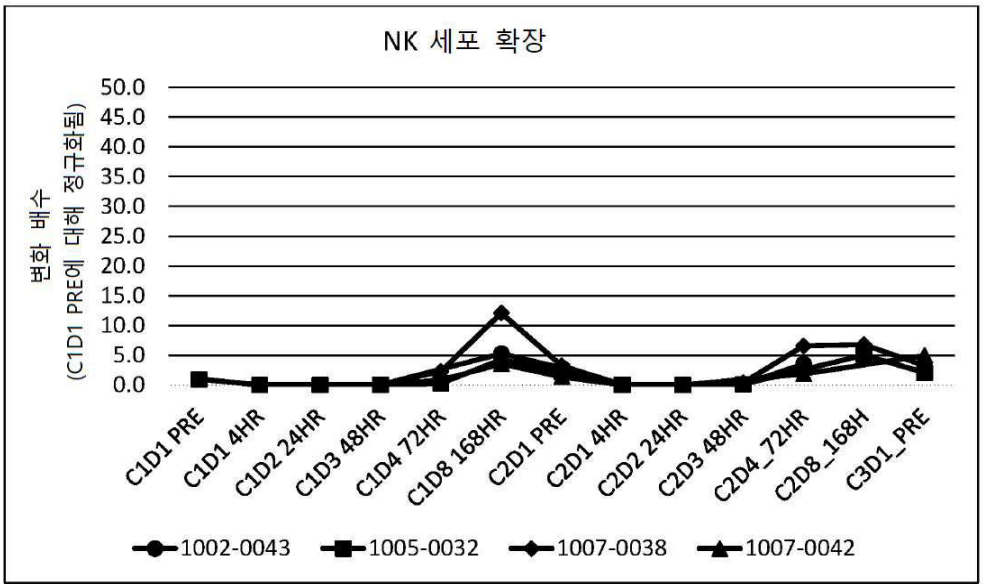
도면4b


CD8+ Tefl 세포 확장
변화 배수
(C1D1 PRE에 대해 정규화됨)
16.0
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

