



등록특허 10-2653758



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년04월04일  
(11) 등록번호 10-2653758  
(24) 등록일자 2024년03월28일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C07K 14/55* (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)  
*C07K 14/715* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*C07K 14/55* (2013.01)  
*A61K 38/00* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7005686
- (22) 출원일자(국제) 2015년08월05일  
심사청구일자 2020년08월05일
- (85) 번역문제출일자 2017년02월28일
- (65) 공개번호 10-2017-0030646
- (43) 공개일자 2017년03월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/043792
- (87) 국제공개번호 WO 2016/022671  
국제공개일자 2016년02월11일

(30) 우선권주장  
62/033,726 2014년08월06일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

US06670147 B1

WO2011123683 A2\*

John Puskas et al, Development of an attenuated interleukin-2 fusion protein that can be activated by tumour-expressed proteases, *Immunology*, Vol.133, No.2, pp.206-220(2011.06.23.) 1부.\*

US20060263857 A1

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 25 항

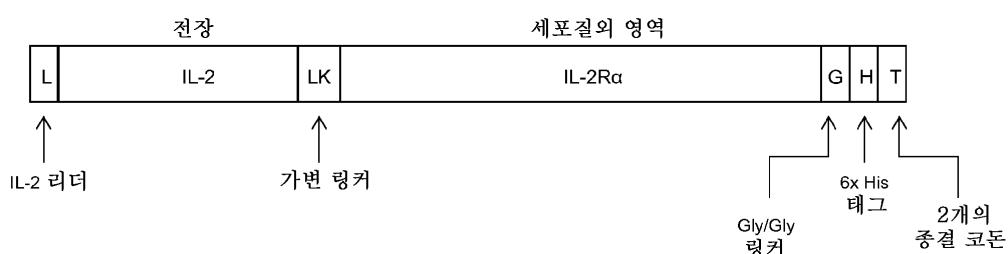
심사관 : 김수진

(54) 발명의 명칭 인터류킨-2/인터류킨-2 수용체 알파 융합 단백질 및 사용 방법

**(57) 요약**

면역계를 조절하기 위해 사용될 수 있는 다양한 방법 및 조성물이 제공된다. 조성물은 (a) 인터류킨-2 (IL-2) 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 (b) 인터류킨-2 수용체 알파 (IL-2R $\alpha$ )의 세포의 도메인 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함하는, 제1 폴리펩티드에 인프레임으로 융합된 제2 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질을 포함하고, 상기 융합 단백질은 IL-2 활성을 갖는다. 본원에 개시된 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효성을 면역 반응의 조절을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 조절하기 위한 다양한 방법이 제공된다.

**대 표 도** - 도1



(52) CPC특허분류

*C07K 14/7155* (2013.01)

*C07K 2319/00* (2013.01)

*C07K 2319/21* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- (a) 인터류킨-2 (IL-2)를 포함하는 제1 폴리펩티드, 및  
(b) 제1 폴리펩티드에 링커에 의해 인 프레임(in frame)으로 융합된 제2 폴리펩티드  
를 포함하는 융합 단백질이고,

제1 폴리펩티드는 서열식별번호: 2에 기재된 서열로 이루어지고,

링커는 서열식별번호: 13에 기재된 서열로 이루어지고,

제2 폴리펩티드는 인터류킨-2 수용체 알파 (IL-2R  $\alpha$ )의 세포외 도메인을 포함하며,

제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 7에 기재된 서열로 이루어지고, IL-2R  $\alpha$  세포외 도메인의 생물학적 활성을 가지며, IL-2에 결합할 수 있는 것인,

IL-2 활성을 갖는 융합 단백질.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 천연 IL-2와 비교할 때 증가된 IL-2 효능을 갖는 융합 단백질.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 천연 IL-2와 비교할 때 생체내에서 IL-2R 보유 립프구의 지속적인 IL-2 자극 증가를 보이는 융합 단백질.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 서열식별번호: 26, 27, 및 59 중 어느 하나에 기재된 서열을 포함하는 융합 단백질.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 서열식별번호: 26에 기재된 서열을 포함하는 융합 단백질.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, IL-2R  $\alpha$ 의 세포외 도메인에 치환, 결실, 말단절단 또는 삽입을 포함하는 융합 단백질.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 8

제7항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 숙주 세포.

#### 청구항 9

제8항에 있어서, CHO 세포 또는 COS 세포를 포함하는 숙주 세포.

#### 청구항 10

제1항의 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하고,

융합 단백질을 숙주 세포에서 발현시키는 것

을 포함하는, 제1항의 융합 단백질을 제조하는 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 숙주 세포에서 활성인 프로모터에 작동가능하게 연결되는 것인 방법.

**청구항 12**

치료 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 포함하는, 면역 반응의 감소를 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 감소시키는 방법에 사용하기 위한 제약 조성물.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 대상체가 자가면역 질환을 갖는 것인 제약 조성물.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 자가면역 질환이 제1형 당뇨병, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 복강 질환, 전신 홍반성 루푸스, 소아 특발성 관절염, 크론병, 궤양성 결장염 또는 전신 경화증, 이식편 대 숙주 질환, 건선, 원형 탈모증, 또는 HCV-유발 혈관염을 포함하는 것인 제약 조성물.

**청구항 15**

제12항에 있어서, 융합 단백질의 치료 유효량이 면역 반응을 감소시키기 위해 성인 당  $10^3$  내지  $10^6$  IU의 IL-2 활성 또는 성인 당  $10^4 \pm 100$ 배의 IL-2 활성을 포함하는 것인 제약 조성물.

**청구항 16**

치료 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 포함하는, 백신의 면역원성을 증진을 필요로 하는 대상체에서 백신의 면역원성을 증진시키는 방법에 사용하기 위한 제약 조성물이며,

상기 방법은

- (a) 상기 제약 조성물을 대상체에게 투여하는 단계, 및
- (b) 대상체에게 백신을 투여하는 단계

를 포함하고,

융합 단백질은 백신의 면역원성을 증진시키는 것인 제약 조성물.

**청구항 17**

치료 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 포함하는, 백신에 대한 억제된 면역 반응의 극복을 필요로 하는 대상체에서 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 방법에 사용하기 위한 제약 조성물이며,

상기 방법은

- (a) 상기 제약 조성물을 대상체에게 투여하는 단계, 및
- (b) 대상체에게 백신을 투여하는 단계

를 포함하고,

융합 단백질은 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 것인 제약 조성물.

**청구항 18**

제16항에 있어서, 치료 유효량의 융합 단백질 및 백신이 임의의 순서로 순차적으로 투여되거나 동시에 투여되는 것인 제약 조성물.

**청구항 19**

제17항에 있어서, 치료 유효량의 융합 단백질 및 백신이 임의의 순서로 순차적으로 투여되거나 동시에 투여되는 것인 제약 조성물.

#### 청구항 20

제16항에 있어서, 백신이 암 백신인 제약 조성물.

#### 청구항 21

제17항에 있어서, 백신이 암 백신인 제약 조성물.

#### 청구항 22

제16항에 있어서,

융합 단백질의 치료 유효량이 대상체 당  $10^4$  내지  $10^7$  IU의 IL-2 활성 또는 대상체 당  $10^5 \pm 100$ 배의 IL-2 활성을 포함하고,

대상체가 성인인 제약 조성물.

#### 청구항 23

제17항에 있어서,

융합 단백질의 치료 유효량이 대상체 당  $10^4$  내지  $10^7$  IU의 IL-2 활성 또는 대상체 당  $10^5 \pm 100$ 배의 IL-2 활성을 포함하고,

대상체가 성인인 제약 조성물.

#### 청구항 24

제16항에 있어서, 대상체가 인간인 제약 조성물.

#### 청구항 25

제17항에 있어서, 대상체가 인간인 제약 조성물.

#### 청구항 26

삭제

#### 청구항 27

삭제

#### 청구항 28

삭제

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본원에서 개시되는 대상은 일반적으로 인터류킨-2/인터류킨-2 수용체 알파 융합 단백질을 사용하여 면역 반응을 조절하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

[0002] EFS-WEB를 통해 텍스트 파일로 제출된 서열 목록에 대한 언급

[0003] 서열 목록의 공식 사본은 미국 정보 교환을 위한 표준 코드 (American Standard Code for Information Interchange, ASCII)에 따라 EFS-Web을 통해 텍스트 파일로 본원과 동시에 제출되었고, 파일 명칭은 464173seqlist.txt이고, 생성일은 2015년 7월 30일이고, 크기는 139 KB이다. EFS-Web을 통해 제출된 서열 목록은 본원의 일부이고, 본원에 그 전체가 참고로 포함된다.

[0004] 연방 자금 지원의 언급

[0005] 본 발명은 미국 국립 보건원 (NIH), 미국 국립 당뇨병 및 소화기 및 신장병 협회 (NIDDK)에서 수여하는 승인 번호 R01 DK093866 하의 정부 지원으로 이루어졌다. 미국 정부는 본 발명에 대해 특정 권리를 갖는다.

### 배경 기술

[0006] 인터류킨-2 (IL-2)는 암 및 HIV/AIDS 환자에서 면역 반응을 증가시키기 위한 시도에서 사용된 생물제제이다. 보다 최근에, IL-2의 저용량이 자기 조직의 자가면역-유사 공격과 연관된 원치 않는 면역 반응을 억제하기 위해 내성을 선택적으로 증가시키기 위해 사용되어 왔다. 중요하게는, 상기 IL-2의 저용량은 자가반응성 T 세포의 증강 또는 재활성화의 어떠한 징후도 보이지 않았다. 그럼에도 불구하고, IL-2는 효능을 제한하는 생체내에서의 매우 짧은 반감기, 높은 용량에서의 독성을 비롯하여 치료제로서 중요한 단점을 갖는다. 이러한 이유로, 새로운 IL-2 생물제제는 개선된 약동학 및 사용을 위한 반응 지속성을 필요로 한다.

### 발명의 내용

[0007] 면역계를 조절하기 위해 사용될 수 있는 다양한 방법 및 조성물이 제공된다. 조성물은 (a) 인터류킨-2 (IL-2) 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 (b) 인터류킨-2 수용체 알파 (IL-2R $\alpha$ )의 세포외 도메인 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함하는, 제1 폴리펩티드에 인 프레임 (in frame)으로 융합된 제2 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질을 포함하고, 상기 융합 단백질은 IL-2 활성을 갖는다.

[0008] 본원에 개시된 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효량을 면역 반응의 감소를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 감소시키기 위한 다양한 방법이 제공된다.

[0009] 또한, 본원에 개시된 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효량을 면역 반응의 증가를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 증가시키는 방법이 제공된다. T 조절 세포 활성을 증가시키는 방법이 추가로 제공된다.

[0010] (a) 본원에 개시된 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효량을 대상체에게 투여하고; (b) 대상체에게 백신을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 융합 단백질은 백신의 면역원성을 증진시키거나 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 것인, 대상체에서 백신의 면역원성을 증진시키거나 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 것을 포함하는 추가의 방법이 제공된다.

### 도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 개략도를 제공하고, 여기서 L = 리더 펩티드, LK = 링커 영역, G = 글리신, H = 히스티딘 및 T = 종결 코돈이다.

도 2A 및 도 2B는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 비-제한적 예의 추정 단백질 서열을 제공한다. 도 2A는 마우스 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 비-제한적 예의 추정 단백질 서열을 제공한다. 마우스 IL-2 및 IL-2R $\alpha$ 의 서열은 각각 융합 단백질의 상부 및 하부에 제시된다. IL-2로 나타낸 서열은 서열식별번호 (SEQ ID NO): 3에 제시되어 있고; IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 54에 제시되어 있고; IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 55에 제시되어 있고; IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 56에 제시되어 있고; IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 57에 제시되어 있고; IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인은 서열식별번호: 10에 제시되어 있다. 도 2B는 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 비-제한적 예인 추정된 단백질 서열을 제공한다. 인간 IL-2 및 IL-2R $\alpha$ 의 서열은 각각 융합 단백질의 상부 및 하부에 제시되어 있다. IL-2로 나타낸 서열은 서열식별번호: 1에 제시되어 있고; IL-2-(G3S)2-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 58에 제시되어 있고; IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 59에 제시되어 있고; IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 60에 제시되어 있고; IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$ 로 나타낸 서열은 서열식별번호: 61에 제시되어 있고; IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인은 서열식별번호: 7에 제시되어 있다.

도 3은 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 생물활성을 보여준다. COS-7 세포는 지시된 링커를 갖는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 cDNA로 형질감염시켰다. 이들 세포의 상청액을 항-CD3 활성화 T 모세포와 함께 배양하여 IL-2 활성을 평가하였다. (A) 지시된 융합 단백질을 희석한 후, T 모세포에 의한 증식 반응. (B) 지시된 융합 단백질을 함유하는 배양 상청액의 1:2 희석에 의해 자극된 증식에 대한 항-IL-2의 효과.

도 4는 정제된 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 활성을 보여준다. 형질전환된 CHO 세포의 상청액을 사용하여 6x-

His 태그에 대한 니켈-기반 친화성 크로마토그래피에 의해 IL-2/(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  및 IL-2/(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>4</sub>/IL-2R $\alpha$ 를 정제하였다. (A) 지시된 정제된 융합 단백질에 대한 항-CD3 T 모세포의 증식에 의한 IL-2 생물활성 측정. (B) 비-리간드 결합 부위에 대해 작용하는 PC61 및 7D4 항-IL-2R $\alpha$  모노클로날 항체의 항-CD3 활성화된 T 모세포에 대한 결합을 억제하는 각각의 정제된 융합 단백질의 효과.

도 5는 IL-2R $\alpha$ 의 IL-2 결합 부위에 대해 작용하는 모노클로날 항-IL-2R $\alpha$  항체가 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질에 결합할 수 없음을 보여준다. 나타낸 바와 같이, 가변적인 링커를 갖는 정제된 융합 단백질을 먼저 IL-2R $\alpha$ 의 리간드 결합 부위에 대해 작용하는 3C7 항-IL-2R $\alpha$  모노클로날 항체 또는 IL-2R $\alpha$ 의 비-리간드 결합 부위에 대해 작용하는 7D4 모노클로날 항체와 함께 인큐베이션하였다. 이어서, IL-2R $\alpha$ -형질감염된 EL4 세포를 사용하여 세포 표면 IL-2R $\alpha$ 에 결합하는 3C7 또는 7D4의 능력을 평가하였다.

도 6은 정제된 IL-2/IL-2R $\alpha$ 의 생화학적 특성을 보여준다. (A) 정제된 IL-2/IL-2R $\alpha$ 를 환원 조건 및 비-환원 조건 하에서 SDS-PAGE에 적용하고; IL-2/IL-2R $\alpha$ 는 융합 단백질의 6x-His 태그에 대해 작용하는 항체로 프로빙 함으로써 웨스턴 블로트 분석에 의해 가시화되었다. (B) 지시된 양의 정제된 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>4</sub>/IL-2R $\alpha$ 를 환원 조건하에 SDS-PAGE에 적용한 후, 쿠마시 블루로 염색하였다.

도 7은 생체내에서 IL-2 의존성 신호전달에 대한 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 효과를 보여준다. C57BL/6 마우스에게 IL-2/(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  (4000 단위의 IL-2 활성)를 복강 내로 단일 주사하고, 지시된 비장 세포 집단 내의 pSTAT5 수준을 즉시 평가하였다. IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 주사 후 0.5시간 후에 pSTAT5 수준을 결정하였다. CD4<sup>+</sup> T 세포의 경우, Foxp3<sup>+</sup> Treg 세포를 배제하기 위해 세포를 게이팅하였다.

도 8은 생체내에서 Treg 세포에 대한 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 효과를 보여준다. NOD 마우스에게 IL-2/(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  와 연관된 IL-2 활성의 지시된 양으로 3회 (제1일, 제3일, 제5일) 복강내 주사하였다. Treg에 대한 효과는 마지막 주사 24시간 후에 비장, 췌장 림프절 (PLN) 및 췌장에 대해 평가되었다. CD4<sup>+</sup> T 세포 내의 Treg의 비율; 대조군 처리 마우스로부터의 Treg에 의한 CD25 발현에 대해 정규화한 후 Treg에 의한 CD25 발현의 평균 형광 강도 (MFI); 증식 마커 Ki67의 발현에 의해 평가된 Treg의 증식 상태; IL-2 의존성 최종 분화된 하위 집단을 표시하는 Klrg1을 발현한 Treg의 %를 평가하였다.

도 9는 생체내에서 Treg 세포의 변화를 유도하기 위한 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 및 재조합 IL-2의 비교를 보여준다. C57BL/6 마우스는 IL-2/(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  (2000 단위), 재조합 인간 IL-2 (25,000 단위) 또는 항-IL-2 (Jes-6.1; 5  $\mu$ g) 및 마우스 IL-2 (10,000 단위) (IL2/IC)의 미리 형성된 복합체를 복강 내로 3회 (제1일, 제3일, 제5일) 주사하였다. Treg에 대한 효과는 마지막 주사 24, 72시간 및 1주 후에 비장에 대해 평가되었다. Treg를 도 8에 기술된 바와 같이 평가하였다.

도 10은 저용량 IL-2의 제한된 적용이 NOD 마우스에서 당뇨병을 지연시킴을 보여준다. NOD 마우스 (8마리/군)에게 (A)에서의 스케줄에 따라 IL-2/IL-2R $\alpha$ , 가용성 IL-2R $\alpha$  또는 PBS를 투여하였다. 마우스가 40주령에 도달할 때까지 소변 및 혈액 내 글루코스 수준을 모니터링하였다. 마우스는 글루코스 수준의 2회 연속 판독값이 250 mg/dl을 초과한 후에 당뇨병으로 간주되었다.

도 11은 고용량 IL-2/IL-2R $\alpha$ 가 CD8<sup>+</sup> T 세포 기억의 발생을 향상시킴을 보여준다. C57BL/6 마우스에게 유사유전자형(congenic) 클래스 I-제한 오발부민(OVA)-특이적 OT-I T 세포 수용체 트랜스제닉 T 세포를 투여하였다. 이들 마우스를 면역화하고 IL-2/(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  융합 단백질, 15,000 단위의 IL-2를 함유하는 IL2/IC, 또는 재조합 IL-2 (25,000 단위)의 단일 투여로 처리하였다. 지시된 시간에, 말초 혈액에서 총 CD8<sup>+</sup> T 세포 구획 내의 OT-I T 세포의 상대적인 비율을 평가하였다.

도 12는 고용량 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질에 의해 지속적인 OT-I 기억 세포의 유형을 보여준다: (A) 이펙터-기억 (EM) 및 중심 기억 (CM) 세포를 확인하는 게이팅 전략. (B) 또한 IL-2/IL-2R $\alpha$  (12,000 단위)를 투여한 마우스에 대한 면역화 28일 및 202일 후의 OT-I 기억 세포의 분포.

도 13은 도시된 바와 같이 가변 길이의 글리신/세린 링커를 함유하는 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 특성을 보여준다. (A) CTLL 생물 검정을 이용한 정제된 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$ 의 IL-2-생물활성. (B) 환원 조건 하에서 SDS-PAGE 후 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 웨스턴 블로트 분석.

도 14는 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질이 모노클로날 항-IL-2R $\alpha$  항체에 결합하는 것을 보여준다. 지시된 링

커를 갖는 정제된 융합 단백질을 먼저 인간 IL-2R $\alpha$ 의 리간드 결합 영역에 대해 작용하는 BC96 항-IL-2R $\alpha$  모노클로날 항체 또는 인간 IL-2R $\alpha$ 의 비-리간드 결합 영역에 대해 작용하는 M-A257 모노클로날 항체와 함께 인큐베이션하였다. BC96 또는 M-A257이 세포 표면 IL-2R $\alpha$ 에 결합하는 능력을 IL-2R $\alpha$ -형질감염된 CHO 세포를 사용하여 평가하였다.

도 15는 IL-2가 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질과 관련하여 IL-2R $\alpha$ 의 IL-2 결합 부위와 상호작용함을 보여준다. 가변 글리신/세린 링커를 갖는 지시된 융합 단백질의 IL-2-생물활성을 CTL $\alpha$  세포를 사용하여 평가하였다. Mut는 IL-2R $\alpha$ 가 Arg<sup>35</sup>→Thr, Arg<sup>36</sup>→Ser 돌연변이를 포함하는 융합 단백질을 의미한다. 웨스턴 블로트 분석은 모든 융합 단백질의 유사한 양을 확인하였다 (미도시).

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012]

본 발명은 이제 본 발명의 모든 실시양태가 아니라, 일부 실시양태가 제시되는 첨부 도면을 참조하여 이하에서 보다 상세히 설명될 것이다. 실제로, 이들 발명은 많은 상이한 형태로 구체화될 수 있고, 본원에서 제시되는 실시양태로 한정되는 것으로 해석되지 않아야 하고, 오히려, 이들 실시양태는 본 개시내용이 적용 가능한 법적 요건을 충족하도록 제공된다. 동일한 번호는 명세서 전체에 걸쳐 동일한 요소를 지칭한다.

[0013]

전술한 설명 및 관련 도면에 제시된 교시내용의 이점을 갖는, 본원에서 제시되는 본 발명의 많은 변형 및 다른 실시양태는 본 발명이 관련된 기술의 통상의 기술자에게 떠오를 것이다. 따라서, 본 발명은 개시된 특정 실시양태로 제한되지 않고 변형 및 다른 실시양태는 첨부된 청구항들의 범위 내에 포함되도록 의도됨을 이해하여야 한다. 본원에서 특정 용어가 사용되었지만, 이들은 제한적인 목적이 아니라, 단지 일반적이고 기술적인 의미로 사용된다.

[0014]

#### I. 개요

[0015]

현재의 기술은 약리학적 특성이 불량한 재조합 인터류킨-2 (IL-2)의 사용에 의존하고, 특히 짧은 반감기는 그의 유용성을 제한한다. 본원에서 제시되는 인터류킨-2/인터류킨-2 수용체 알파 (IL-2/IL-2R $\alpha$ ) 융합 단백질은 재조합 IL-2 및 다른 IL-2 융합 단백질로부터 이들을 분리시키는 본질적인 특성을 갖는다. 첫째, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 크기는 생체내에서 그의 반감기를 증가시킬 것이다. 둘째, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질과 관련된 IL-2와 IL-2R $\alpha$  (IL-2R의 하나의 하위단위) 사이의 약한 상호작용은 IL-2의 이용가능성을 연장하는 또 다른 메카니즘을 제공한다. 특정 작용 메카니즘으로 제한되지 않지만, IL-2 활성의 연장된 이용가능성은 IL-2 모이어티와 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합체의 IL-2R $\alpha$  와의 및 IL-2R을 발현하는 세포와의 경쟁적 상호작용을 통해 발생할 수 있다.

[0016]

#### II. 인터류킨-2/인터류킨-2 수용체 알파 융합 단백질 및 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드

[0017]

인터류킨-2 수용체 알파 (IL-2R $\alpha$ ) 폴리펩티드의 세포의 도메인 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함하거나 이로 이루어지는 제2 폴리펩티드에 인 프레임으로 융합된, 인터류킨-2 (IL-2) 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0018]

본원에서 사용되는 바와 같이, "융합 단백질"은 적어도 2개의 이종성 폴리펩티드의 인 프레임 유전자 연결을 의미한다. 전사/번역시, 단일 단백질이 만들어진다. 이러한 방식으로, 다수의 단백질 또는 그의 단편이 단일 폴리펩티드로 통합될 수 있다. "작동가능하게 연결된"은 2개 이상의 요소 사이의 기능적 연결을 의미하고자 의도된다. 예를 들어, 두 폴리펩티드 사이의 작동가능한 연결은 단일 폴리펩티드 융합 단백질을 생성하기 위해 두 폴리펩티드를 인 프레임으로 함께 융합시킨다. 특정 측면에서, 상기 융합 단백질은 추가로 아래에서 상세히 논의되는 바와 같이 링커 서열을 포함할 수 있는 제3 폴리펩티드를 추가로 포함한다.

[0019]

IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 또는 그의 활성 변이체 또는 단편은 하기 특성/활성을 하나 이상 가질 수 있다: (1) 저용량 IL-2 기반 요법에서 조절 T 세포 (Treg)의 활성 증가 및/또는 면역 관용성 증가; (2) 고용량 요법에서 면역 반응 및 기억의 증가; (3) 재조합 IL-2에 비해 IL-2 이용가능성 증가; 및/또는 (4) 생체내에서 IL-2R 보유 림프구의 지속적인 IL-2 자극 증가. 이러한 활성 및 검정 방법은 본원의 다른 곳에서 보다 상세하게 개시된다. 예를 들어, 본원에서 제시되는 실시예 1을 참조한다.

[0020]

하나의 비-제한적인 실시양태에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 또는 그의 활성 변이체 또는 단편으로부터 유도된 Treg의 증가된 활성은 예를 들어 (1) CD4<sup>+</sup> T 세포 구획에서 Treg의 증가된 제시 및 수; (2) IL-2 의존성 CD25의 상향조절; (3) 증식 마커 Ki67의 발현에 의해 평가된 증식 증가; (4) IL-2 의존성 최종 분화 KIrg1<sup>+</sup> Treg 하위

세트의 증가된 분획을 포함하는 다양한 방식으로 검정될 수 있다. Treg에 대한 상기 효과는 예를 들어 비장 및 염증 체장에서 볼 수 있다.

[0021] 하나의 비-제한적인 실시양태에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 또는 그의 활성 변이체 또는 단편은 T 이펙터/기억 반응의 증가를 통해 면역관용성 (tolerogenic) 및 면역 억제성 Treg 및 면역력을 증가시키고, 추가의 실시양태에서는 이것은 (1) 천연 IL-2 또는 재조합 IL-2에 비해 더 낮은 유효 수준의 IL-2 활성에서 상기 반응을 전달함으로써 개선된 약동학을 보이고/보이거나; (2) 천연 또는 재조합 IL-2보다 더 지속적인 생물학적 반응을 나타내고/나타내거나; (3) T 이펙터/기억 세포보다 더 낮은 수준의 용량에서 반응성인 Treg를 갖는 계층 (hierarchy)을 유지한다.

[0022] 특정 실시양태에서, 융합 단백질은 천연 IL-2 또는 재조합 IL-2보다 개선된 활성을 갖는다. 예를 들어, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 효과는 천연 또는 재조합 IL-2에 비해 약 2배, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 100배, 150배, 200배 이상 더 낮은 IL-2 활성에서 면역관용성 Treg를 증가시킬 수 있다. 다른 실시양태에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 Treg의 지속적인 증가 및 관련 특성을 유도하는데 천연 또는 재조합 IL-2보다 더 효과적이다.

[0023] 다양한 유기체로부터의 다양한 IL-2 및 IL-2R $\alpha$  단편 및 변이체를 사용하여 본원에서 제공된 IL-2/IL-2R $\alpha$  세포 외 도메인 융합 단백질을 생성할 수 있다. 상기 성분은 본원의 다른 곳에서 보다 상세하게 논의된다. 비-제한적인 처리되지 않은 IL-2/IL-2R $\alpha$  세포 외 도메인 융합 단백질의 예는 서열식별번호: 17, 19, 21, 23, 25, 27, 36, 38, 44, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 및 61에 제시되고, IL-2/IL-R $\alpha$  세포 외 도메인 융합 단백질의 성숙 형태의 비-제한적인 예는 서열식별번호: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 37, 39, 43, 45, 62 및 64에 제시된다. 상기 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 비-제한적인 예는 서열식별번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 42, 47, 48, 49, 63 및 65에 제시된다.

[0024] "분비 신호 서열"이라는 용어는 보다 큰 폴리펩티드의 성분으로서 보다 큰 폴리펩티드가 합성되는 세포의 분비 경로를 통과하도록 유도하는 폴리펩티드 ("분비 웨이브")를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 의미한다. 보다 큰 폴리펩티드는 일반적으로 분비 경로를 통한 수송 동안 분비 웨이브를 제거하기 위해 절단된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "성숙" 형태의 융합 단백질 또는 폴리펩티드는 분비 웨이브가 제거된 폴리펩티드의 프로세싱된 형태를 포함한다. 본원에서 사용된 "비프로세싱된" 형태의 융합 단백질은 분비 웨이브 서열을 보유한다.

[0025] IL-2/IL-R $\alpha$  세포 외 도메인 융합 단백질의 성숙 및 비프로세싱된 형태의 생물학적으로 활성인 단편 및 변이체 및 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드도 제공된다. 이러한 기능적 폴리펩티드 단편은 서열식별번호: 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 또는 64 중 어느 하나의 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500개 또는 그 초과의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. 대안적으로, 기능적 폴리펩티드 변이체는 서열식별번호: 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 또는 64에 제시된 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있다.

[0026] IL-2/IL-R $\alpha$  세포 외 도메인 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 활성 변이체 및 단편이 추가로 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 42, 47, 48, 49, 63 또는 65의 적어도 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1100, 1200, 1300, 1500, 1800, 2000개의 연속 뉴클레오티드, 또는 서열식별번호: 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 또는 64에 제시된 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하고 기능적 IL-2/IL-R $\alpha$  세포 외 도메인 융합 단백질을 계속 코딩할 수 있다. 대안적으로, 기능적 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 42, 47, 48, 49, 63 또는 65에 제시된 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성, 또는 서열식별번호: 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 또는 64에 제시된 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 기능적 IL-2/IL-R $\alpha$  세포 외 도메인 융합 단백질을 계속 코딩할 수 있다.

[0027] 또한, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 성분은 임의의 순서로 발견될 수 있다. 한 실시양태에서, IL-2 폴리펩티드는 N-말단에 있고, IL-2R $\alpha$ 의 세포 외 도메인은 융합 단백질의 C-말단에 존재한다.

[0028] i. 인터류킨-2

- [0029] 본원에서 사용된 "인터류킨-2" 또는 "IL-2"는 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유동물 및 달리 나타내지 않으면 가축 또는 농업 포유동물을 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 또는 재조합 IL-2를 의미한다. 이 용어는 비프로세싱된 IL-2뿐만 아니라, 세포에서의 프로세싱에 의해 생성된 임의의 형태의 IL-2 (즉, 성숙한 형태의 IL-2)를 포함한다. 상기 용어는 또한 IL-2의 자연 발생 변이체 및 단편, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체 및 비-자연 발생 변이체를 포함한다. 인간 IL-2의 예시적인 성숙 형태의 아미노산 서열 (20개 아미노산의 신호 서열을 가짐)을 서열식별번호: 2에 제시한다. 비프로세싱된 인간 IL-2는 N-말단의 20개 아미노산의 신호 펩티드 (서열식별번호: 1)를 포함하고, 이것은 성숙 IL-2 분자에는 존재하지 않는다. 마우스 IL-2의 예시적인 성숙 형태의 아미노산 서열 (20개 아미노산의 신호 서열을 가짐)을 서열식별번호: 4에 제시한다. 비프로세싱된 마우스 IL-2는 N-말단의 20개 아미노산의 신호 펩티드 (서열식별번호: 3)를 포함하고, 이것은 성숙 IL-2 분자에는 존재하지 않는다. 도 2A 및 도 2B를 또한 참조한다. "야생형 IL-2"로도 불리는 "천연 IL-2"는 자연 발생 또는 재조합 IL-2를 의미한다.
- [0030] IL-2에 대한 추가의 핵산 및 아미노산 서열이 공지되어 있다. 예를 들어, 진뱅크(GenBank) 수탁 번호: Q7JFM2 (아오투스 레무리누스(*Aotus lemurinus*) (회색배 올빼미 원숭이)); Q7JFM5 (아오투스 낸시마아에(*Aotus nancymaae*) (마 올빼미 원숭이)); P05016 (보스 타우루스(*Bos taurus*) (소)); Q29416 (카니스 패밀리아리스 (*Canis familiaris*) (개)) (카니스 루푸스 패밀리아리스(*Canis lupus familiaris*)); P36835 (카프라 히르쿠스 (*Capra hircus*) (염소)); 및 P37997 (에쿠우스 카발루스(*Equus caballus*) (말))을 참조한다.
- [0031] IL-2의 생물학적 활성 단편 및 변이체도 제공된다. 이러한 IL-2 활성 변이체 또는 단편은 IL-2 활성을 보유할 것이다. "IL-2의 생물학적 활성"이란 용어는 IL-2 수용체 보유 림프구를 자극하는 능력을 포함하고 이로 제한되지 않는 IL-2의 하나 이상의 생물학적 활성을 의미한다. 이러한 활성은 시험관내에서 및 생체내에서 둘 다 측정될 수 있다. IL-2는 면역 활성의 전반적인 조절자이고, 본원에서 제시된 효과는 상기 활성의 총합이다. 예를 들어, 이것은 생존 활성 (Bcl-2)을 조절하고, T 이펙터 활성 (IFN-감마, 그랜자임 B 및 페르포린)을 유도하고, T 조절 활성 (FoxP3)을 촉진한다. 예를 들어, 그 전부가 본원에 참고로 포함된 문헌 [Malek et al. (2010) *Immunity* 33(2):153-65]을 참조한다.
- [0032] IL-2의 생물학적 활성 변이체가 공지되어 있다. 예를 들어, 각각 본원에 참고로 포함된 미국 특허 출원 공개 20060269515 및 20060160187 및 WO 99/60128을 참조한다.
- [0033] IL-2의 생물학적 활성 단편 및 변이체는 본원에 개시된 융합 단백질에서 사용될 수 있다. 상기 기능적 단편은 서열식별번호: 1, 2, 3 또는 4의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 125, 150개 또는 그 초과의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. 대안적으로, 기능적 변이체는 서열식별번호: 1, 2, 3 또는 4에 제시된 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있다.
- [0034] IL-2 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 활성 변이체 및 단편이 추가로 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 1, 2, 3 또는 4를 코딩하는 폴리펩티드의 적어도 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고, IL-2 활성을 갖는 단백질을 계속 코딩할 수 있다. 대안적으로, 기능적 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 1, 2, 3 또는 4에 제시된 아미노산 서열을 코딩하는 폴리펩티드에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함하고, 기능적 IL-2 폴리펩티드를 계속 코딩할 수 있다.
- [0035] ii. 인터류킨-2 수용체 알파
- [0036] 본원에서 사용되는 "CD25" 또는 "IL-2 수용체  $\alpha$ " 또는 "IL-2R  $\alpha$ "라는 용어는 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유동물 및 달리 나타내지 않으면 가축 또는 농업 포유동물을 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 또는 재조합 IL-2R  $\alpha$ 를 의미한다. 상기 용어는 또한 IL-2R  $\alpha$ 의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체 또는 비-자연 발생 변이체를 포함한다. 인간 IL-2는 그의 수용체 시스템인 IL-2R을 통한 신호전달을 통해 그의 생물학적 효과를 발휘한다. IL-2 및 그의 수용체 (IL-2R)는 면역 반응에 중요한 T-세포 증식 및 다른 기본적인 기능에 필요하다. IL-2R은 알파 (p55), 베타 (p75) 및 감마 (p65) 쇄인 3개의 비공유 연결된 타입 I 막횡단 단백질로 이루어진다. 인간 IL-2R 알파 쇄는 219개 아미노산의 세포외 도메인, 19개 아미노산의 막횡단 도메인 및 13개 아미노산의 세포내 도메인을 함유한다. IL-2R  $\alpha$  (IL-2R- $\alpha$ )의 분비된 세포외 도메인은 본원에 기재된 융합 단백질에 사용될 수 있다.

- [0037] 인간 IL-2R $\alpha$ 의 예시적인 성숙 형태의 아미노산 서열은 서열식별번호: 6에 제시된다. 비프로세싱된 인간 IL-2R $\alpha$ 는 서열식별번호: 5에 제시된다. 서열식별번호: 6의 세포외 도메인은 서열식별번호: 7에 제시된다. 예시적인 성숙 형태의 마우스 IL-2R $\alpha$ 의 아미노산 서열은 서열식별번호: 9에 제시된다. 비프로세싱된 마우스 IL-2R $\alpha$ 는 서열식별번호: 8에 제시된다. 서열식별번호: 9의 세포외 도메인은 서열식별번호: 10에 제시된다. "야생형 IL-2R $\alpha$ "로도 지칭되는 "천연 IL-2R $\alpha$ "는 자연 발생 또는 재조합 IL-2R $\alpha$ 를 의미한다. 천연 인간 IL-2R $\alpha$  분자의 서열은 서열식별번호: 5 및 6에 제시된다.
- [0038] IL-2R $\alpha$ 에 대한 핵산 및 아미노산 서열은 공지되어 있다. 예를 들어, 각각 본원에 참고로 포함된 진뱅크 수탁 번호 NP\_001030597.1 (파. 트로글로디테스(*P. troglodytes*)); NP\_001028089.1 (엠. 물라타(*M. mulatta*)); NM\_001003211.1 (씨. 루푸스(*C. lupus*)); NP\_776783.1 (비. 타우루스(*B. taurus*)); NP\_032393.3 (엠. 무스쿨루스(*M. musculus*)); 및 NP\_037295.1 (알. 노르베기쿠스(*R. norvegicus*))을 참조한다.
- [0039] IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 생물학적 활성 단편 및 변이체도 제공된다. 이러한 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 활성 변이체 또는 단편은 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 활성을 유지할 것이다. 어구 "IL-2R $\alpha$  세포외 도메인의 생물학적 활성"은 IL-2 수용체 반응 세포에서 세포내 신호전달을 향상시키는 능력을 포함하고 이로 제한되지 않는 IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 하나 이상의 생물학적 활성을 지칭한다. IL-2R $\alpha$ 의 생물학적 활성 단편 및 변이체의 비-제한적인 예는 예를 들어 본원에 참고로 포함된 문헌 [Robb et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5654-5658, 1988]에 개시되어 있다.
- [0040] IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 생물학적 활성 단편 및 변이체는 본원에 개시된 융합 단백질에서 사용될 수 있다. 상기 기능적 단편은 서열식별번호: 6, 9, 7, 10, 5 또는 8 중 어느 하나의 세포외 도메인의 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 215개 또는 그 초과의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. 대안적으로, 기능적 변이체는 서열식별번호: 6, 9, 7, 10, 5 또는 8에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있다.
- [0041] 한 실시양태에서, 본원에서 제공되는 융합 단백질은 IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인 내에 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, IL-2R $\alpha$ 의 35번 위치의 아르기닌은 트레오닌으로 및/또는 IL-2R $\alpha$ 의 36번 위치의 아르기닌은 세린으로 돌연변이될 수 있다. 이러한 융합 단백질은 IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인에서 이들 돌연변이를 포함하지 않는 융합 단백질에 비해 및/또는 천연 또는 재조합 IL-2에 비해 증가된 IL-2 활성을 가질 수 있다. IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인 내에 돌연변이를 갖는 IL-2R $\alpha$ 를 포함하는 예시적인 융합 단백질의 아미노산 서열은 서열식별번호: 62 및 64에 제시된다. 한 실시양태에서, 융합 단백질은 서열식별번호: 62 또는 64 중 어느 하나의 아미노산 서열; 또는 서열식별번호: 62 또는 64 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0042] IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 활성 변이체 및 단편이 추가로 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 6, 9, 7, 10, 5 또는 8을 코딩하는 폴리펩티드의 적어도 100, 200, 300, 400, 500, 600개 또는 그 초과의 연속 뉴클레오티드를 포함하고 IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인 활성을 갖는 단백질을 계속 코딩할 수 있다. 대안적으로, 기능적 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 6, 9, 7, 10, 5 또는 8에 제시된 아미노산 서열을 코딩하는 폴리펩티드에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함하고, IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인 활성을 갖는 단백질을 계속 코딩할 수 있다.
- [0043] iii. 추가의 성분
- [0044] IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 추가의 요소를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 요소는 융합 단백질의 발현을 돋고/돕거나, 융합 단백질의 분비를 돋고/돕거나, 융합 단백질의 안정성을 개선하고/하거나, 단백질의 보다 효율적인 정제를 가능하게 하고/하거나 융합 단백질의 활성을 조절할 수 있다.
- [0045] 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드와 관련하여 "이종성"은 상이한 단백질 또는 폴리뉴클레오티드로부터 유래된 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이다. 융합 단백질의 추가의 성분은 융합 단백질의 다른 폴리펩티드 성분과 동일한 유기체로부터 유래될 수 있거나, 또는 추가의 성분은 융합 단백질의 다른 폴리펩티드 성분과 상이한 유기체로부터 유래될 수 있다.
- [0046] 한 실시양태에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 IL-2 폴리펩티드와 IL-2R $\alpha$  폴리펩티드 사이에 위치하는 링커 서열을 포함한다. 링커는 임의의 길이일 수 있고, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 50 또는 60개 또는 그 초과의 아미노

산을 포함한다. 한 실시양태에서, 링커 서열은 글리신 아미노산 잔기를 포함한다. 다른 경우에, 링커 서열은 글리신 및 세린 아미노산 잔기의 조합을 포함한다. 상기 글리신/세린 링커는 웨პ티드 GGGS 또는 GGGGS 또는 제시된 이들 웨პ티드의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 반복부를 포함하는 이들의 반복부를 포함하고 이로 제한되지 않는 아미노산 잔기의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 링커 서열은 GGGSGGGSGGGGS (서열식별번호: 13) ((Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>으로도 나타냄); GGGSGGGSGGGSGGGGS (서열식별번호: 11) ((Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>4</sub>으로도 나타냄); 또는 (Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>5</sub>; (Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>6</sub>; (Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>7</sub> 등을 포함할 수 있다. 링커 서열은 서열식별번호: 50에 제시된 (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub>; GGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열식별번호: 40) ((Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>4</sub>으로도 나타냄); GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열식별번호: 41) ((Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>5</sub>으로도 나타냄); (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>2</sub>, (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>1</sub>, (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>6</sub>; (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>7</sub>; (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>8</sub> 등을 추가로 포함할 수 있다. 또한, 임의의 링커의 활성 변이체 및 단편이 본원에 개시된 용합 단백질에 사용될 수 있다.