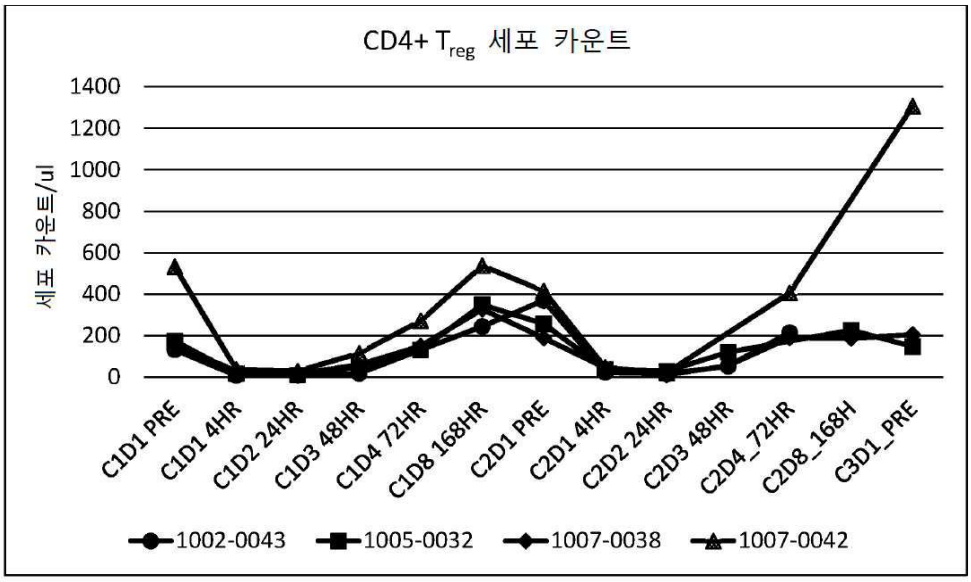
도면5a


NK 세포 카운트
세포 카운트/ul
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

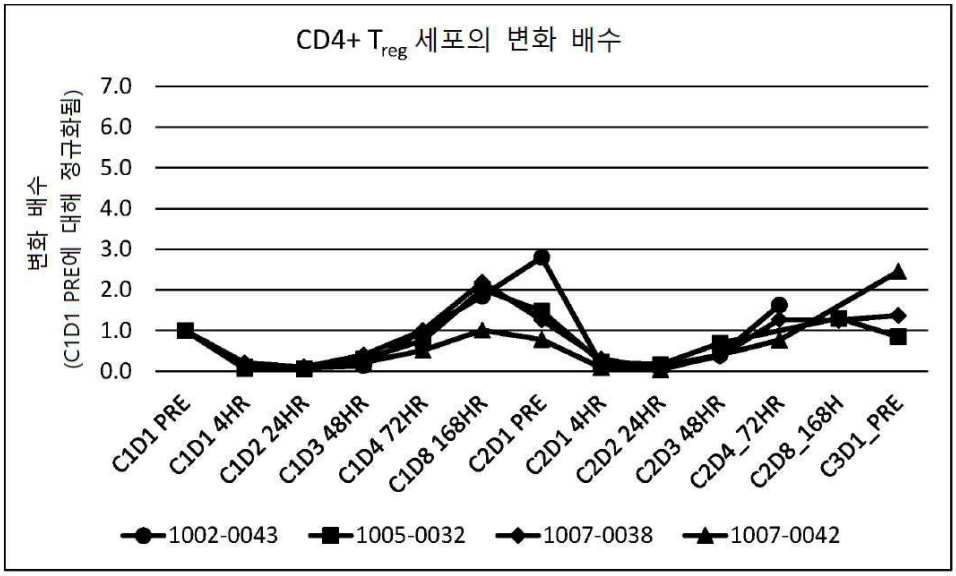
도면5b


NK 세포 확장
변화 배수
(C1D1 PRE에 대해 정규화됨)
50.0
45.0
40.0
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

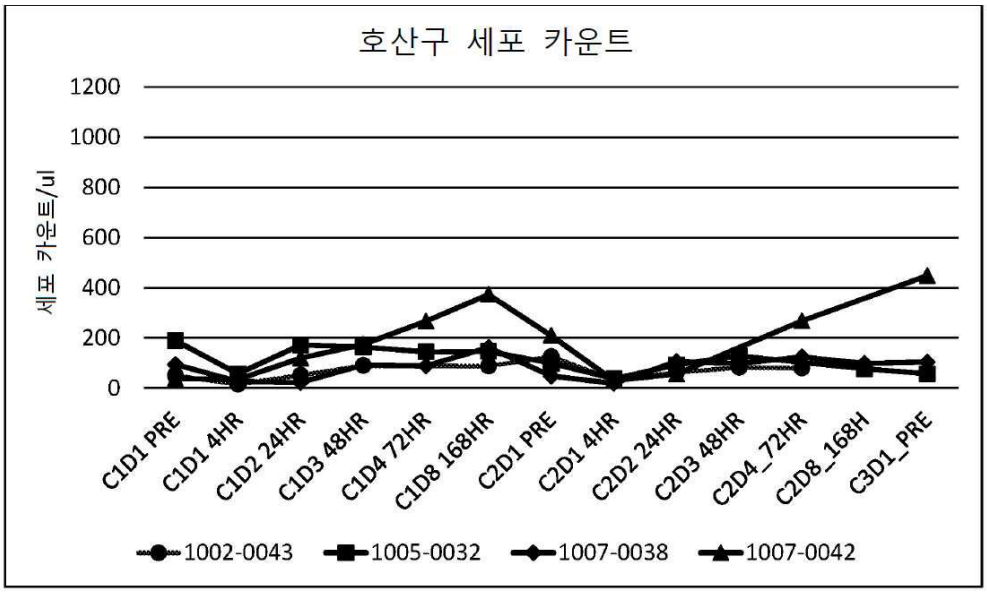
도면6a


CD4+ Treg 세포 카운트
세포 카운트/ul
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

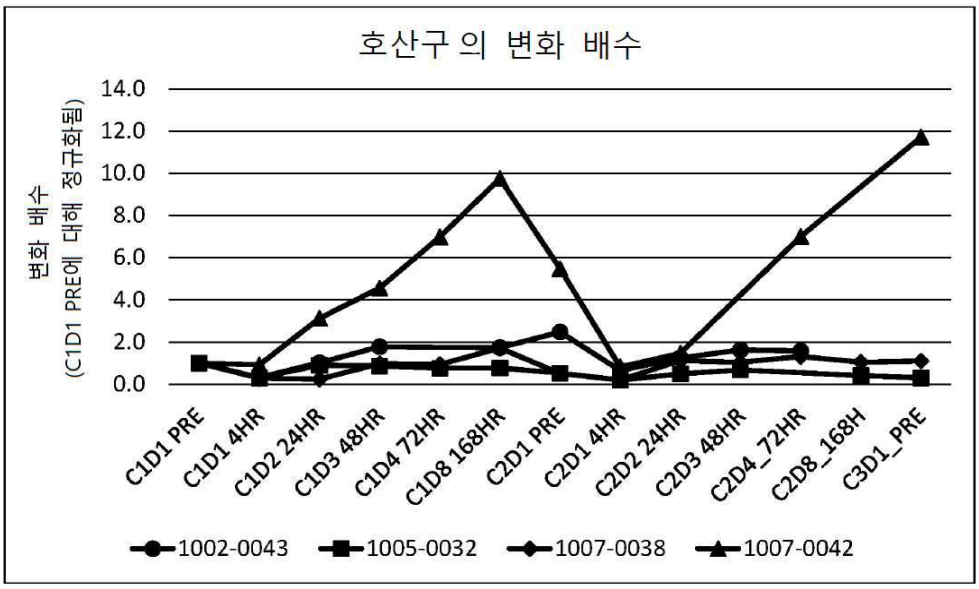
도면6b


CD4+ Treg 세포의 변화 배수
변화 배수
(C1D1 PRE에 대해 정규화됨)
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