[0047] 또한, IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 용합 단백질의 번역을 돋는 추가의 요소를 포함할 수 있음이 또한 인식된다. 이러한 서열은 예를 들어, 용합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 5' 말단에 부착된 코작 (Kozak) 서열을 포함한다. 코작 컨센서스 서열은 번역 과정의 개시에서 역할을 수행하고 컨센서스 (gcc)gccRccAUGG (서열식별번호: 35)를 갖는 진핵 mRNA 상에 발생하는 서열이고; 여기서, (1) 소문자는 염기가 변할 수 있는 위치에서 가장 통상적인 염기를 나타내고; (2) 대문자는 고도로 보존된 염기를 나타내고, 즉, 'AUGG' 서열은 변하지 않거나, 변경이 존재하는 경우에도 매우 드물고, 예외적으로, IUPAC 모호성 부호 'R'은 퓨린 (아데닌 또는 구아닌)이 이 위치에서 정상적으로 관찰됨을 나타내고; (3) 팔호 안의 서열 ((gcc))은 불확실한 의미를 갖는다. 한 실시양태에서, 코작 서열은 서열식별번호: 53에 제시된 서열을 포함한다.

[0048] 하나의 비-제한적인 실시양태에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질은 서열식별번호: 28에 제시된 바와 같은 IL-2 리더에 최적화된 코작 서열 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함한다. 코작 서열의 기능적 변이체 또는 단편은 리더가 없는 서열로부터의 번역 수준과 비교할 때 단백질의 번역을 증가시키는 능력을 보유할 것이다. 이러한 기능적 단편은 코작 서열의 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40개의 연속 뉴클레오티드 서열 또는 식별번호: 28 또는 53에 제시된 서열을 포함할 수 있다. 대안적으로, 기능적 변이체는 코작 서열 또는 서열식별번호: 28 또는 53에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있다.

[0049] 또 다른 실시양태에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질은 폴리펩티드의 정체를 돋기 위해 C-말단에 하나 이상의 태그를 포함한다. 상기 태그는 알려져 있고, 예를 들어, 히스티딘 태그를 포함한다. 구체적인 실시양태에서, 6X His 태그가 사용된다. 또한, 추가의 링커 서열이 용합 단백질과 His 태그 사이에서 사용될 수 있다.

[0050] IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질의 비-제한적인 실시양태가 도 1, 도 2A, 및 도 2B에 제시되어 있다. 이러한 용합 단백질은 리더 웨პ티드, IL-2 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편, 가변 링커, IL-2R $\alpha$ , 글리신 링커, 6x his 태그 및 2개의 종결 코돈을 포함한다.

[0051] iv. 변이체 및 단편

[0052] a. 폴리뉴클레오티드

[0053] IL-2/IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 용합 단백질 또는 그 안에 함유된 다양한 성분 (즉, IL-2R $\alpha$  세포외 도메인, IL-2R $\alpha$  폴리펩티드, 링커 서열 및/또는 코작 서열)을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 단편 및 변이체는 본 발명의 다양한 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. "단편"은 폴리뉴클레오티드의 일부, 따라서 이에 의해 코딩되는 단백질 또는 폴리펩티드의 일부가 의도된다. 폴리뉴클레오티드의 단편은, 천연 단백질의 생물학적 활성을 보유하고 따라서 IL-2 활성, IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 활성, IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질 활성을 갖는 단백질 단편을 코딩할 수 있거나, 또는 링커 서열을 코딩할 경우 IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질의 요구되는 활성을 제공한다.

[0054] IL-2R $\alpha$  세포외 도메인, IL-2 폴리펩티드, IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질, 코작 서열 또는 링커 서열의 생물학적 활성 부분은 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 또는 IL-2 폴리펩티드의 일부를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 중 하나의 일부를 단리하고, 폴리펩티드의 코딩되는 부분을 발현시키고 (예를 들어, 시험관내에서 재조합 발현에 의해), IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 및/또는 IL-2 폴리펩티드의 일부의 활성 또는 IL-2/ILR $\alpha$  용합 단백질의 활성을 평가함으로써 제조될 수 있다.

[0055] "변이체" 서열은 고도의 서열 유사성을 갖는다. 폴리뉴클레오티드의 경우, 보존적 변이체는 유전자 코드의 축퇴성으로 인해 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 폴리펩티드, IL-2 폴리펩티드, IL-2/IL-2R $\alpha$  용합 단백질, 또는 링커 서

열 중 하나의 아미노산 서열을 코딩하는 서열을 포함한다. 이들과 같은 변이체는 예를 들어 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR) 및 혼성화 기술과 같은 잘 알려진 분자생물학 기술을 사용하여 확인될 수 있다. 변이체 폴리뉴클레오티드는 또한 예를 들어 부위 지정 돌연변이 유발을 이용하여 생성되지만 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인, IL-2 폴리펩티드, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질, 코작 서열 또는 링커 서열을 계속 코딩하는 것과 같은 합성 유래 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0056] b. 폴리펩티드

"변이체" 단백질은 천연 단백질의 N-말단 및/또는 C-말단에 하나 이상의 아미노산의 결실 (소위 말단절단 (truncation)) 또는 부가; 천연 단백질의 하나 이상의 부위에서 하나 이상의 아미노산의 결실 또는 부가; 또는 천연 단백질의 하나 이상의 부위에서 하나 이상의 아미노산의 치환에 의해 천연 단백질로부터 유래된 단백질을 의미한다. 변이체 단백질은 생물학적으로 활성이고, 즉 요구되는 생물학적 활성, 즉 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 활성, IL-2 활성 또는 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 활성을 계속 보유한다. 이러한 변이체는 예를 들어 유전자 다형성 또는 인간 조작으로부터 생성될 수 있다. IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 또는 그의 성분 중 어느 하나 (즉, IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 폴리펩티드, IL-2 폴리펩티드 또는 링커 서열)의 생물학적 활성 변이체는 본원의 다른 곳에서 설명되는 서열 정렬 프로그램 및 파라미터에 의해 결정되는 바와 같이 천연 단백질의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 초과의 서열 동일성을 가질 것이다. 단백질의 생물학적 활성 변이체는 그 단백질과 1 내지 15개의 아미노산 잔기, 1 내지 10개, 6 내지 10개, 5개, 4개, 3개, 2개, 또는 심지어 1개의 아미노산 잔기만큼 적은 아미노산 잔기가 상이할 수 있다.

단백질은 아미노산 치환, 결실, 말단절단 및 삽입을 포함하는 다양한 방법으로 변경될 수 있다. 이러한 조작 방법은 일반적으로 관련 기술 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, IL-2R $\alpha$  세포외 도메인, IL-2 폴리펩티드, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질, 또는 링커 서열의 아미노산 서열 변이체는 DNA에서의 돌연변이에 의해 제조될 수 있다. 돌연변이 유발 및 뉴클레오티드 서열 변경을 위한 방법은 관련 기술 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌 [Kunkel (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488-492]; [Kunkel et al. (1987) Methods in Enzymol. 154:367-382]; 미국 특허 4,873,192; [Walker and Gaastra, eds. (1983) Techniques in Molecular Biology (MacMillan Publishing Company, New York)] 및 이들에서 인용된 참고 문헌을 참조한다. 관심 단백질의 생물학적 활성에 영향을 미치지 않는 적절한 아미노산 치환에 대한 지침은 본원에 참고로 포함되는 문헌 [Dayhoff et al. (1978) Atlas of Protein Sequence and Structure (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.)]의 모델에서 찾을 수 있다. 한 아미노산을 유사한 특성을 갖는 또 다른 아미노산으로 교환하는 것과 같은 보존적 치환이 바람직할 수 있다.

[0059] 따라서, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드는 자연 발생 서열, "천연" 서열 및 돌연변이체 형태를 포함할 수 있다. 마찬가지로, 본 발명의 방법에 사용되는 단백질은 자연 발생 단백질뿐만 아니라 그의 변이 및 변형된 형태를 포함한다. 이러한 변이체는 재조합 사건을 수행하는 능력을 계속 보유할 것이다. 일반적으로, 변이체 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드에서 이루어진 돌연변이는 서열을 판독 프레임으로부터 벗어나지 않도록 하여야 하고/하거나, 2차 mRNA 구조를 생성할 수 있는 상보성 영역을 생성하지 않아야 한다. 유럽 특허 출원 공개 75,444를 참조한다.

[0060] 변이체 폴리뉴클레오티드 및 단백질은 또한 DNA 셔플링과 같은 돌연변이 및 재조합 유발 절차로부터 유래된 서열 및 단백질을 포함한다. 이러한 절차를 통해, 하나 이상의 상이한 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 또는 IL-2 코딩 서열을 조작하여 원하는 특성을 갖는 새로운 IL-2R $\alpha$  세포외 도메인 또는 IL-2 폴리펩티드를 생성할 수 있다. 이러한 방식으로, 재조합 폴리뉴클레오티드의 라이브러리는 실질적인 서열 동일성을 갖고 시험판내 또는 생체내에서 상동성 재조합될 수 있는 서열 영역을 포함하는 관련 서열 폴리뉴클레오티드의 집단으로부터 생성된다. 그러한 DNA 셔플링을 위한 전략은 관련 기술 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Stemmer (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:10747-10751]; [Stemmer (1994) Nature 370:389-391]; [Crameri et al. (1997) Nature Biotech. 15:436-438]; [Moore et al. (1997) J. Mol. Biol. 272:336-347]; [Zhang et al. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:4504-4509]; [Crameri et al. (1998) Nature 391:288-291]; 및 미국 특허 5,605,793 및 5,837,458을 참조한다.

[0061] III. IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 그의 제조 방법

[0062] 조성물은 또한 상기 본원에 기재된 다양한 융합 단백질 및 그의 변이체 및 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함한다. 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 및 발현 카세트가 추가로 개시된

다. 발현 카세트는 일반적으로 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결된 프로모터 및 전사 및 번역 종결 부위를 포함할 것이다.

[0063] 용어 "폴리뉴클레오티드"의 사용은 본 발명을 DNA를 포함하는 폴리뉴클레오티드로 제한하려는 것이 아니다. 통상의 기술자는 폴리뉴클레오티드가 리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드와 데옥시리보뉴클레오티드의 조합물을 포함할 수 있음을 인식할 것이다. 이러한 데옥시리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드는 자연 발생 분자 및 합성 유사체를 모두 포함한다.

[0064] "단리된" 또는 "정제된" 폴리뉴클레오티드 또는 단백질, 또는 그의 생물학적 활성 부분은 그의 천연 환경에서 발견되는 폴리뉴클레오티드 또는 단백질에 정상적으로 동반되거나 이들과 상호작용하는 성분을 실질적으로 또는 본질적으로 함유하지 않는다. 따라서, 단리되거나 정제된 폴리뉴클레오티드 또는 단백질은 재조합 기술에 의해 생산될 때 다른 세포 물질 또는 배양 배지가 실질적으로 없거나 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 다른 화학 물질이 실질적으로 없다. 최적으로는, "단리된" 폴리뉴클레오티드는 그로부터 폴리뉴클레오티드가 유래되는 유기체의 게놈 DNA에서 자연적으로 폴리뉴클레오티드의 측면에 위치하는 서열 (즉, 폴리뉴클레오티드의 5' 및 3' 말단에 위치하는 서열) (최적으로는 단백질 코딩 서열)이 존재하지 않는다. 예를 들어, 다양한 실시양태에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 그로부터 폴리뉴클레오티드가 유래되는 세포의 게놈 DNA에서 자연적으로 폴리뉴클레오티드의 측면에 위치하는 약 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0.5 kb 또는 0.1 kb 미만의 뉴클레오티드 서열을 함유할 수 있다. 세포 물질이 실질적으로 없는 단백질은 약 30%, 20%, 10%, 5% 또는 1% (건조 중량 기준) 미만의 오염 단백질을 갖는 단백질의 제제를 포함한다. 본 발명의 단백질 또는 그의 생물학적 활성 부분이 재조합 방식으로 생산될 때, 최적의 배양 배지는 약 30%, 20%, 10%, 5% 또는 1% (건조 중량 기준) 미만의 화학적 전구체 또는 비-관심 단백질 화학 물질을 제시한다.

[0065] 관련 기술 분야의 기술 내의 통상적인 분자 생물학, 미생물학 및 재조합 DNA 기술이 본원에서 사용될 수 있다. 이러한 기술은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (1989); Current Protocols in Molecular Biology" Volumes I-III [Ausubel, R.M., ed. (1994)]]; ["Cell Biology: A Laboratory Handbook" Volumes I-III [J.E. Celis, ed. (1994)]]; ["Current Protocols in Immunology" Volumes I-III [Coligan, J.E., ed. (1994)]; ["Oligonucleotide Synthesis" (M.J. Gait ed. 1984)]; ["Nucleic Acid Hybridization" [B.D. Hames & S.J. Higgins eds. (1985)]]; ["Transcription And Translation" [B.D. Hames & S.J. Higgins, eds. (1984)]; ["Animal Cell Culture" [R.I. Freshney, ed. (1986)]; ["Immobilized Cells And Enzymes" [IRL Press, (1986)]; [B. Perbal, "A Practical Guide To Molecular Cloning" (1984)]을 참조한다.

[0066] 프로모터에 작동가능하게 연결된 상기 설명한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터도 본원에서 제공된다. 뉴클레오티드 서열은 발현 제어 서열이 그 서열의 전사 및 번역을 제어하고 조절할 때 발현 제어 서열 (예를 들어, 프로모터)에 "작동가능하게 연결"된 것이다. 뉴클레오티드 서열을 언급 할 때 용어 "작동가능하게 연결된"은 발현되는 뉴클레오티드 서열 앞에 적절한 개시 신호 (예를 들어, ATG)를 갖는 것과 발현 제어 서열의 제어 하에 서열의 발현 및 서열에 의해 코딩된 요구되는 생성물의 생산을 허용하도록 정확한 판독 프레임을 유지하는 것을 포함한다. 재조합 핵산 분자 내로 삽입하고자 하는 유전자가 적절한 개시 신호를 함유하지 않으면, 그러한 개시 신호를 유전자 앞에 삽입할 수 있다. "벡터"는 또 다른 핵산 절편이 부착되어 부착된 절편의 복제를 일으킬 수 있는 플라스미드, 과지 또는 코스미드와 같은 레플리콘이다. 프로모터는 박테리아, 효모, 곤충 또는 포유동물 프로모터일 수 있거나 이와 동일할 수 있다. 또한, 벡터는 플라스미드, 코스미드, 효모 인공 염색체 (YAC), 박테리오파지 또는 진핵 바이러스 DNA일 수 있다.

[0067] 단백질 발현에 유용한 것으로 관련 기술 분야에 공지된 다른 많은 벡터 백본이 사용될 수 있다. 이러한 벡터는 다음을 포함하고 이로 제한되지 않는다: 아데노바이러스, 원숭이 바이러스 40 (SV40), 사이토메갈로바이러스 (CMV), 마우스 유방 종양 바이러스 (MMTV), 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스, DNA 전달 시스템, 즉 리포솜 및 발현 플라스미드 전달 시스템. 또한, 한 클래스의 벡터는 소 파필로마 바이러스, 폴리오마 바이러스, 바콜로바이러스, 레트로바이러스 또는 셀리키 포레스트 바이러스와 같은 바이러스 유래의 DNA 요소를 포함한다. 이러한 벡터는 상업적으로 수득되거나 관련 기술 분야에 공지된 방법에 의해 설명된 서열로부터 조합될 수 있다.

[0068] 적합한 숙주 세포의 벡터를 포함하는 폴리펩티드의 생산을 위한 숙주 벡터 시스템이 본원에서 제공된다. 적합한 숙주 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포, 예를 들어 박테리아 세포 (그럼 양성 세포 포함), 효모 세포, 진균 세포, 곤충 세포 및 동물 세포를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 마우스 섬유모세포 NIH 3T3, CHO 세포, HeLa 세포, Ltk<sup>-</sup> 세포 등을 포함하고 이로 제한되지 않은 많은 포유동물 세포가 숙주로서 사용될 수 있다. 추가의

동물 세포, 예컨대 R1.1, B-W 및 L-M 세포, 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (예를 들어, COS 1, COS 7, BSC1, BSC40 및 BMT10), 곤충 세포 (예를 들어, Sf9) 및 조직 배양액 내의 인간 세포 및 식물 세포가 또한 사용될 수 있다.

[0069] 매우 다양한 숙주/발현 벡터 조합이 본원에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 발현하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 유용한 발현 벡터는 염색체, 비-염색체 및 합성 DNA 서열의 절편으로 이루어질 수 있다. 적합한 벡터는 SV40의 유도체 및 공지된 박테리아 플라스미드, 예를 들어 이. 콜라이(*E. coli*) 플라스미드 col E1, pCR1, pBR322, pMB9 및 이들의 유도체, RP4와 같은 플라스미드; 파지 DNAs, 예를 들어 파지  $\lambda$ 의 많은 유도체, 예를 들어 NM989 및 기타 파지 DNA, 예를 들어 M13 및 섬유형 단일 가닥 파지 DNA; 효모 플라스미드, 예컨대 2  $\mu$  플라스미드 또는 그의 유도체; 진핵 세포에서 유용한 벡터, 예컨대 곤충 또는 포유동물 세포에서 유용한 벡터; 플라스미드 및 파지 DNA의 조합으로부터 유래된 벡터, 예컨대 파지 DNA 또는 다른 발현 제어 서열을 사용하도록 변형된 플라스미드 등을 포함한다.

[0070] 매우 다양한 발현 제어 서열 (작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열의 발현을 제어하는 서열) 중 임의의 서열을 이들 벡터에 사용하여 본원에서 제공된 폴리뉴클레오티드 서열을 발현시킬 수 있다. 그러한 유용한 발현 제어 서열은 예를 들어 SV40, CMV, 우두, 폴리오마 또는 아데노바이러스의 초기 또는 후기 프로모터, lac 시스템, trp 시스템, TAC 시스템, TRC 시스템, LTR 시스템, 파지  $\lambda$ 의 주요 오퍼레이터 및 프로모터 영역, fd 코트 단백질의 제어 영역, 3-포스포글리세레이트 키나제 또는 다른 당분해 효소의 프로모터, 산 포스파타제 (예를 들어, Pho5)의 프로모터, 효모  $\alpha$ -교배 인자의 프로모터, 및 원핵 또는 진핵 세포 또는 그의 바이러스의 유전자 발현을 제어하는 것으로 알려진 기타 서열, 및 이들의 다양한 조합을 포함한다.

[0071] 모든 벡터, 발현 제어 서열 및 숙주가 본원에 제공된 폴리뉴클레오티드 서열을 발현하기 위해 동등하게 잘 기능하는 것은 아니라는 것을 이해할 것이다. 또한, 모든 숙주가 동일한 발현 시스템으로 동등하게 잘 기능하는 것은 아니다. 그러나, 관련 기술 분야의 통상의 기술자는 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 원하는 발현을 달성하기 위해 과도한 실험을 수행하지 않고 적절한 벡터, 발현 제어 서열 및 숙주를 선택할 수 있을 것이다. 예를 들어, 벡터를 선택할 때, 숙주는 벡터가 그 안에서 기능을 수행해야 하기 때문에 숙주를 고려해야 한다. 벡터의 카피수, 카피수를 제어하는 능력 및 항생제 마커와 같은 벡터에 의해 코딩되는 임의의 다른 단백질의 발현도 고려될 것이다.

[0072] 발현 제어 서열을 선택할 때, 다양한 인자들이 일반적으로 고려될 것이다. 이들 인자는 예를 들어 시스템의 상대적인 강도, 그의 제어 가능성, 및 특히 잠재적인 2차 구조와 관련하여 발현되는 특정 뉴클레오티드 서열 또는 유전자와의 상용성을 포함한다. 적합한 단세포 숙주는 그의 선택된 벡터와의 상용성, 그의 분비 특성, 단백질을 정확하게 폴딩하는 그의 능력, 그의 발효 요건, 및 발현되는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩되는 생성물의 숙주에 대한 독성 및 발현 산물의 정제 용이성을 고려하여 선택될 것이다.

[0073] 발현 카세트를 제조할 때, 폴리뉴클레오티드 서열을 적절한 배향으로, 적절한 경우 적절한 판독 프레임으로 제공하기 위해 다양한 폴리뉴클레오티드를 조작할 수 있다. 이러한 목적으로, 어댑터 또는 링커를 사용하여 폴리뉴클레오티드를 연결할 수 있거나 또는 편리한 제한 부위, 불필요한 DNA의 제거, 제한 부위의 제거 등을 제공하기 위한 조작이 수반될 수 있다. 예를 들어, 2개의 글리신과 같은 링커가 폴리펩티드 사이에 부가될 수 있다. atg 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩되는 메티오닌 잔기는 유전자 전사의 개시를 허용하도록 부가될 수 있다. 이를 위해, 시험관내 돌연변이 유발, 프라이머 복구, 제한, 어닐링, 재치환, 예를 들어 염기전이 (transition) 및 염기전환 (transversion)이 포함될 수 있다.

[0074] 폴리펩티드의 생산을 허용하는 적절한 조건 하에 숙주 세포에서 본원에 개시된 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 발현시키고 그렇게 생산된 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함하는, 폴리펩티드의 제조 방법이 추가로 제공된다.

#### IV. 사용 방법

[0075] 면역 반응을 조절하기 위한 다양한 방법이 제공된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "조절"은 제시된 활성 또는 반응의 유도, 억제, 강화, 상승, 증가 또는 감소를 포함한다.

[0076] "대상체"는 포유동물, 예를 들어 영장류, 인간, 농경 및 가축 동물, 예컨대 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 등 (그러나 이로 제한되지 않음)을 의미한다. 한 실시양태에서, 본원에서 제공되는 제약 제제로 치료되는 대상체는 인간이다.

[0077] IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질의 "치료 유효량"은 원하는 생물학적 반응을 유도하기에 충분한 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단

백질의 양을 지칭한다. 관련 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 효과적인 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질의 절대량은 원하는 생물학적 종점, 전달되는 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질, 표적 세포 또는 조직 등과 같은 요인에 따라 상이할 수 있다. 관련 기술 분야의 통상의 기술자는 유효량이 단일 용량으로 투여될 수 있거나 또는 다중 용량 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 초과의 용량)의 투여에 의해 달성될 수 있음을 추가로 이해할 것이다.

[0079] i. 면역 반응을 증가시키는 방법

[0080] 대상체에서 면역 반응을 증가시키기 위한 다양한 방법이 제공된다. 상기 방법은 치료 유효량의 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질을 면역 반응의 증가를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 따라서, 특정 실시양태에서, 보다 많은 용량의 IL-2의 일시적인 적용은 면역 이팩터 및 기억 반응을 증가시키는데 사용된다.

[0081] 다양한 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질은 항원에 대한 면역 반응을 향상시키기 위해 항원과 조합하여 사용될 수 있음이 또한 인식된다. 따라서, IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질은 특히 세포 매개 면역 기억을 증가시키기 위한 백신 아주반트(adjuvant)로서 사용될 수 있다.

[0082] 예를 들어, IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질은 백신 제제를 향상시키는데 사용될 수 있다. 따라서, 다양한 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질은 항암 백신 또는 면역원성이 낮은 백신의 효능을 증가시키는데 유용하다. 추가로, (i) 치료 유효량의 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질을 대상체에 투여하고, (ii) 대상체에게 백신을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 백신의 효능 또는 면역원성을 향상시키거나, 또는 대상체에서 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 방법이 제공된다.

[0083] "백신"은 대상체에서 특정 면역 반응 (또는 면역원성 반응)을 자극하는데 유용한 조성물을 의미한다. 일부 실시양태에서, 면역원성 반응은 보호성이거나 또는 보호 면역을 제공한다. 예를 들어, 질병을 유발하는 유기체의 경우, 백신은 백신이 작용하는 유기체에 의한 감염 또는 질환 진행에 더 잘 저항할 수 있게 한다. 대안적으로, 암의 경우 백신은 이미 발생한 암에 대한 대상체의 자연 방어를 강화한다. 이러한 유형의 백신은 기존 암의 추가의 성장을 방지하고/하거나, 치료된 암의 재발을 방지하고/하거나, 이전 치료로 죽지 않은 암세포를 제거할 수 있다.

[0084] 대표적인 백신에는 디프테리아, 파상풍, 백일해, 소아마비, 홍역, 유행성 이하선염, 풍진, B형 간염에 대한 백신, 헤모필루스 인플루엔자에(*Haemophilus influenzae*) 타입 b, 수두, 수막염, 인간 면역 결핍 바이러스, 결핵, 엡스타인 바 (Epstein Barr) 바이러스, 말라리아, E형 간염, 뎅기열, 로타바이러스, 헤르페스, 인간 유두종 바이러스 및 암에 대한 백신을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 관심 백신은 암을 유발할 수 있는 바이러스 감염을 예방하기 위해 미국 식품의약국 (Food and Drug Administration)에서 허가한 다음과 같은 두 백신을 포함한다: 간암과 관련된 감염물질인 B형 간염 바이러스의 감염을 예방하는 B형 간염 백신 (MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 46:107-09, 1997); 및 전세계적으로 자궁경부암의 70%를 유발하는 두 종류의 인간 유두종 바이러스의 감염을 예방하는 가르다실(Gardasil)<sup>TM</sup> (Speck and Tyring, Skin Therapy Lett. 11:1-3, 2006). 다른 관심 치료 백신은 암, 자궁경부암, 여포성 B세포 비-호지킨 (Hodgkin) 림프종, 신장암, 피부 흑색종, 안구 흑색종, 전립선 암 및 다발성 골수종 치료용 백신을 포함한다.

[0085] 백신과 관련하여 "효능 향상" 또는 "면역원성 향상"은 예를 들어 보호 면역과 연관된 백신의 활성의 특정 파라미터의 증가 또는 감소와 같은 특정 값의 변화에 의해 측정된 결과의 개선을 의도한다. 한 실시양태에서, 향상은 특정 파라미터에서 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 증가를 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, 향상은 특정 파라미터에서 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 감소를 의미한다. 한 예에서, 백신의 효능/면역원성의 향상은 질환 진행을 억제 또는 치료하기 위한 백신의 능력 증가, 예를 들어 상기 목적을 위한 백신 효능의 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 또는 100% 초과의 증가를 의미한다. 추가의 예에서, 백신의 효능/면역원성의 향상은 백신이 이미 발병된 암에 대한 대상체의 천연 방어를 동원하는 능력의 증가, 예컨대 상기 목적을 위한 백신 효과의 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 증가를 의미한다.

[0086] 이와 유사하게, 백신과 관련하여 "억제된 면역 반응의 극복"은 예를 들어 보호 면역과 관련된 백신 활성의 특정 파라미터에서 이전에 양의 값으로 되돌아가는 것과 같은 특정 값의 변화에 의해 측정된, 결과의 개선을 의도한다. 한 실시양태에서, 극복은 특정 파라미터에서 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 증가를 지칭한다. 한 예에서, 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 것은 질환 진행을 억제 또는 치료하는 백신의 능력 회복, 예컨대 상기 목적을 위한 백신 효과의 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 회복을 의

미한다. 추가의 예에서, 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 것은 이미 발병한 암에 대한 대상체의 천연 방어를 동원하는 백신의 회복된 능력, 예컨대 상기 목적을 위한 백신 효과의 적어도 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 회복을 의미한다.

[0087] "치료 유효량"은 질환 또는 병태의 치료, 예방 또는 진단에 유용한 양을 의도한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 대상체에게 투여될 때 대상체에서 실질적인 세포독성 효과를 유발하지 않으면서 대상체에서 면역 반응을 조절하는 것과 같은 원하는 효과를 달성하기에 충분한 양이다. 상기 개괄된 바와 같이, 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 대상체에게 투여하여 면역 반응을 증가시키거나, 항원에 대한 면역 반응을 향상시키거나, 대상체에서 백신의 효능 또는 면역원성을 향상시키거나, 또는 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복할 수 있다. 상기 기능을 조절하는데 유용한 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 유효량은 치료되는 대상체, 질병의 중증도 및 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 투여 방식에 따라 결정될 것이다. 예시적인 용량은 성인당 약  $10^4$  내지 약  $10^7$  IU의 IL-2의 활성, 성인당 약  $10^4$  내지 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성, 성인당 약  $10^5$  내지 약  $10^6$  IU의 IL-2의 활성, 성인당 약  $10^6$  내지 약  $10^7$  IU의 IL-2의 활성을 포함한다. 다른 예에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 용량은 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 100배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 10배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 2배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 20배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 30배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 40배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 50배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 60배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 70배, 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 80배, 또는 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성 ± 90배이다. 비제한적인 특정 실시양태에서, 인간 IL-2 융합 단백질은 상기 투여량으로 투여된다.

[0088] 한 실시양태에서, 마우스 IL-2 융합 단백질에 대한 참조 표준은 이바이오사이언시스(eBiosciences)의 마우스 IL-2 (카탈로그 번호: 14-8021)이다. 간단히 설명하면, 이바이오사이언시스의 마우스 IL-2의 생물활성은 다음과 같다: CTL-L 세포 증식 검정으로 측정한 이 단백질의 ED50은 175 pg/mL 이하이다. 이것은  $5.7 \times 10^6$  단위/mg 이상인 특이적 활성을 대응한다.

[0089] 또 다른 실시양태에서, 인간 IL-2 융합 단백질에 대한 참조 표준은 인간 IL-2 약물 알데스류킨 (Aldesleukin) (프로류킨 (Proleukin))이다. 따라서, 본원에 개시된 IL-2 융합 단백질은 저용량 또는 고용량 IL-2 요법에 사용되는 IL-2 약물에 대한 융합 단백질과 직접 비교된다. 마우스 및 인간 IL-2에 대한 IL-2 활성은 동일한 검정을 사용하고, 단위/mg의 그의 활성을 유사하다. 인간 IL-2 약물, 즉 알데스류킨 (프로류킨)과 관련하여, IL-2의 양의 표준 척도는 기술적으로 고정된 양이 아니라, 생물학적 활성의 특정 검정, 즉 CTL-L 증식 검정에서 고정된 효과를 생성하는 양인 국제 단위 (IU)이다. 실제로, IL-2의 제조는 표준화되어 있고, 약물 중량과 국제 단위 사이의 전환이 있다. 1.1 mg의 IL-2는 1천8백만 IU (18 MIU로 약칭됨)이다.

[0090] 또한, 기능적 작용제의 적절한 용량은 조절되는 활성에 대한 활성제의 효능에 의존하는 것으로 이해된다. 이러한 적절한 용량은 본원에서 설명되는 검정을 사용하여 결정할 수 있다. 또한, 임의의 특정 동물 대상체에 대한 특정 용량 수준은 사용된 특정 화합물의 활성, 대상체의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로, 배출 속도 및/또는 임의의 약물 조합을 비롯한 다양한 인자에 좌우될 것으로 이해된다.

[0091] 투여가 치료 목적일 때, 투여는 예방 또는 치료 목적을 위한 것일 수 있다. 예방 차원에서 제공될 경우, 물질은 임의의 증상 전에 미리 제공된다. 물질의 예방 차원의 투여는 임의의 후속 증상을 예방하거나 약화시키는 역할을 한다. 치료 차원에서 제공될 때, 물질은 증상의 시작 시점에 (또는 그 직후에) 제공된다. 물질의 치료 차원의 투여는 임의의 실제 증상을 약화시키는 역할을 한다.

[0092] 통상의 기술자는 질환 또는 장애의 중증도, 이전의 치료, 대상체의 일반적인 건강 및/또는 연령, 및 존재하는 기타 질환을 포함하고 이로 제한되지 않는 특정 인자가 대상체를 효과적으로 치료하는데 필요한 투여량에 영향을 줄 수 있음을 인식할 것이다. 또한, 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질을 사용한 대상체의 치료는 단일 치료를 포함할 수 있거나, 바람직하게는 일련의 치료를 포함할 수 있다. 또한, 치료에 사용되는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 효과적인 투여량은 특정 치료 과정에 걸쳐 증가 또는 감소할 수 있음을 이해할 것이다. 투여량의 변화는 본원에 설명되는 바와 같은 진단 검정의 결과로 나타나고 명백해질 수 있다.

[0093] IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효량은 동물 연구에 의해 결정될 수 있다. 동물 검정을 사용할 때, 동물 검정에서 효과가 있는 것으로 밝혀진 것과 유사한 표적 생체내 농도를 제공하기 위한 투여량을 투여한다.

[0094] *ii. 면역 반응을 감소시키는 방법*

- [0095] 대상체에서 면역 반응을 감소시키기 위한 다양한 방법이 제공된다. 상기 방법은 면역 반응의 감소를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질을 투여하는 것을 포함한다.
- [0096] 불필요한 면역 반응을 억제하기 위해 Treg의 억제력을 활용하는 데 많은 관심이 있다. 마우스 및 인간의 데이터는 저용량의 IL-2를 사용한 IL-2R 신호전달의 향상은 Treg를 선택적으로 증가시키고 면역 관용 메카니즘을 향상시킨다는 것을 보여준다. 본원에서 제공되는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 Treg를 보다 효과적으로 향상시키는 IL-2의 신규하고 개선된 형태를 나타낸다. 따라서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 자가면역 질환, 만성 이식 편 대 숙주 질환, 이식 거부 반응 및 자가 반응성을 억제하는 것이 목적인 다른 병태를 가진 환자에게 투여될 수 있다.
- [0097] 예를 들어, 면역 관용을 촉진하는 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 예를 들어 이식편 거부 및 알레르기를 포함하고 이로 제한되지 않는 자가면역 질환 또는 염증성 장애를 갖는 대상체의 치료시에 유용할 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 자가면역 또는 염증성 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 그러한 방법은 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0098] 치료 또는 예방될 수 있는 자가면역 장애의 비-제한적인 예는 제1형 당뇨병, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 복강 질환, 전신 홍반성 루푸스, 소아 특발성 관절염, 크론병, 궤양성 결장염 또는 전신 경화증, 이식편 대 숙주 질환, HCV-유발 혈관염, 원형 탈모증 또는 건선을 포함한다.
- [0099] 추가의 자가면역 질환은 Treg가 손상될 수 있고 Treg의 IL-2 의존성 증가로부터 이익을 얻을 것이라는 징후가 이미 존재하는 질환을 포함한다. 이와 관련하여, IL-2, IL-2R $\alpha$  또는 IL-2R 13의 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)은 제1형 당뇨병, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 복강 질환, 전신 홍반성 루푸스, 소아 특발성 관절염, 크론병, 궤양성 결장염 및 전신 경화증에 대한 유전적 위험으로서 연관되었다. 연구는 유전적 위험이 손상된 Treg 수 및/또는 활성과 관련됨을 시사한다. 또한, 저용량 IL-2 요법은 만성 GVHD 및 HCV-유도된 혈관염 환자에게 도움이 되는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 그러한 환자 집단은 또한 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질을 투여받을 수 있다.
- [0100] 다른 실시양태에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 치료제 (즉, 단백질)에 대한 면역 반응을 감소시키기 위해 상기 치료제와 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 대상체에게 만성적으로 투여되어야 하는 치료용 단백질과 조합하여 사용될 수 있다. 따라서, 특정 실시양태에서, 상기 방법은 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질과 조합하여 적어도 하나의 추가의 치료제를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 이러한 치료제는 시토카인, 글루코코르티코이드, 안트라사이클린 (예컨대, 독소루비신 또는 에피루비신), 플루오로퀴놀론 (예를 들어, 시프로플록사신), 항염산제 (예를 들어, 메토트렉세이트), 항대사물질 (예를 들어, 플루오로우라실), 토포이소머라제 억제제 (예를 들어, 캄토테신, 이리노테칸 또는 에토포시드), 알킬화제 (예를 들어, 시클로포스파미드, 이포스파미드, 미토락톨 또는 멜팔란), 항안드로겐 (예를 들어, 플루타미드), 항에스트로겐 (예를 들어, 타목시펜), 백금 화합물 (예를 들어, 시스플라틴), 빈카 알칼로이드 (예를 들어, 비노렐빈, 빈블라스틴 또는 빈데신) 또는 유사분열 억제제 (예를 들어, 파클리탁셀 또는 도세탁셀)를 포함하고 이로 제한되지 않는다.
- [0101] 또한, 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 Treg 및 관용성을 증가시키기 위해 조합 요법으로 투여될 수 있다. 이러한 조합 요법은 항-TNF $\alpha$  또는 염증 반응을 억제하기 위한 다른 작용제와 조합된 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질을 포함할 수 있다.
- [0102] 면역 반응을 감소시키는데 유용한 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효량은 치료되는 대상체, 질환의 중증도 및 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 투여 방식에 따라 결정될 것이다. 예시적인 용량은 성인당 약  $10^3$  IU 내지 약  $10^6$  IU의 IL-2 활성 또는 성인당 약  $10^4$  IU 내지 약  $10^6$  IU의 IL-2 활성을 포함한다. 예시적인 용량은 성인당 약  $10^3$  내지 약  $10^6$  IU의 IL-2의 활성, 성인당 약  $10^3$  내지 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성, 성인당 약  $10^4$  내지 약  $10^6$  IU의 IL-2의 활성, 성인당 약  $10^4$  내지 약  $10^5$  IU의 IL-2의 활성, 또는 성인당 약  $10^5$  내지 약  $10^6$  IU의 IL-2의 활성을 포함한다. 다른 예에서, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효 용량은 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 100배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 10배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 2배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 20배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 30배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 40배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 50배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 60배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 70배, 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 80배, 또는 약  $10^4$  IU의 IL-2의 활성 ± 90배이다. 비-제한적인 특정 실시양태에서, 인간 IL-2 융합 단백질은 상기 투여량으로 투

여된다.

[0103] 한 실시양태에서, 마우스 IL-2 융합 단백질에 대한 참조 표준은 이바이오사이언시스의 마우스 IL-2 (카탈로그 번호: 14-8021)이다. 간단히 설명하면, 이바이오사이언시스의 마우스 IL-2의 생물활성은 다음과 같다: CTLL-2 세포 증식 검정으로 측정한 이 단백질의 ED50은 175 pg/mL 이하이다. 이것은  $5.7 \times 10^6$  단위/mg 이상의 특이적 활성에 대응한다.

[0104] 또 다른 실시양태에서, 인간 IL-2 융합 단백질에 대한 참조 표준은 인간 IL-2 약물 알데스류킨 (프로류킨)이다. 따라서, 본원에 개시된 IL-2 융합 단백질은 저용량 또는 고용량 IL-2 요법에 사용되는 IL-2 약물에 대한 융합 단백질과 직접 비교된다. 마우스 및 인간 IL-2에 대한 IL-2 활성은 동일한 검정을 사용하고, 단위/mg의 그의 활성은 유사하다. 인간 IL-2 약물, 즉 알데스류킨 (프로류킨)과 관련하여, IL-2의 양의 표준 척도는 기술적으로 고정된 양이 아니라, 생물학적 활성의 특정 검정, 즉 CTLL 증식 검정에서 고정된 효과를 생성하는 양인 국제 단위 (IU)이다. 실제로, IL-2의 제조는 표준화되어 있고, 약물 중량과 국제 단위 사이의 전환이 있다. 1.1 mg의 IL-2는 1천8백만 IU (18 MIU로 약칭됨)이다.

[0105] 또한, 기능적 작용제의 적절한 용량은 조절되는 발현 또는 활성에 대한 활성제의 효능에 의존하는 것으로 이해된다. 이러한 적절한 용량은 본원에서 설명되는 검정을 사용하여 결정할 수 있다. 또한, 임의의 특정 동물 대상체에 대한 특정 용량 수준은 사용된 특정 화합물의 활성, 대상체의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로, 배출 속도 및/또는 임의의 약물 조합을 비롯한 다양한 인자에 좌우될 것으로 이해된다.