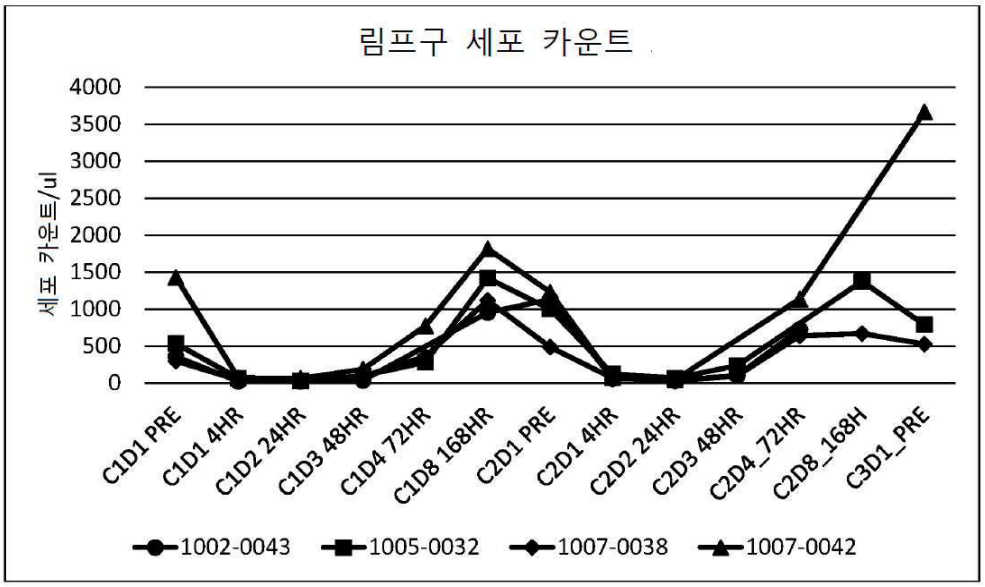
도면7a


호산구 세포 카운트
세포 카운트/ul
1200
1000
800
600
400
200
0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

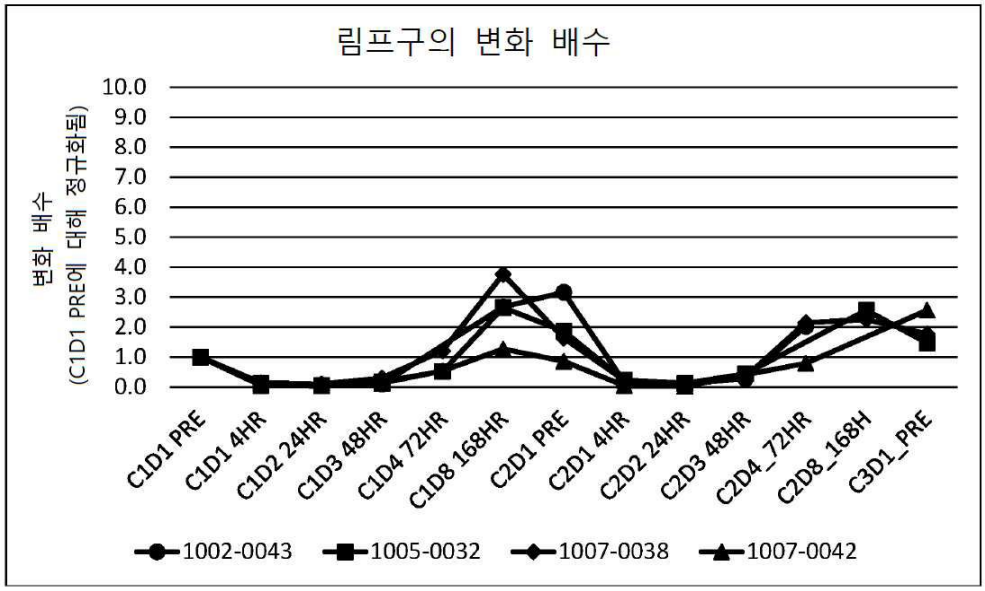
도면7b


호산구의 변화 배수
변화 배수
(C1D1 PRE에 대해 정규화됨)
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

도면8a


림프구 세포 카운트
세포 카운트/ul
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
C1D1 PRE
C1D1 4HR
C1D2 24HR
C1D3 48HR
C1D4 72HR
C1D8 168HR
C2D1 PRE
C2D1 4HR
C2D2 24HR
C2D3 48HR
C2D4_72HR
C2D8_168H
C3D1_PRE
1002-0043
1005-0032
1007-0038
1007-0042

도면8b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> SYNTHORX, INC.