[0106] 투여가 치료 목적일 때, 투여는 예방 또는 치료 목적을 위한 것일 수 있다. 예방 차원에서 제공될 경우, 물질은 임의의 증상 전에 미리 제공된다. 물질의 예방 차원의 투여는 임의의 후속 증상을 예방하거나 약화시키는 역할을 한다. 치료 차원에서 제공될 때, 물질은 증상의 시작 시점에 (또는 그 직후에) 제공된다. 물질의 치료 차원의 투여는 임의의 실제 증상을 약화시키는 역할을 한다.

[0107] 통상의 기술자는 질환 또는 장애의 중증도, 이전의 치료, 대상체의 일반적인 건강 및/또는 연령, 및 존재하는 기타 질환을 포함하고 이로 제한되지 않는 특정 인자가 대상체를 효과적으로 치료하는데 필요한 투여량에 영향을 줄 수 있음을 인식할 것이다. 또한, 치료 유효량의 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질을 사용한 대상체의 치료는 단일 치료를 포함할 수 있거나, 바람직하게는 일련의 치료를 포함할 수 있다. 또한, 치료에 사용되는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 효과적인 투여량은 특정 치료 과정에 걸쳐 증가 또는 감소할 수 있음을 이해할 것이다. 투여량의 변화는 본원에 설명되는 바와 같은 진단 검정의 결과로 나타나고 명백해질 수 있다.

[0108] IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 치료 유효량은 동물 연구에 의해 결정될 수 있다. 동물 검정을 사용할 때, 동물 검정에서 효과가 있는 것으로 밝혀진 것과 유사한 표적 조직 농도를 제공하기 위한 투여량을 투여한다.

### iii. 제약 조성물

[0110] 본원에 개시된 다양한 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 (본원에서 "활성 화합물"이라고도 함)은 투여에 적합한 제약 조성물에 혼입될 수 있다. 이러한 조성물은 전형적으로 융합 단백질 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "제약상 허용되는 담체"는 제약 투여에 적합한 임의의 모든 용매, 분산매, 코팅제, 항박테리아 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제 등을 포함하고자 의도된다. 제약 활성 물질에 대한 상기 매질 및 작용제의 사용은 관련 기술 분야에 잘 알려져 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 상용성이 아닌 경우를 제외하고, 조성물에서 그의 사용이 고려된다. 보충 활성 화합물도 조성물에 혼입될 수 있다.

[0111] 본 발명의 제약 조성물은 의도된 투여 경로와 적합하도록 제제화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예컨대 정맥내, 피내, 피하, 구강 (예를 들어, 흡입), 경피 (국소) 및 경점막을 포함한다. 또한, 치료 유효량의 제약 조성물을 치료가 필요한 영역에 국소 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 이것은 예를 들어, 수술 동안 국소 또는 국부 주입 또는 관류, 국소 적용, 주사, 카테테르, 쪽약 또는 임플란트 (예를 들어, 막, 예컨대 실라스틱 막 또는 섬유를 포함하는 다공성, 비-다공성 또는 젤라틴 물질로 형성된 임플란트) 등에 의해 달성될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 치료 유효량의 제약 조성물은 소포, 예를 들어 리포솜으로 전달된다 (문헌 [Langer, Science 249:1527-33, 1990] 및 [Treat et al., Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein and Fidler (eds.), Liss, N.Y., pp. 353-65, 1989] 참조).

[0112] 또 다른 실시양태에서, 제약 조성물의 치료 유효량은 제어 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 한 예에서, 펌프가 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Langer, Science 249:1527-33, 1990], [Sefton, Crit. Rev. Biomed.

Eng. 14:201-40, 1987], [Buchwald et al., Surgery 88:507-16, 1980]; [Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574-79, 1989] 참조). 또 다른 예에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Levy et al., Science 228:190-92, 1985], [During et al., Ann. Neurol. 25:351-56, 1989]; [Howard et al., J. Neurosurg. 71:105-12, 1989] 참조). 문헌 [Langer (Science 249:1527-33, 1990)]에 의해 논의된 것과 같은 다른 제어 방출 시스템도 사용될 수 있다.

[0113] 비경구, 피내 또는 피하 적용에 사용되는 용액 또는 혼탁액은 다음 성분을 포함할 수 있다: 주사용수, 염수 용액, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매와 같은 멸균 희석제; 항박테리아제, 예컨대 벤질 알콜 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 예컨대 아스코르브산 또는 아황산수소나트륨; 에틸렌디아민테트라아세트산과 같은 퀼레이팅제; 완충제, 예컨대 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트 및 장성 조절제, 예컨대 염화나트륨 또는 텍스트로스. pH는 염산 또는 수산화나트륨과 같은 산 또는 염기로 조절할 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기 또는 유리 또는 플라스틱으로 제조된 다중 투여 바이알에 넣을 수 있다.

[0114] 주사가능한 용도에 적합한 제약 조성물은 멸균 수용액 (수용성인 경우) 또는 분산액 및 멸균 주사가능 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여를 위해, 적합한 담체는 생리 염수, 정균수, 크레모포르 (Cremophor) EL (巴斯프 (BASF), 미국 뉴저지주 파르시파니), 또는 인산염 완충 염수 (PBS)를 포함한다. 모든 경우에, 조성물은 멸균되어야 하고, 용이한 주사가 가능할 정도로 유동성이어야 한다. 그것은 제조 및 저장 조건 하에서 안정해야 하고, 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 담체는 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 이들의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산매일 수 있다. 적절한 유동성은 예를 들어 레시틴과 같은 코팅의 사용, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 방지는 다양한 항박테리아 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에, 등장성 물질, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 염화나트륨을 조성물에 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사가능한 조성물의 장기 흡수는 조성물에 흡수 지연제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써 유도할 수 있다.

[0115] 멸균 주사가능 용액은 필요에 따라 적절한 용매 내의 필요한 양의 활성 화합물을 상기 열거된 성분 중의 하나 또는 조합물과 혼합한 후, 멸균 여과함으로써 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 염기성 분산 매질 및 상기 열거된 것들 중 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비허클에 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사가능 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 진공 건조 및 동결 건조이고, 이것은 활성 성분 + 그의 이전에 멸균 여과된 용액으로부터 임의의 추가의 원하는 성분의 분말을 생성한다.

[0116] 흡입에 의한 투여를 위해, 화합물은 적합한 추진제, 예를 들어 이산화탄소와 같은 기체 또는 분무기를 함유하는 가압 용기 또는 분배기로부터 에어로졸 스프레이의 형태로 전달된다.

[0117] 전신 투여는 또한 경점막 또는 경피 수단에 의해 실시될 수 있다. 경점막 또는 경피 투여의 경우, 침투되는 장벽에 적절한 침투제가 제제에 사용된다. 이러한 침투제는 관련 기술 분야에 일반적으로 알려져 있고, 예를 들어, 경점막 투여를 위해, 세제, 담즙염 및 푸시드산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비강 스프레이 또는 좌약의 사용을 통해 수행될 수 있다. 경피 투여를 위해, 활성 화합물은 관련 기술 분야에 일반적으로 공지된 바와 같이 연고, 고약, 젤 또는 크림으로 제제화된다. 화합물은 또한 직장 전달을 위한 좌약 (예를 들어, 코코아 버터 및 기타 글리세리드와 같은 통상의 좌약 기체를 사용) 또는 정체 관장제의 형태로 제조될 수 있다.

[0118] 한 실시양태에서, 활성 화합물은 임플란트 및 미세캡슐화 전달 시스템을 포함하는 제어 방출 제제와 같은, 신체로부터의 신속한 제거로부터 화합물을 보호하는 담체로 제조된다. 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안히드라이드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산과 같은 생분해성 생체적합성 중합체가 사용될 수 있다. 이러한 제제의 제조 방법은 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 상기 물질은 또한 알자 코포레이션 (Alza Corporation) 및 노바 파마슈티칼스, 인크. (Nova Pharmaceuticals, Inc.)로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 리포솜 혼탁액 (감염된 세포를 바이러스성 항원에 대한 모노클로날 항체로 표적화하는 리포솜을 포함)도 제약상 허용되는 담체로 사용할 수 있다. 이들은 예를 들어 미국 특허 번호 4,522,811에 기재된 바와 같이, 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0119] 투여 용이성 및 용량의 균일성을 위해 단위 투여 형태로 경구 또는 비경구 조성물을 제제화하는 것이 특히 유용하다. 본원에서 사용된 단위 투여 형태는 요구되는 제약 담체와 함께 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 함유하는 각각의 단위로 대상체를 치료하기 위한 단일 용량으로서 적합한 물리

적으로 별개의 단위를 의미한다. 본 발명의 단위 투여 형태에 대한 내역은 활성 화합물의 독특한 특성 및 달성되어야 할 특정 치료 효과, 및 개체의 치료를 위한 상기 기능적 화합물을 배합하는 기술에 내재된 한계에 의해 결정되고 이에 직접 의존한다.

[0120] 제약 조성물은 투여 설명서와 함께 용기, 꽂 또는 분배기에 포함될 수 있다.

*iv. 키트*

[0122] 본원에서 사용되는 바와 같이, "키트"는 본원의 다른 곳에서 설명되는 바와 같이, 면역 반응을 조절하는데 사용하기 위한 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질을 포함한다. 본원에 사용되는 용어 "키트" 및 "시스템"은 특정 실시양태에서 하나 이상의 다른 유형의 요소 또는 성분 (예를 들어, 다른 유형의 생화학적 시약, 용기, 패키지, 예컨대 상업적 판매를 목적으로 포장, 사용 설명서 등)과 조합된 적어도 하나 이상의 IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질을 지칭하는 것으로 의도된다.

*v. 서열 동일성*

[0124] 상기한 바와 같이, IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질의 다양한 성분을 포함하는, IL-2/IL-2R  $\alpha$  융합 단백질의 활성 변이체 및 단편 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 상기 성분은 IL-2, IL-2R  $\alpha$ 의 세포외 도메인, 링커 서열 또는 코작 서열을 포함한다. 융합 단백질의 활성 변이체 또는 단편 또는 융합 단백질의 제시된 성분에 의해 보유된 활성은 본원의 다른 곳에서 보다 상세히 논의된다.

[0125] 이러한 변이체는 제시된 참조 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 단편은 제시된 참조 뉴클레오티드 서열의 적어도 10, 20, 30, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000개의 연속 뉴클레오티드 또는 제시된 뉴클레오티드 참조 서열의 전체 길이를 포함할 수 있거나; 또는 단편은 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200개의 연속 아미노산 또는 제시된 참조 폴리펩티드 서열의 전체 길이를 포함할 수 있다.

[0126] 본원에서 사용되는 바와 같이, 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열의 측면에서 "서열 동일성" 또는 "동일성"은 특정 비교 윈도우에 걸쳐 최대 일치를 위해 정렬될 때 동일한 두 서열 내의 잔기를 지칭한다. 단백질과 관련하여 서열 동일성의 백분율이 사용되는 경우, 동일하지 않은 잔기 위치는 종종 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성 (예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환되고, 따라서 분자의 기능적 특성을 변경하지 않는 보존적 아미노산 치환에 의해 상이하다는 것이 인식된다. 서열이 보존적 치환에 의해 상이할 때, 서열 동일성 비율은 치환의 보존적 특성을 보정하기 위해 상향 조정될 수 있다. 상기 보존적 치환에 의해 다른 서열은 "서열 유사성" 또는 "유사성"을 갖는다고 언급된다. 이러한 조정을 수행하기 위한 수단은 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 잘 알려져 있다. 전형적으로, 이것은 보존적 치환을 완전한 불일치가 아닌 부분적 불일치로 평가하여, 서열 동일성 백분율을 증가시키는 것을 포함한다. 따라서, 예를 들어 동일한 아미노산에 점수 1을 부여하고 비-보존적 치환에 점수 0을 부여하는 경우, 보존적 치환에는 0과 1 사이의 점수가 부여된다. 보존적 치환의 점수 산정은 프로그램 PC/GENE (인텔리제네틱스 (Intelligenetics), 미국 캘리포니아주 마운틴 뷰)에서 실행되는 바와 같이 계산된다.

[0127] 본원에서 사용되는 "서열 동일성의 백분율"은 비교 윈도우에 걸쳐 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 결정된 값을 의미하고, 여기서 비교 윈도우 내의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부는 두 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열 (부가 또는 결실을 포함하지 않는)에 의해 부가 또는 결실 (즉, 갭)을 포함할 수 있다. 백분율은 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 두 서열에서 발생하는 위치의 수를 결정하여 일치된 위치의 수를 산출하고, 일치된 위치의 수를 비교 윈도우 내의 위치의 총수로 나누고, 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다.

[0128] 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 제시되는 서열 동일성/유사성 값은 갭 가중치 50 및 길이 가중치 3, 및 nwsgapdna.cmp 스코어링 매트릭스를 사용하는, 뉴클레오티드 서열에 대한 % 동일성 및 % 유사성; 갭 가중치 8 및 길이 가중치 2, 및 BLOSUM62 스코어링 매트릭스를 사용하는, 아미노산 서열에 대한 % 동일성 및 % 유사성의 파라미터를 사용하는 GAP 버전 10; 또는 이와 동등한 프로그램을 사용하여 수득된 값을 나타낸다. "동등한 프로그램"은 비교되는 임의의 두 서열에 대해 GAP 버전 10에 의해 생성된 대응하는 정렬에 의해 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기 일치 및 동일한 서열 동일성 %를 갖는 정렬을 생성하는 임의의 서열 비교 프로그램을 의미한다.

[0129] 본원에서 사용되는 바와 같이, 단수의 용어는 문맥이 달리 나타내지 않는 한 복수의 대상을 포함한다. 유사하

게, 단어 "또는"은 문맥에 달리 나타내지 않는 한 "및"을 포함하도록 의도된다. 핵산 또는 폴리펩티드에 대해 제시된 모든 염기 크기 또는 아미노산 크기, 및 모든 분자량 또는 분자 질량 값은 근사치이고, 설명을 위해 제시되는 것으로 이해하여야 한다.

[0130] 본 발명의 대상은 다음의 비-제한적인 실시예에 의해 추가로 설명된다.

[0131] 실험

[0132] IL-2는 암 및 HIV/AIDS 환자에서 면역 반응을 증가시키기 위한 시도에서 사용된 생물제제이다. 보다 최근에, IL-2의 훨씬 더 낮은 용량이 자가면역과 같은 자가 조직의 공격과 관련된 원치 않는 면역 반응을 억제하기 위해 관용성을 선택적으로 증가시키기 위해 사용되어 왔다. 중요하게는, 상기 IL-2의 저용량은 자가반응성 T 세포의 증강 또는 재활성화의 징후를 보이지 않았다. 그럼에도 불구하고, IL-2는 효능을 제한하는 생체내에서의 매우 짧은 반감기 및 고용량에서의 독성을 포함하는, 치료제로서 중요한 결점을 갖는다. 이러한 이유로, IL-2의 새로운 생물제제는 1) 조절 T 세포 (Treg) 및 면역 관용성을 증가시키는 저용량 IL-2 기반 요법에서 및 2) 면역 반응 및 기억력을 높이기 위해 더 많은 용량을 투여하는 보조 요법에서 그의 약동학 및 반응 지속성을 향상시키기 위한 목적으로 생산되었다. 이러한 목적을 달성하기 위해, IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질이 개발되었고, 이 융합체는 생체내에서 IL-2R 보유 림프구의 지속적인 IL-2 자극을 증가시킴으로써 IL-2 이용가능성을 증가시키도록 설계되었다. 이러한 융합체는 다음과 같이 조작된 단백질로 이루어진다 (도 1): 1) 효율적인 번역을 위해 최적화된 코작 서열을 함유하는 IL-2의 리더 서열; 2) IL-2의 전장 서열; 3) 가변 길이의 글리신 또는 글리신/세린 링커 서열; 4) IL-2R $\alpha$ 의 발현된 세포의 도메인의 코딩 서열; 5) 2개 아미노산의 글리신 스페이서; 6) 정제를 위한 6개 아미노산의 폴리-히스티딘 영역; 및 7) 2개의 종결 코돈. 이들 마우스 및 인간 cDNA로부터 예측되는 단백질 서열은 각각 도 2A 및 도 2B에서 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)/IL-2R $\alpha$  융합 단백질에 대해 제시된다. 이들 cDNA를 pC1neo 발현 벡터에 클로닝하고, COS7 세포에서 이들 융합 단백질의 발현을 위해 사용하였다. 배양 상청액의 분석은 각각의 마우스 융합 단백질이 시험관내에서 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  융합 단백질과 관련된 최적 활성과 함께 IL-2 생물활성을 보임을 나타내었다 (도 3A). 따라서, 이 생물 검정에 항-IL-2를 포함시키면 중식을 완전히 억제하였다 (도 3B). CHO 세포에서 발현 후 더 많은 양의 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  및 IL-2/(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>4</sub>/IL-2R $\alpha$ 를 제조하고, 융합 단백질의 6x His 태그의 고정된 니켈에 대한 결합을 통해 친화성 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 마우스 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 두 융합 단백질이 IL-2R $\alpha$ 를 발현하는 세포에 대한 2개의 항-IL2R $\alpha$  항체 (PC61 및 7D4)의 결합을 유사하게 억제함에도 불구하고 (도 4B) IL-2/(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>4</sub>/IL-2R $\alpha$  보다 큰 IL-2 생물활성을 보였고 (도 4A), 이것은 보다 큰 IL-2 활성이 이전의 융합 단백질과 관련된다는 것을 확인해 준다. PC61 및 7D4의 결합 억제는 또한 융합 단백질의 IL-2R $\alpha$  부분이 이들 항체를 결합시키기에 충분한 3차 구조를 유지함을 나타낸다. 그러나, 이들 융합 단백질은 IL-2R $\alpha$ 를 발현하는 세포에 대한, IL-2R $\alpha$ 의 IL-2 결합 부위에 대해 작용하는 모노클로날 항체 (3C7)의 결합을 억제하지 않았다. 이 결과는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 내의 IL-2가 공간적으로 IL-2R $\alpha$ 의 결합 부위 근처에 존재한다는 것을 의미한다 (도 5). 이들 융합 단백질의 웨스턴 블로트 분석은 IL-2/IL-2R $\alpha$ 가 비-환원 조건 하에서 다소 더 빠른 이동성을 갖고 55-65 kDa이고, 가용성 IL-2R $\alpha$ 에서 관찰된 것보다 약 15 kDa 더 크다는 것을 보여주었다 (도 6A). 따라서, SDS-PAGE에 의한 정제된 마우스 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$ 의 직접 분석은 이질성 55-65 kDa 단량체 단백질과 일치하고 (도 6B), 이것은 IL-2 (15 kDa) 및 IL-2R $\alpha$  (40-50 kDa) 융합 분자에 대해 예상된 크기이고, IL-2R $\alpha$ 는 광범위한 가변적인 글리코실화로 인한 크기 이질성을 나타낸다 (Malek and Korty, J. Immunol. 136:4092-4098, 1986) (도 6). IL-2 의존 신호전달의 즉각적인 결과는 STAT5의 티로신 인산화 (pSTAT5)이다. 마우스 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$ 로 마우스를 처리하면, 치료 30분 후에 Treg에서 pSTAT5가 광범위하고 선택적으로 활성화되었다 (도 7). 용량-반응 연구는 마우스 IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$ 가 생체내에서 Treg의 많은 주요 활성에 영향을 미침을 보여주었다 (도 8). Treg에 대한 상기 효과는 다음을 포함한다: CD4 $^+$  T 세포 구획에서 Treg의 증가된 제시 (도 8A) 및 수 (도시하지 않음); IL-2 의존성 CD25의 상향조절 (도 8B); 증식 마커 Ki67의 발현에 의해 평가된 증식 증가 (도 8C); 및 IL-2 의존성 최종 분화 Klrg1 $^+$  Treg 하위세트의 증가된 분획 (도 8D). 이러한 효과는 비-비만 당뇨병 (NOD) 마우스의 비장 및 염증 체장에서 Treg에 대해 가장 두드러졌다. 표준 CTLIL-2 생물 검정에서 측정된, IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  와 연관된 1000 단위의 IL-2 활성은 Treg에 대해 더 낮지만 쉽게 측정가능한 효과를 나타내었다 (도 8). IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$  (2000 단위의 IL-2 활성)로 처리된 C57/BL6 마우스를 재조합 IL-2 (25,000 단위) 또는 IL-2/항-IL-2 (IL2/IC)의 효능제 복합체 (10,000 단위의

IL-2 활성)를 투여한 마우스와 비교하였다 (도 9). IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$ 는 재조합 IL-2보다 훨씬 더 효과적이고, Treg 및 지속적인 특성의 지속적인 증가 유도에 있어서 IL2/IC보다 약간 더 효과적이었다 (도 9). 면역관용성 Treg의 이러한 증가는 각각 IL2/IC 및 재조합 IL-2에 비해 5배 및 12.5배 더 낮은 수준의 IL-2 활성에서 나타났다. 생체 외에서 직접 Treg 내의 pSTAT5의 IL-2 의존성 활성화를 고려할 때 (도 9), 이들 데이터는 IL-2/IL-2R $\alpha$ 에 대해 약 72시간의 생물학적 반감기를 제시한다. 당뇨병 전증 NOD 마우스는 소량의 IL-2/IL-2R $\alpha$ 로 짧은 치료 과정을 거쳤다 (도 10). 당뇨병 발병 지연이 IL-2/IL-2R $\alpha$ 와 연관된 800U의 IL-2 활성으로 처리된 마우스에서 관찰되었다. 면역에 대하여, IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$ 의 단일 고용량 (12,000 U의 IL-2 활성)의 적용은 CD8 $^{+}$  T 세포 반응을, 특히 수명이 긴 기억 세포에서 실질적으로 증가시켰다 (도 11). 면역화 후 초기에는 (제28일), CD44<sup>hi</sup> CD62L<sup>lo</sup> CD127<sup>hi</sup> 이펙터-기억 (EM) 세포가 기억 풀에서 우세하였지만; 시간이 경과함에 따라 CD44<sup>hi</sup> CD62L<sup>hi</sup> CD127<sup>hi</sup> 중앙 기억 (CM) 세포가 증가하고, CM 세포는 면역화 2백2일 후에 기억 풀에서 우세하였다 (도 12). 따라서, IL-2/(Gly<sub>3</sub>Ser)<sub>3</sub>/IL-2R $\alpha$ 는 T 이펙터/기억 반응의 증가를 통해 면역관용성 및 면역 억제성 Treg 및 면역성을 증가시키기 위해 재조합 IL-2와 유사한 방식으로 기능하지만, 1) IL-2 활성의 보다 낮은 유효 수준에서; 2) 보다 지속적인 생물학적 반응으로; 3) T 이펙터/기억 세포보다 더 낮은 용량에서 반응성인 Treg를 갖는 계층을 유지하면서 상기 반응을 전달함으로써 개선된 약동학을 보인다. 이러한 발견은 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질이, 적절한 용량 및 요법으로 투여될 때 면역 관용성 또는 면역 기억을 선택적으로 증가시키기 위해 IL-2 활성을 전달하는 개선되고 새로운 종류의 약물을 나타낸다는 것을 지지한다.