ABBADESSA, Giovanni et al.

<120> IMMUNO ONCOLOGY COMBINATION THERAPY WITH IL-2 CONJUGATES AND ANTI-EGFR ANTIBODIES

<130> 01183-0090-00PCT

<150> US 63/044,199

<151> 2020-06-25

<160> 98

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> IL-2 (homo sapiens) (mature form)

<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> Homo sapiens
<220><221>
misc_feature
<223> IL-2 (homo sapiens) (precursor) NCBI Accession No.: AAB46883.1
<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65X

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62X

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence
<220
><223> Synthetic: IL-2_F42X
<220><221> misc_feature
<222> (42)..(42)
<223> Xaa is an unnatural amino acid
<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K43X
<220><221> misc_feature
<222> (43)..(43)
<223> Xaa is an unnatural amino acid
<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
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> 9

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35X

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<400> 9

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> 10

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK]

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK]

<220><221> misc_feature

<222

> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK]

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK]

<220><221> misc_feature

<222

> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK]
<220><221> misc_feature
<222> (35)..(35)
<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine
<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_PEG]

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_PEG]

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<400> 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

<210

> 17

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG]

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG]

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_PEG]

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<400> 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

<210> 20

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_PEG5kD]

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_PEG5kD]

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine
stably-conjugated to PEG

<400> 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

<210

> 22

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG5kD]

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine
stably-conjugated to PEG

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr 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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG5kD]
<220><221> misc_feature
<222> (43)..(43)
<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG
<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_PEG5kD]

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_PEG30kD]

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_PEG30kD]

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG30kD]

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG30kD]

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_PEG30kD]

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine
stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65X-1

<220><221> misc_feature

<222

> (64)..(64)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_E62X-1
<220><221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> Xaa is an unnatural amino acid
<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42X-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K43X-1
<220><221> misc_feature
<222> (42)..(42)
<223> Xaa is an unnatural amino acid
<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
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> 34
<211> 132
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K35X-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<400> 34

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> 35

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: IL-2_P65[AzK]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: IL-2_F42[AzK]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: IL-2_K35[AzK]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<400> 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

<210> 45

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<400> 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

<210> 47

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<400> 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-2

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG]-2

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG]-2

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG]-2

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to 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

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> 59

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG]-2

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro 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> 60
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ L1_PEG5kD]-2
<220><221> misc_feature
<222> (65)..(65)
<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG
<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG5kD]-2
<220><221> misc_feature
<222> (42)..(42)
<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG5kD]-2
<220><221> misc_feature
<222> (43)..(43)
<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG
<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG5kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<400> 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

<210> 67

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-2
<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)
<223> Xaa is [AzK_ L1_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine
stably-conjugated to PEG
<400> 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

<210> 70

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_ PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<400> 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

<210> 72

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_ PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<400> 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_ PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_ PEG]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_ PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine
stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<

222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine stably-conjugated to PEG

<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_PEG30kD]-1
<220><221> misc_feature
<222> (34)..(34)
<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]: N6-((2-azidoethoxy)-carbonyl)-L-lysine

stably-conjugated to PEG
<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> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_F44X
<220><221> misc_feature
<222> (44)..(44)
<223> Xaa is an unnatural amino acid
<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F44X-1

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_R38X

<220><221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_R38X-1

<220><221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_T41X

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_T41X-1

<220><221> misc_feature

<222> (40)..(40)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E68X

<220><221> misc_feature

<222> (68)..(68)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro 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

<210> 92

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E68X-1

<220><221> misc_feature

<222> (67)..(67)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_Y45X

<220><221> misc_feature

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_Y45X-1

<220><221> misc_feature

<222> (44)..(44)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<400> 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

<210> 95

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_V69X

<220><221> misc_feature

<222> (69)..(69)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_V69X-1

<220><221> misc_feature

<222> (68)..(68)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<400> 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

<210> 97

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_L72X

<220><221> misc_feature

<222> (72)..(72)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<400> 97

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

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly 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> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_L72X-1

<220><221> misc_feature

<222> (71)..(71)

<223> Xaa is an unnatural amino acid

<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