[0133]

인간 IL-2 및 인간 IL-2R $\alpha$ 를 포함하는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질도 생성되었다 (도 1, 도 2B). 이들 cDNA는 CHO 세포에서 발현되었고, 분비된 융합 단백질은 6x-His 태그 기반 니켈 친화성 크로마토그래피로 정제되었다. 융합 단백질은 마우스 IL-2/IL-2R $\alpha$ 에 사용된 것과 유사한 방식으로 글리신/세린 링커의 길이가 다양하였다. 4 개의 생성된 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 모두 마우스 CTLR 검정을 사용할 때 IL-2 생물활성을 보였다 (도 13A). 웨스턴 블로트 분석은 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$ 가 또한 55-60 kDa 사이의 이종성 밴드를 나타냄을 보여주었고 (도 13B), 이것은 IL-2R $\alpha$ 에 연결된 IL-2에 대해 예상된 고도로 글리코실화된 분자와 일치하였다. (G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub> 및 특히 (G<sub>4</sub>S)<sub>4</sub> 링커를 갖는 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질은 동등한 양의 IL-2 활성이 각각의 레인에 로딩된 경우에도 보다 적은 단백질이 관찰되기 때문에 더 큰 활성을 가질 수 있다 (도 13B). 인간 IL-2R $\alpha$ 를 보유하는 세포에 대한 항-IL-2R $\alpha$  모노클로날 항체인 M-A257 및 BC96의 결합을 억제하는 융합 단백질의 능력은 융합 단백질의 IL-2R $\alpha$ 가 이들 항체에 결합하기에 충분한 3차 구조를 유지함을 나타낸다 (도 14). 그러나, 이들 융합 단백질은 IL-2R $\alpha$ 의 IL-2 결합 부위에 대해 작용하는 모노클로날 항체 (BC96)의 결합을 부분적으로만 억제하고, 이것은 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질 내의 IL-2가 IL-2R $\alpha$ 의 결합 부위 근처에 공간적으로 존재함을 시사한다. 또한, 본 발명자들은 (G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub> 링커를 함유하는 마우스 및 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 특이적 활성이 1 단위/m<sup>1</sup>의 IL-2 생물활성에 대해 각각 80 및 2000 pM인 것으로 추정하였다. 이 값은 1 단위/m<sup>1</sup>에서 10 pM인 재조합 IL-2의 활성보다 훨씬 더 높다. 인간 및 마우스 IL-2/IL-2R $\alpha$  사이의 별개의 활성은 적어도 부분적으로는, 마우스 융합 단백질 또는 마우스 및 인간 재조합 IL-2 (제시되지 않음)에 비해 생물 검정에서 마우스 CTLR 세포의 증식을 지지하는 인간 융합 단백질의 상대적인 비효율성에 의해 설명된다. 이러한 상대적으로 낮은 특이적 활성 및 항체 차단 결과 (도 5 및 도 12)는 IL-2R을 보유한 세포를 자극하기 위해 융합 단백질 내의 IL-2의 양을 제한하는, 융합 단백질의 구조에서 IL-2와 IL-2R $\alpha$  사이에 특이적 분자내 상호작용이 존재할 가능성을 제기하였다. 이 개념을 직접 시험하기 위하여, 인간 IL-2R $\alpha$ 의 IL-2 결합 부위 내의 2개의 아르기닌 잔기 (문헌 [Robb et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5654-5658, 1988] 참조)를 트레오닌 및 세린으로 돌연변이시켰다. 본 발명자들은 이들 돌연변이체 IL-2R 융합 단백질과 관련된 훨씬 더 큰 생물활성을 검출하였고 (도 15); 돌연변이된 IL-2/IL-2R $\alpha$  융합 단백질의 특이적 활성은 1 유닛/m<sup>1</sup>의 IL-2 활성에 대해 약 5 pM로 추정되었고, 이것은 재조합 IL-2와 매우 유사한 값이다. 따라서, 이들 데이터는 인간 IL-2/IL-2R $\alpha$ 가 생물학적으로 활성이고, 이러한 융합 단백질에서 연장된 IL-2 활성을 설명하는 하나의 특정 작용 메카니즘은 IL-2 모이어티와 융합 단백질의 IL-2R $\alpha$ 의 IL-2 결합 영역과 및 IL-2R을 발현하는 세포와의 경쟁적 상호작용을 통한 것임을 나타낸다.

[0134]

&lt;표 1&gt; 서열의 요약

SEQ ID NO	AA/ NT	공급 원	설명	
1	AA	인간	IL-2-비 프로세싱된 형태	진뱅크 Acc. No. AAB46883 IL-2 myrmqlsci alsalavtns aptssstkk tqlqlehlld lqmlinginn yknkptitrlfkympkka telkhlcle eelkpleevl nlaqsknfhl rprdlisniv vivelksgtfcyeadatefinr witfcqsis tit
2	AA	인간	IL-2-성숙 형태	진뱅크 AAB46883 (처음 20 개 aa 제거됨) aptssstkk tqlqlehlld lqmlinginn yknkptitrlfkympkka telkhlcle eelkpleevl nlaqsknfhl rprdlisniv vivelksgtfcyeadatefinr witfcqsis tit
3	AA	마우스	IL-2 비 프로세싱된 형태	Acc No. P04351 MYSMQLASCV TTLTLVLLVNS APTSSSTSSS TAEACQQQQQQ QQQQQQQHLEQ LLMDLQELLS RMENYRNLLK PRMLTCKFY PKQATELKDL QCLEDELGPL RHVLDLTOSK SFQLEDAENF ISNIRVTVK LKGSDNTFEC QFDDESATVV DFLRRWIAFC QSIISTSPQ
4	AA	마우스	IL-2 성숙 형태	Acc No. P04351 의 성숙 형태 APTSSSTSSS TAEACQQQQQQ QQQQQQQHLEQ LLMDLQELLS RMENYRNLLK PRMLTCKFY PKQATELKDL QCLEDELGPL RHVLDLTOSK SFQLEDAENF ISNIRVTVK LKGSDNTFEC QFDDESATVV DFLRRWIAFC QSIISTSPQ
5	AA	인간	IL-2Ra 비 프로세싱된 형태	진뱅크 Acc No. NP_000408.1 mdsylmwgl lffimvpqcc aelcdddpp iphatfkama ykegtmnce ckrgfrikslymictgn sshsswdnqc qctssatrt tkvtpqpeee qkertttemq spmqpvldqaslpghcreppp weneateriy hfvgqmvyy qvgqgyralh rgaesvckm thgktrwtqpqlqtcgmet sqfpgeekpq aspegrpese tsclvtttdf qjqtmaatm etsiftteyqvavagcvfl isvllsglt wqrqrksrti
6	AA	인간	IL-2Ra 성숙 형태	NP_000408.1로부터 처음 1-21 AA 제거됨 elcdddpp iphatfkama ykegtmnce ckrgfrikslymictgn sshsswdnqc qctssatrt tkvtpqpeee qkertttemq spmqpvldqas lpghcqppp weneateriy hfvgqmvyy qvgqgyralh rgaesvckm thgktrwtqpqlqtcgmet sqfpgeekpq aspegrpese tsclvtttdf qjqtmaatm etsiftteyqvavagcvfl isvllsglt wqrqrksrti
7	AA	인간	IL-2Ra 세포 외 도메인의 성숙 형태	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGN SSHSSWDNQCQCTSSATRNTKQVTPQPEECKERKTEMQSPMOPV QASLPGHCREPPWNEATERIYHFVVGQMVYYCVCQGYRALHRGP ESVKMTHGKTRWTOPQQLCTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS CLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFITTEYQ
8	AA	마우스	IL-2Ra 비 프로세싱된 형태	Acc No. NP_032393.3 meprlmlgf lsltivpsc aelcldppe vpnatfkals yknqtilnce ckrgfrlkelvymrcigns wssncqctsn shdksrqvt aqlehqkeqq tttdmokptq smhqnqntghcreppwkhe dskriyhfvve gqsvhyecip gykalqrgrpa isickmkcgk tgwtqpglqtcvderehhrfl aseesgsrn sspesetscp ittdfpqpt ettamtefv itmeykvavascifilisllsgltwqr wrksrti
9	AA	마우스	IL-2Ra 성숙 형태	Acc No. NP_032393.3 으로부터 aa 1-21 제거됨 elcldppe vpnatfkals yknqtilnce ckrgfrlkelvymrcigns wssncqctsn shdksrqvt aqlehqkeqq tttdmokptq smhqnqntgh creppwkhe dskriyhfvve gqsvhyecip gykalqrgrpa isickmkcgk tgwtqpglqtc vderehhrfl aseesgsrn sspeetscp ittdfpqpt ettamtefv itmeykvava scifilisllsgltwqr wrksrti

[0135]

10	AA	마우스	IL-2R $\alpha$ 세포외 도메인의 성숙 형태	elcldppp vpnatkals ykngtilncc ckrgrfrlikc iyvmyrcigns wssncqtsn shdksrkqvt aqlehgkeeq ttdmqkptq smhgenitgh creppwkhe dskriyfve gqsvhyecip gykalqrgpa isickmkcggk tgwtqpqjtc vderehrfl aseesqgsmn sspeisetcp ittdfpqpt ettamtefv ltmeyk
11	AA		(Gly3Ser)4 링커	GGGSGGGSGGGSGGGGS
12	AA		(Gly3Ser)2 링커	GGGSGGGGS
13	AA		(Gly3Ser)3 링커	GGGSGGGSGGGGS
14	AA		(Gly3Ser)5	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
15	AA		Gly3 링커	GGG
16	AA	마우스	IL-2 (Gly4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 성숙 형태	APTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQHLEQQLMDLQELLSRMENYRN LKLPRMLTFKFLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHLVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNRVTVVVLKGSNDNTFECQFDDESATVDFLRRWIAFCQSIITSPQ GGGGSGGGSGGGGGGGGGGGSELCYDPPPEVNPATFKALSYKNGTILNC ECKRGFRRLKEVYMRCLGNSSNCQTSNSHDKSRQVTAQLEHQK EQQTTDMQKPTQSMHQEENLTGHCREPPWKHEDSKRIYHFVEGQSV HYECIPGYKALQRPASICKMKCGKGTGWTQPLTCVDEREHRFLASE ESQGRNRNNSPESETCPITTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYK
17	AA	마우스	IL-2 (Gly4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 비프로세싱된 형태	MDSMQLASCVTLLVLLVNSAPTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNLLKPRMLTFKFLPKQATELKDLQCLEDEL GPLRHLVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNRVTVVVLKGSNDNTFECQFDDESA TVVDFLRRWIAFCQSIITSPQGGGGSGGGGGGGGGGGSELCYDPPPEVNPATFKALSYK TSNSHDKSRQVTAQLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQEENLTGHCRE PPWPKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRPASICKMKCGKGT WTQPLTCVDEREHRFLASE ESQGRNRNNSPESETCPITTDFPQPTET TAMTEFVLTMEYK
18	AA	마우스	IL-2 (Gly4Ser)5- IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 성숙 형태	APTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQHLEQQLMDLQELLSRMENYRN LKLPRMLTFKFLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHLVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNRVTVVVLKGSNDNTFECQFDDESATVDFLRRWIAFCQSIITSPQ GGGGSGGGSGGGGGGGGGGGGGSELCYDPPPEVNPATFKALSYK GTILNCECKRGFRRLKEVYMRCLGNSSNCQTSNSHDKSRQVTA QLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQEENLTGHCREPPWKHEDSKRIYHF VEGQSVHYECIPGYKALQRPASICKMKCGKGTGWTQPLTCVDERE HRFLASE ESQGRNRNNSPESETCPITTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYK
19	AA	마우스	IL-2 (Gly4Ser)5- IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 비프로세싱된 형태	MDSMQLASCVTLLVLLVNSAPTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNLLKPRMLTFKFLPKQATELKDLQCLEDEL GPLRHLVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNRVTVVVLKGSNDNTFECQFDDESA TVVDFLRRWIAFCQSIITSPQGGGGSGGGGGGGGGGGSE LCYDPPPEVNPATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKEVYMRCLGN SNCQTSNSHDKSRQVTAQLE HQKEQQTTDMQKPTQSMHQEENLT GHCREPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRPASICK MKCGKGTGWTQPLTCVDEREHRFLASE ESQGRNRNNSPESETCP ITTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYK
20	AA	마우스	IL-2 (Gly3Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 성숙 형태	APTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQHLEQQLMDLQELLSRMENYRN LKLPRMLTFKFLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHLVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNRVTVVVLKGSNDNTFECQFDDESATVDFLRRWIAFCQSIITSPQ GGGGSGGGSGGGGGSELCYDPPPEVNPATFKALSYKNGTILNCECKRG FRRKLEVYMRCLGNSSNCQTSNSHDKSRQVTAQLEHQKEQQTT DMQKPTQSMHQEENLTGHCREPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIP GYKALQRPASICKMKCGKGTGWTQPLTCVDEREHRFLASE ESQGR NSPESETCPITTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYK
21	AA	마우스	IL-2 (Gly3Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 비프로세싱된 형태	MDSMQLASCVTLLVLLVNSAPTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNLLKPRMLTFKFLPKQATELKDLQCLEDEL GPLRHLVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNRVTVVVLKGSNDNTFECQFDDESA TVVDFLRRWIAFCQSIITSPQGGGGSGGGGGGGGGSELCYDPPPEV NPATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKEVYMRCLGNSSNCQTSNS HDKSRQVTAQLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQEENLTGHCREPPW KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRPASICKMKCGKGTGWTQ

				QLTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETCPITTDFPQPTETTAMTE TFVLTMEYK
22	AA	인간	IL-2 (Gly4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포와 도메인의 성숙 형태	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKH LQCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISINVILELKGSSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGGGGGGGG SELDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTG NSHSSWDNQCCQCTSATRNTTKQVTPOQEEQKERKTTTEMQSPMQPV DOASLPGHCREPPPWEATERIYHFVVGQMYYQCVQGYRALHRGP AESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESET SCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQ
23	AA	인간	IL-2 (Gly4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포와 도메인의 비프로세싱된 형태	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHL RPRDLISINVILELKGSSETTFMCYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GG DDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SDWNQCCQCTSATRNTTKQVTPOQEEQKERKTTTEMQSPMQPVQDAS LPGHCREPPPWEATERIYHFVVGQMYYQCVQGYRALHRGPaesvC KMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTT TSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQ
24	AA	인간	IL-2 (Gly3Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포와 도메인의 성숙 형태	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKH LQCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISINVILELKGSSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGGGGGGGGGGGGG DDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SDWNQCCQCTSATRNTTKQVTPOQEEQKERKTTTEMQSPMQPVQDAS LPGHCREPPPWEATERIYHFVVGQMYYQCVQGYRALHRGPaesvC KMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTT TDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQ
25	AA	인간	IL-2 (Gly3Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포와 도메인의 비프로세싱된 형태	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHL RPRDLISINVILELKGSSETTFMCYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GG RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSWDNQCCQCTSATRNTTKQVTPOQEE QKERKTTTEMQSPMQPVQDASLPGHCREPPPWEATERIYHFVVGQ MVYYQCVQGYRALHRGPaesvCkMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQF PGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQ
26	AA	인간	IL-2 (Gly3Ser)3- IL-2R $\alpha$ 의 세포와 도메인의 성숙 형태	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKH LQCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISINVILELKGSSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGGGGGGGGGGG EIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS NOCCQCTSATRNTTKQVTPOQEEQKERKTTTEMQSPMQPVQDASLPGH CREPPPWEATERIYHFVVGQMYYQCVQGYRALHRGPaesvC HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTDF QIQTTEMAATMETSIFTTEYQ
27	AA	인간	IL-2 (Gly3Ser)3- IL-2R $\alpha$ 의 세포와 도메인의 비프로세싱된 형태	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHL RPRDLISINVILELKGSSETTFMCYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GG IKSGSLYMLCTGNSSHSWDNQCCQCTSATRNTTKQVTPOQEEQKERK TEMQSPMQPVQDASLPGHCREPPPWEATERIYHFVVGQMYYQCVQGY RGPaesvCkMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP QASPEGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQ
28	NT	인간	IL-2 리더 회적화된 코작 서열	gccaccATGGACAGGATGCAACTCTGTCTGCATTGACTAAGTCTG CACTTGTCAACAAAGCT
29	NT	마우스	IL-2 (Gly4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포와 도메인의 비프로세싱된 형태	ATGGACAGCATGCGAGCTGCATCTGTCTGCACATTGACACTTGTGCTC CTTGCAACAGCGCACCCACTTCAGCTACTTCAGCTCTACAGCG GAAGCACAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCTGTTGATGGACCTACAGGGAGCTCTGAGCAGGATGGAGAA TTACAGGAACCTCCCAAGGATGTCACCTTCAAATTTCATT GCCCAAGCAGGCCACAGAATTGAAAGATCTCAGTGCCTAGAAGATG AACTTGGACCTCTGGCATGTTCTGGATTGACTCAAAGCAAAAGC

			TTCAATTGGAAGATGCTGAGAATTCTAGCAATATCAGAGTAAC GTTGAAAACAAGGGCTCTGACAAACATTGAGTCGCAATTGCA TGATGAGTCAGCACTGTGGACTTCTGAGGAGATGGATAGCCT TCTGCAAGCATCATCTCAACAAAGCCCTCAAGGAGGGTgatctgg aggtggatcaggggggatggatccggggggatctGAACCTGTCTGTATG ACCCACCCGAGGTCCCCAATGCCACATTCAAAGCCCTCTCTACAAGA ACGGCACCATCTAAACTGTGAATGCAAGAGAGGTTCCGAGACTA AAGGAATTGGCTATAGCCTAGGAACTCTGGAGCAGCAA CTGCCAGTGCACAGCAACTCCATGACAAATCGAGAAAGCAAGTTA CAGCTCAACTTGAACCCAGAAAGAGCAACAAACCAACAGACATG CAGAAG CCAACACAGTCTATGCCAAAG AG AACCTTACAG GTCACTG CAG GGAGCCACTCTGGAAACATGAAAGATTCCAAGAGATCTAC ATTCGTGGAAAGGACAGAGTGTCACTACGAGTGTATTCCGGGATAC AAGGCTCACAGAGGGTCTGCTATTAGCATCTGCAAGATGAGTG TGGGAAAACGGGTGACTCAGCCCCAGCTCACATGTGAGATGAA AGAGAACACCCAGGATTTCTGGCTAGTGAGGAATCTCAAGGAAGCA GAATTCTCAGGAGACTCTGGCCATAACACACAG ACTTCCACAACCCACAGAAACAACTGCAATGACGGAGACATTG CTCAATGGAGTATAAGGGTGACATCACCACCATCACTAATA A	
30	NT	마우스	IL-2 (G1y3Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포 외 도메인의 비프로세싱된 형태	ATGGACAGCATGCAGCTGCATCCTGTCACATTGACACTTGTGCTC CTTGTCAACAGCGCACCCACTTCAAGCTTACTTCAAGCTCTACAGCG GAAGCACAGCAGCAGCACAGCAGCACAGCAGCACCTGG AGCAGCTTGTGATGGACCTACAGGAGCTCTGAGCAGGATGGAGAA TTACAGGAACCTGAAACTCCCAAGGATGCTCACCTCAAATTTCATT GCCCAAGCAGGCCACAGAATTGAAAGATCTTCAGTGCCTAGAAGATG AACTTGGACCTCTGGCATTTGAGCTTCAAGGAAAGC TTCAATTGGAAAGATGCTGAGAATTCTCAGCAATATCAGAGTAAC GTTGAAAACATAAGGGCTCTGACAAACATTGAGTGTGCAATTG TGATGAGTCAGCACTGTGAGGATGCTGAGGAGATGGATAGCCT TCTGTCAAAGCATCATCTCAACAGCCCTCAAGGAGGGTgatctgg tcagggtgggggtgggggtgggggttcGAACCTGTCTGTATGACCCACCCGAG GTCCCCATGCCACATCTAAAGCCCTCTCTACAAAGAACGGCACCATC CTAAACTGTGAATGCAAGAGAGGTTCCGAGACTAAAGGAATTGGT CTATATGGTGTCTAGGAAACTCTGGAGCAGCACTGCCAGTGC CCAGCAACTCCATGCAAAATGAGAAAGCAAGTTACAGCTCAACTT GAACACAGAAAGAGCACAAACACAAACAGACATGCAAGAGCCA CACAGTCTATGCCAAAGAGAACCTTACAGGTACTGCAGGGAGCCA CTCTCTGGAAACATGAGATCTCAAGGAGAAATCTTACATTGCTGGAA GGACAGAGTGTCACTACGAGTGTATTCCGGGATACAAGGCTCTACA GAGAGGTCTGCTATTAGCATCTGCAAGATGAGTGTGGGAAACG GGGTGGACTCAGCCCCAGCTCACATGTGAGATGAAAGAGAACACC ACCGATTCTGGCTAGTGAGGAATCTCAAGGAAGCAGAAATTCTCT CCCGAGAGTGTGAGACTCTGGCCCTAAACACACAGACTTCCCAA CCACAGAAACAACTGCAATGACGGAGACATTGTCGTCACATGG GTATAAGGGTGACATCACCACCATCACCACACTAATAA
31	NT	마우스	IL-2 (G1y4Ser)5- IL-2R $\alpha$ 의 세포 외 도메인의 비프로세싱된 형태	ATGGACAGCATGCAGCTGCATCCTGTCACATTGACACTTGTGCTC CTTGTCAACAGCGCACCCACTTCAAGCTTACTTCAAGCTCTACAGCG GAAGCACAGCAGCAGCACAGCAGCACAGCAGCACCTGG AGCAGCTTGTGATGGACCTACAGGAGCTCTGAGCAGGATGGAGAA TTACAGGAACCTGAAACTCCCAAGGATGCTCACCTCAAATTTCATT GCCCAAGCAGGCCACAGAATTGAAAGATCTTCAGTGCCTAGAAGATG AACTTGGACCTCTGGCATTTGAGCTTACTCAAAGGAAAGC TTCAATTGGAAAGATGCTGAGAATTCTCAGCAATATCAGAGTAAC GTTGAAAACATAAGGGCTCTGACAAACATTGAGTGTGCAATTG TGATGAGTCAGCACTGTGAGGATGCTGAGGAGATGGATAGCCT TCTGTCAAAGCATCATCTCAACAGCCCTCAAGGAGGGTgatctgg aggtggatcaggggggatggatcaggggggatctGAAC TGTGTCGTATGACCCACCCGAGGTCCCCAATGCCACATTCAAAGCCC TCTCTACAAGAACGGCACCATCTAAACTGTGAATGCAAGAGAGGT TCCGAAGACTAAAGGAATTGGCTATAGCCTAGGAAACTC CTGGAGCAGCAACTGCCAGTGCACCAAGCAACTCCATGACAATCGA GAAAGCAAGTTACAGCTCAACTTG AACCCAGAAAGAGCAACAAACC

				ACACAGACATGAGAAGCCAACACAGTCTATGCCAACAGAGAACCT TACAGGTCACTGAGGGAGCCACCTCTGGAAACATGAAGAGTCCA AGAGAATCTATCATTCGTGAAAGGACAGAGTGTCACTAGAGTGT ATTCGGGATACAAGGCTCTACAGAGGGTCTGCTATTAGCATCTG CAAGATGAAGTGTGGAAAAGGGGTGACTCAGCCCCAGCTACA TGTGTAGATGAAAGAGAACACCACCGATTCTGGTAGTGGAAATC TCAAGGAAGCAGAAATTCTCTCCGAGAGTGAGACTCTGCCCA TAACCACACAGACTTCCCACAAACCCACAGAAAACAATGCAATGACG GAGACATTGTGCTCACATGGAGTATAAGGGTGGACATCACCACATCA CCATCACTAATAA
32	NT	인간	IL-2 (G1y4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포의 도메인의 비프로세싱된 형태	ATGGACAGGATGCAACTCTGTCTGCATTGCACTAAGTCTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACAGCT ACAACCTGGAGCATTACTGCTGGATTACAGATGTTTGAATGGAAAT TATAATTACAAGAAATCCAAACTCACCAGGATGCTCACATTAAAGTT TACATGCCAACAGGCAACAGAACTGAAACATCTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTAGCTCAAAGC AAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATTAACAGTA ATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAACAAACATTCTATGTGTGAATA TGCTGTAGAGACAGCAACCATGTAGAATTCTGAACAGATGGGATTA CCTTTGTCAAAGCATCTCAACACTGACTTgtggaggatctgtgg gtggatcaggatggatccggatccggatggat GAGCTCTGTGACGATGACCGCCAGAGATCCCACACGCCACATTCAA AGCCATGCCAACAGGAAGGAACCATGTTGAACGTGAAATGCAAGAG AGGTTTCCGCAAGAAATAAAAGCGGGTCACTCTATATGCTCTGTAC AGGAAACTCTAGGCACTCGTCTGGGACAACCAATGTCATGCAACAA GCTCTGCACTGGAAACACAACGAAACAAAGTGCACCTCAACCTGAA GAACAGAAAGAAAGGAAACACACAGAAATGCAAAGTCAAATGCG CAGTGGACCAAGGGAGCCTCCAGGTACTGAGGGAAACCTCCACCA TGGGAAATGAAGCACAGAGAGAATTATCATTCGTGTTGGGG AGATGGTTTATTATCATGTGCGTCCAGGGATACAGGGCTACACAGA GGTCTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGGAAGACAAGGT GGACCCAGCCCCAGCTCATATGCAAGGTGAATGAGACCAAGTCA GTTCCAGGTGAAGAGAAAGGCTCAGGCAAGCCCCGAAGGGCGTCT GAGAGTGAAGACTTCTGCTCGTCAACAAACAGATTCAAATACA GACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATTACAACAGAGT ACCAAGGGTGGACATCACCACATCACTAATAA
33	NT	인간	IL-2 (G1y3 Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포의 도메인의 비프로세싱된 형태	ATGGACAGGATGCAACTCTGTCTGCATTGCACTAAGTCTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACAGCT ACAACCTGGAGCATTACTGCTGGATTACAGATGTTTGAATGGAAAT TATAATTACAAGAAATCCAAACTCACCAGGATGCTCACATTAAAGTT TACATGCCAACAGGCAACAGAACTGAAACATCTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTAGCTCAAAGC AAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATTAACAGTA ATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAACAAACATTCTATGTGTGAATA TGCTGTAGAGACAGCAACCATGTAGAATTCTGAACAGATGGGATTA CCTTTGTCAAAGCATCTCAACACTGACTTgtggaggatctgtgg ttaggtggatccggatccggatccggatccggat GATCCACACGCCACATTCAAAGCCATGGCTACAGGAAGGAACCA TGTGAACTGTGAATGCAAGAGAGGTTCCGAGAATAAAAGCG GTCACTCTATGCTCTGTCAGGAAACTCTAGCCACTCGTCTGGGA CAACCAATGTCATGCAAGCTGCAACTCGGAACACAAACGAAAC AAGTGACACCTCAACCTGAAAGAACAGAAAGGAAAGGAAACACAGA AATGCAAAGTCCAATGAGCCAGTGGACCAAGGGAGCCTCCAGTC ACTGCAGGGAACTCCACCATGGGAAAATGAAGCCACAGAGAGAAT TTATCATTCGTGTTGGGGCAGATGGTTTATTACATGCGTCCAGG GATACAGGGCTCTACACAGAGGTCTGCTGAGAGCGTCTGCAAATG ACCCACGGGAAGACAAGGTGGACCCAGCCTGCTCATATGACAG GTGAAATGGAAGACCAAGTCAGTTCCAGGTGAAGAGAAAGCTCAGGC AAGCCCCGAAGGGCGTCTGAGAGTGAGACTTCTGCCCTGTCACAA CAACAGATTCAAATACAGACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACG TCCATATTACAACAGAGTACCAAGGGTGGACATCACCACCATCAC TAATAA



[0141]



			CTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCCCAACGCCACATTCAAGCCA TGGCCATACAAAGGAAAGGAAACCTTGTGAATGCAAGAGAGA TTTCGGAGAATAAAAAGGGGGTCACTTATGCTGTACAGGAA ACTCTAGCACTGCTGAGAACCAATGCTAATGCAAGCTGCTG CCACTGGAAACACAAACAAACAATGAGCACCTAACCTGAAGACAG AAAGAAGAAAACACAGAACATGCAAGATCTAACAGCAGGAG ACCAAGCGAGCCCTTCAGGTCACTGCAGGGAACTCCACATGGGA AATGAAGCACAGAGAAATTATCATTGTTGGGGCAGATGGT TTATTATCAGTCGTCGAGGGATAACAGGGCTTACACAGAGGGTCTG CTGAGAGGGCTGCAAATGACCCAGGGAAAGACAGGGGCCA GCCCAAGCTATAGCAGGAGAATGAGACAGCTGAGTTCAG GTGAAGAGAAGGCTGAGGCAAGCCGGGAAGGGCTGTAGAGGTA GACTCTGCTGTCACACAAACAGATTTCATAACAGACAGAAAT GGCTGCAACCATGGAGACGTCATATTACAAACAGAGTACCAAGGGTG GACATACCATACCATCAATAA
50	AA	(Gly4Ser)3 링커	GGGGSGGGGGGGGG
51	AA	(Gly4Ser)2 링커	GGGGSGGGGG
52	AA	(Gly4Ser)1 링커	GGGGS
53	NT	코작 시열	gccccatGG
54	AA	마우스 IL-2 (Gly4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포의 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSTSSTAAQOOOOOOOOOOOOOO LEQLLMLDQLLERSRMENYRNKLPRMLTFKYLPKQATELKDLQCLEDEL GPLRHLVLDLTSQKSQLEDAEINFNSIRVTVVULKGSNDTFFCQFDDESA TVVDFLRRWIAFCSISTPQGGGGSGGGGGSGGGGGGGGGGGGG PEPVNPATFKALSKYNGTILNECEKRGFRRLKEVLYMRCLGNSWSNCNS TSNHSNHSRDKRQVTAQLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQNENLTGHCRE PPPWWKHEDSKRIVHVEQGSVHYECPYKALQRGPAlSICKMKC GKTRWQTQLCTVDEREHHRFLASERESQGSNRSSPESETSPITTTDFPQ TAMTETFVLTMEYKGHHHHHH
55	AA	마우스 IL-2 (Gly4Ser)5- IL-2R $\alpha$ 의 세포의 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSTSSTAAQOOOOOOOOOOOO LEQLLMLDQLLERSRMENYRNKLPRMLTFKYLPKQATELKDLQCLEDEL GPLRHLVLDLTSQKSQLEDAEINFNSIRVTVVULKGSNDTFFCQFDDESA TVVDFLRRWIAFCSISTPQGGGGSGGGGGSGGGGGGGGGGG LCLYDPPVPNPATFKALSKYNGTILNECEKRGFRRLKEVLYMRCLGNSWS SNCQTSNSHSDRDKRQVTAQLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQNENLTGHCRE GHCREPPWWKHEDSKRIVHVEQGSVHYECPYKALQRGPAlSICKMKC GKTRWQTQLCTVDEREHHRFLASERESQGSNRSSPESETSPITTTDFPQ PTTAMTETFVLTMEYKGHHHHHH
56	AA	마우스 IL-2 (Gly3Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포의 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSTSSTAAQOOOOOOOOOOOO LEQLLMLDQLLERSRMENYRNKLPRMLTFKYLPKQATELKDLQCLEDEL GPLRHLVLDLTSQKSQLEDAEINFNSIRVTVVULKGSNDTFFCQFDDESA TVVDFLRRWIAFCSISTPQGGGGSGGGGGSGGGGGGGGG ALSKYNGTILNECEKRGFRRLKEVLYMRCLGNSWSNCQTSNSHDKR KQVTAQLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQNENLTGHCREPPWWKHEDS KRIYHVEQGSVHYECPYKALQRGPAlSICKMKC GKTRWQTQLCTVDEREHHRFLASERESQGSNRSSPESETSPITTTDFPQ TAMTETFVLTMEYKGHHHHHH
57	AA	마우스 IL-2 (Gly3Ser)3- IL-2R $\alpha$ 의 세포의 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSTSSTAAQOOOOOOOOOOOO LEQLLMLDQLLERSRMENYRNKLPRMLTFKYLPKQATELKDLQCLEDEL GPLRHLVLDLTSQKSQLEDAEINFNSIRVTVVULKGSNDTFFCQFDDESA TVVDFLRRWIAFCSISTPQGGGGSGGGGGSGGGGGGGGG ALSKYNGTILNECEKRGFRRLKEVLYMRCLGNSWSNCQTSNSHDKR KQVTAQLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQNENLTGHCREPPWWKHEDS KRIYHVEQGSVHYECPYKALQRGPAlSICKMKC GKTRWQTQLCTVDEREHHRFLASERESQGSNRSSPESETSPITTTDFPQ TAMTETFVLTMEYKGHHHHHH

[0143]

58	AA	인간	IL-2 (G1y3Ser)2- IL-2R $\alpha$ 의 세포 외 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHL RPRDLISNINVIVELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSISI GGSGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGRRIKSGS LYMLCTGNSSHSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKITEM QSPMQPVDOASLPGHCREPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQCQVG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLCTGEMETSQFPGEEKPQASP EGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH
59	AA	인간	IL-2 (G1y3Ser)3- IL-2R $\alpha$ 의 세포 외 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHL RPRDLISNINVIVELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSISI GGSGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGRRIKSGS LYMLCTGNSSHSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKITEM QSPMQPVDOASLPGHCREPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQCQVG YQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLCTGEMETSQFPGEEKP QASPEGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH
60	AA	인간	IL-2 (G1y3Ser)4- IL-2 R $\alpha$ 의 세포 외 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHL RPRDLISNINVIVELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSISI GGSGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGRRIKSGS LYMLCTGNSSHSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKITEM QSPMQPVDOASLPGHCREPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQCQVG MVYQCQVGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLCTGEMETSQFP GEEKPQASPEGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFTTEYQGG HHHHHH
61	AA	인간	IL-2 (G1y4Ser)4- IL-2R $\alpha$ 의 세포 외 도메인의 비프로세싱된 형태 + 글리신 스페이서 및 폴리-히스티딘 영역	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHL RPRDLISNINVIVELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSISI GGGGGGGGGGGGGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECK RGRRIKSGSLSYMLCTGNSSHSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEE QKERKITEMQSPMQPVDOASLPGHCREPPWENEATERIYHFVVG VGQMVVYQCQVGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLCTGEME TSQFPGEEKPKQASPEGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFT TEYQGGHHHHHH
62	AA	인간	IL-2 (G1y3Ser)3- mutIL-2R $\alpha$ 의 세포 외 도메인의 성숙 형태	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKK TELKHLCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHL RPRDLISNINVIVELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSISI GGGGGGGGGGGGGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECK RGRRIKSGSLSYMLCTGNSSHSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEE QKERKITEMQSPMQPVDOASLPGHCREPPWENEATERIYHFVVG VGQMVVYQCQVGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLCTGEME TSQFPGEEKPKQASPEGRPESETSCLVTTDFQIQTTEMAATMETSIFT TEYQGGHHHHHH
63	NT	인간	IL-2 (G1y3Ser)3- mutIL-2R $\alpha$ Mut 의 세포 외 도메인의 비프로세싱된 형태	ATGGACAGGATGCAACTCTGTCTTGCAATTGCACTAAGTCTGCACT GTCAACAAACAGTCGACACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACCTGGAGCATTAACCTTGCTGAGGAACTGAAACACATTCTAGTGG TAATAATTACAAGAACCTCCAAACAACTCACCAGGATGTCACATTAAAGT TTACATGCGCAAGAACCTTGCTGAGGAACTGAAACACATTCTAGTGG AAGAAGAACCTCAACCTCTGGAGGAACTGCTAAATTAGCTAAACG AAAAACTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATACACGTA ATAGTTCTGGAACTTAAGGGATCTGAAACACATTCTAGTGG TGCTGATGAGACAGAACCAACATTGTAGAATTCTGAACAGATGGATTA CTTTGTCAAAGCATCTCACACTGACTggtgagggtctggagg tcagggtggagggtcgGAGCTCTGTGAGGATGCCAGAGATCCACA CGCCACATTCAAAGCCATGGCTACAAGGAAGGAAACCATGTTGAAC GTGAATGCAAGAGAGGTTTACCTCAATAAAAAGGGGTACTCTAT ATGCTCTGTACAGGAAACTCTAGCCACTCGTCTGGACAACCAATG TCAATGACAAAGCTGCCACTCGGAACACAACGAAACAAAGTGACAC CTCAACCTGAAGAACAGAAAAGAAAACACAGAAATGCAAG TCCAATGCGCCAGTGGACCAAGCAGGCTTCCAGGTCACTGCAGGG

				AACCTCCACCATGGGAAATGAAGGCCAGAGAGAAATTTCATTTC GTGGTGGGGCAGATGGTTTATTATCAGTCGTCAGGGATACAGGG CTCTACACAGAGGTCCTGCTGAGAGCGCTGCAAATGACCCAGG AAGACAAGGGTGGACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGG AGACAGCTGAGTTCAGGTGAAGAGAACGCTCAGGAAGCCCCGA AGGCGTCTGAGAGTGGAGACTCTCGCTCGTACAACACAGATT ITCAAAATACAGACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCATATT ACACAGAGTACAGGGTGGACATCACCATCACCATACTAATAA
64	AA	인간	IL-2 (Gly4Ser)4- mutIL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 성숙 형태	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNINNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEELPKLEEVNLNQSKNPKLPRDLISNINVLELGSETTF MCVEADETATIVEFLNRWITFCOSISLTGGGGSGGGSGGGGG SELDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFTSIKGSLYMLCTG NSHSQSWDNQCCQTSATRNTTKQVTPQPEEQKE RKTTEMQSPMQPV DOASLPGHCREPPPWNEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGP AESVCKMTHGKTRWTPQQLCTGEMETSQFPGEEKPKQASPEGRPESET SCLVTTTDFQJQTEMAATMETSIFTTEYQ
65	NT	인간	IL-2 (Gly4Ser)4- mutIL-2R $\alpha$ 의 세포외 도메인의 비프로세싱된 형태	ATGGACAGGATGCAACTCTGCTTGATTGACTAAAGCTTGACTT GTCAACAAACAGTCAGCTTACCTTCAAGTTTACAAAGAAAACACAGCT ACAACTGGAGCATTACTGCTGATTACAGATGATTTGAATGGAAAT TAATAATTACAAGAAATCCCAAACACTCACCAGGATGCTCACATTAAAGTT TTACATGCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAACACTCTGGAGGAAGTGTCAAATTTAGCTAAAGC AAAAAACTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCACGTA ATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACACTGACTGttggagggttgtgg gtgtggatcgggtgg a gtgtggatcgggtggatcggatcggat GAGCTCTGTGACGATGACCCGGCAGAGATCCCACGCCACATTCAA AGCCATGGCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAACTGTGAATGCAAG AGAGGTTTCACTTAAATAAAAGGGGTCACTTATATGCTGTACA GGAACACTTAGCACTGTCCTGGGACAAACCAATGTCATGCAACAG CTCTGCCACTCGGAACACACGAAACAAGTGACACCTCAACCTGAAG AACAGAAAGAAAGGAAACACAGAAATGCAAAGTCCAATGCAAG AGTGGACCAAGGGAGCCTCAGTCAGTGAGGGAAACCTCACCAT GGGAAATGAAGCCACAGAGAGAAATTATCATTGTGGTGGGGCA GATGGTTTATTATCAGTGGTCAGGGATACAGGGCTTACACAGAG GTCCTGCTGAGAGGGCTGCAAATGACCCACGGGAAGACAGGTG GACCCAGCCCCAGCTCATATGCAAGGTGAAATGGAGACAGCTGAGT ITCCAGGTGAAGAGAACGCTCAGGCAAGCCCCGAAGGGCTCTGA GAGTGAAGACTTCTGCTCGTACAACACAG ATTTCAAAATACAGAC AGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCATATTACAACAGAGTAC AGGGTGACATCACCACCATCACATAATAA

[0145]

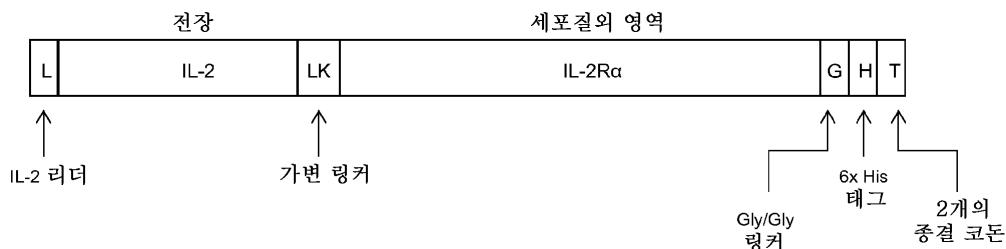
[0146] 본원 명세서에서 언급된 모든 간행물 및 특허 출원은 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자의 수준을 나타낸다. 모든 간행물 및 특허 출원은 마치 각각의 개별 간행물 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참조로 포함된다고 나타낸 것과 동일한 정도로 본원에 참고로 포함된다.

[0147]

상기 발명은 이해의 명료성을 위해 예시 및 실시예에 의해 일부 상세하게 설명되었지만, 특정 변경 및 변형이 첨부된 청구항의 범위 내에서 실시될 수 있음이 명백할 것이다.

## 도면

### 도면1



## 도면2i

## 구축물

## 추정된 단백질 서열

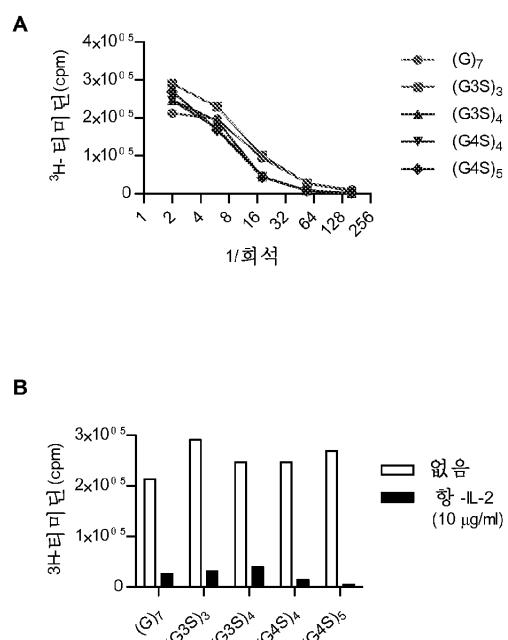
IL-2	WYSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQQHLEQQLLMDLQELLS
IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQHLEQQLLMDLQELLS
IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQHLEQQLLMDLQELLS
IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQHLEQQLLMDLQELLS
IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQHLEQQLLMDLQELLS
IL-2R $\alpha$	-----
IL-2	RMENYRNKLKPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHWVLDLITQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$	RMENYRNKLKPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHWVLDLITQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$	RMENYRNKLKPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHWVLDLITQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$	RMENYRNKLKPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHWVLDLITQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$	RMENYRNKLKPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHWVLDLITQSKSFQLEDAENF
IL-2R $\alpha$	-----
IL-2	ISNIRVTVVLLKGSNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$	ISNIRVTVVLLKGSNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGGG-----
IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$	ISNIRVTVVLLKGSNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGGG-----
IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$	ISNIRVTVVLLKGSNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGGG-----
IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$	ISNIRVTVVLLKGSNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGGG-----
IL-2R $\alpha$	-----
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$	-----GGGGSGGGGSELCLYDPPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRKELVYMRCL
IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$	GGGSGGGGGGGGGSELCLYDPPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRKELVYMRCL
IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$	-----GGGGGGSELCLYDPPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRKELVYMRCL
IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$	-----GGGGGGSELCLYDPPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRKELVYMRCL
IL-2R $\alpha$	-----ELCLYDPPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRKELVYMRCL
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$	GNSWSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMEQENLTGHCREPPPW
IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$	GNSWS9NCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMEQENLTGHCREPPPW
IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$	GNSWS3NCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMEQENLTGHCREPPPW
IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$	GNSWS3NCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMEQENLTGHCREPPPW
IL-2R $\alpha$	GNSWSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMEQENLTGHCREPPPW
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$	KHEDSKRIVHFVEQQSVHYPECIPGYKALQRGPAlSICKMKCGKTGWTQPOLTCVDERENH
IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$	KHEDSKRIVHFVEQQSVHYPECIPGYKALQRGPAlSICKMKCGKTGWTQPOLTCVDERENH
IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$	KHEDSKRIVHFVEQQSVHYPECIPGYKALQRGPAlSICKMKCGKTGWTQPOLTCVDERENH
IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$	KHEDSKRIVHFVEQQSVHYPECIPGYKALQRGPAlSICKMKCGKTGWTQPOLTCVDERENH
IL-2R $\alpha$	KHEDSKRIVHFVEQQSVHYPECIPGYKALQRGPAlSICKMKCGKTGWTQPOLTCVDERENH
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R $\alpha$	RFLASEE5QGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYKGGHHHHHH
IL-2-(G4S)5-IL-2R $\alpha$	RFLASEE5QGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYKGGHHHHHH
IL-2-(G3S)4-IL-2R $\alpha$	RFLASEE5QGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYKGGHHHHHH
IL-2-(G3S)3-IL-2R $\alpha$	RFLASEE5QGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYKGGHHHHHH
IL-2R $\alpha$	RFLASEE5QGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTEFVLTMEYK-----

## 도면2ii

IL-2 MYRMQLLSCLIALSALVNTNSAPTSSSSTKKTQLQLEHLLLQLQMILNGINNYKNPKLTRML  
 IL-2- (G3S) 2- IL-2R $\alpha$  MDRMQLLSCLIALSALVNTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLLQLQMILNGINNYKNPKLTRML  
 IL-2- (G3S) 3- IL-2R $\alpha$  MDRMQLLSCLIALSALVNTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLLQLQMILNGINNYKNPKLTRML  
 IL-2- (G3S) 4- IL-2R $\alpha$  MDRMQLLSCLIALSALVNTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLLQLQMILNGINNYKNPKLTRML  
 IL-2- (G4S) 4- IL-2R $\alpha$  MDRMQLLSCLIALSALVNTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLLQLQMILNGINNYKNPKLTRML  
 IL-2R $\alpha$  -----  
 IL-2 TFKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISINVIVLELKGS  
 IL-2- (G3S) 2- IL-2R $\alpha$  TFKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISINVIVLELKGS  
 IL-2- (G3S) 3- IL-2R $\alpha$  TFKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISINVIVLELKGS  
 IL-2- (G3S) 4- IL-2R $\alpha$  TFKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISINVIVLELKGS  
 IL-2- (G4S) 4- IL-2R $\alpha$  TFKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISINVIVLELKGS  
 IL-2R $\alpha$  -----  
 IL-2 TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL-----  
 IL-2- (G3S) 2- IL-2R $\alpha$  TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGS-----GGGSELCDPP  
 IL-2- (G3S) 3- IL-2R $\alpha$  TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGS-----GGGSGGGSELCDPP  
 IL-2- (G3S) 4- IL-2R $\alpha$  TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGS-----SGGSGGGSELCDPP  
 IL-2- (G4S) 4- IL-2R $\alpha$  TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTL TGGS-----ELCDPP  
 IL-2R $\alpha$  -----  
 IL-2 PEIPHATFKAMAYKEGTMNLCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCTSSATR  
 IL-2- (G3S) 2- IL-2R $\alpha$  PEIPHATFKAMAYKEGTMNLCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCTSSATR  
 IL-2- (G3S) 3- IL-2R $\alpha$  PEIPHATFKAMAYKEGTMNLCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCTSSATR  
 IL-2- (G3S) 4- IL-2R $\alpha$  PEIPHATFKAMAYKEGTMNLCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCTSSATR  
 IL-2- (G4S) 4- IL-2R $\alpha$  PEIPHATFKAMAYKEGTMNLCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCTSSATR  
 IL-2R $\alpha$  -----  
 IL-2 NTTKQVTPQPEEKKERKTTTEMQSPMOPVQDQASLPGHCREPPWNEATERIYHFVVGQMV  
 IL-2- (G3S) 3- IL-2R $\alpha$  NTTKQVTPQPEEKKERKTTTEMQSPMOPVQDQASLPGHCREPPWNEATERIYHFVVGQMV  
 IL-2- (G3S) 4- IL-2R $\alpha$  NTTKQVTPQPEEKKERKTTTEMQSPMOPVQDQASLPGHCREPPWNEATERIYHFVVGQMV  
 IL-2- (G4S) 4- IL-2R $\alpha$  NTTKQVTPQPEEKKERKTTTEMQSPMOPVQDQASLPGHCREPPWNEATERIYHFVVGQMV  
 IL-2R $\alpha$  -----  
 IL-2 YYQCVCQGYRALHRGPASEVCKMTHGKTRWTQPLICTGEMETSQFPGEEEKPQASPEGRPE  
 IL-2- (G3S) 3- IL-2R $\alpha$  YYQCVCQGYRALHRGPASEVCKMTHGKTRWTQPLICTGEMETSQFPGEEEKPQASPEGRPE  
 IL-2- (G3S) 4- IL-2R $\alpha$  YYQCVCQGYRALHRGPASEVCKMTHGKTRWTQPLICTGEMETSQFPGEEEKPQASPEGRPE  
 IL-2- (G4S) 4- IL-2R $\alpha$  YYQCVCQGYRALHRGPASEVCKMTHGKTRWTQPLICTGEMETSQFPGEEEKPQASPEGRPE  
 IL-2R $\alpha$  -----  
 IL-2 SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH  
 IL-2- (G3S) 3- IL-2R $\alpha$  SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH  
 IL-2- (G3S) 4- IL-2R $\alpha$  SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH  
 IL-2- (G4S) 4- IL-2R $\alpha$  SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH  
 IL-2R $\alpha$  -----

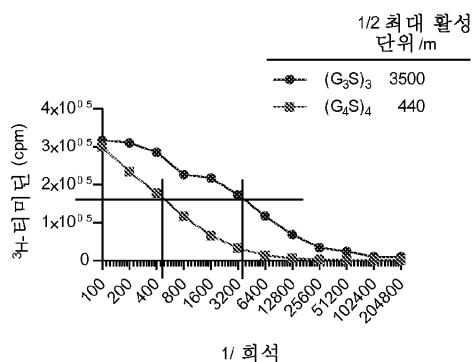
## 2B

## 도면3

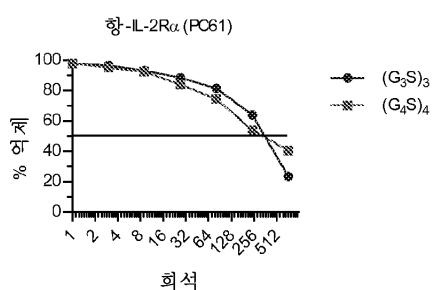
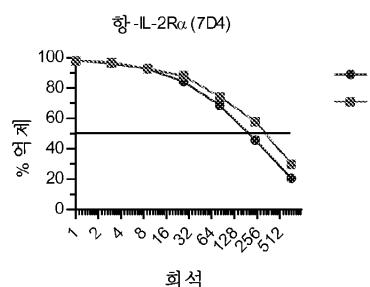


## 도면4

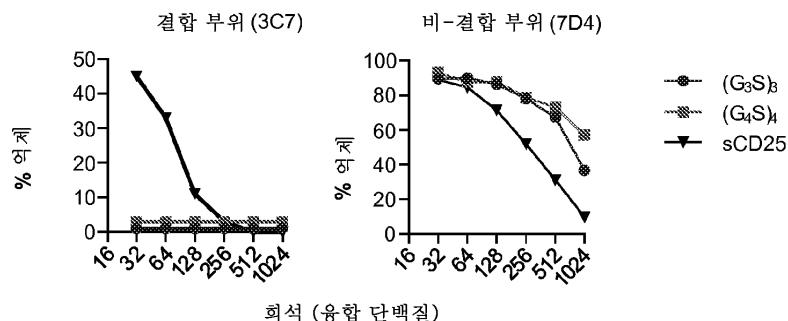
A



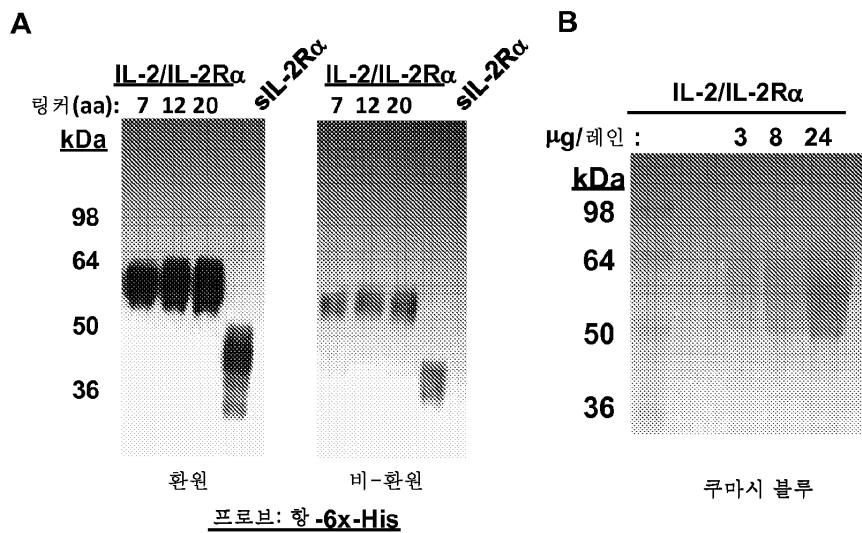
B



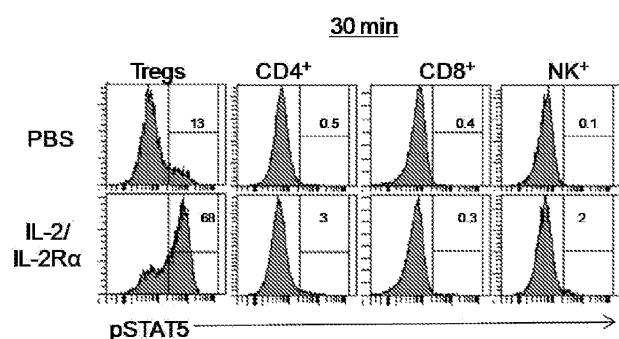
## 도면5



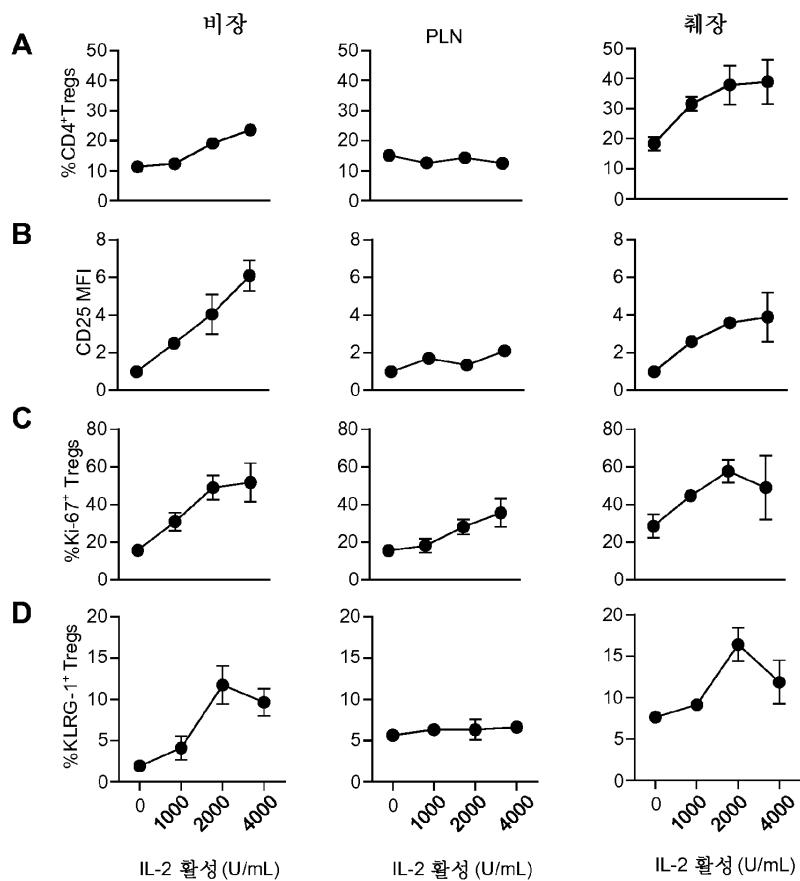
## 도면6



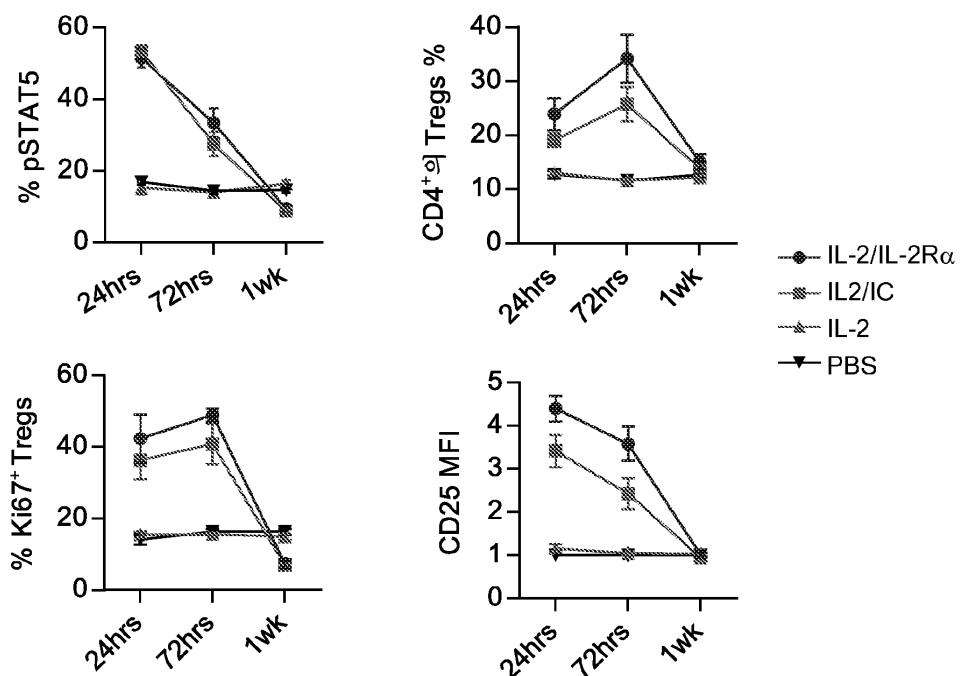
## 도면7



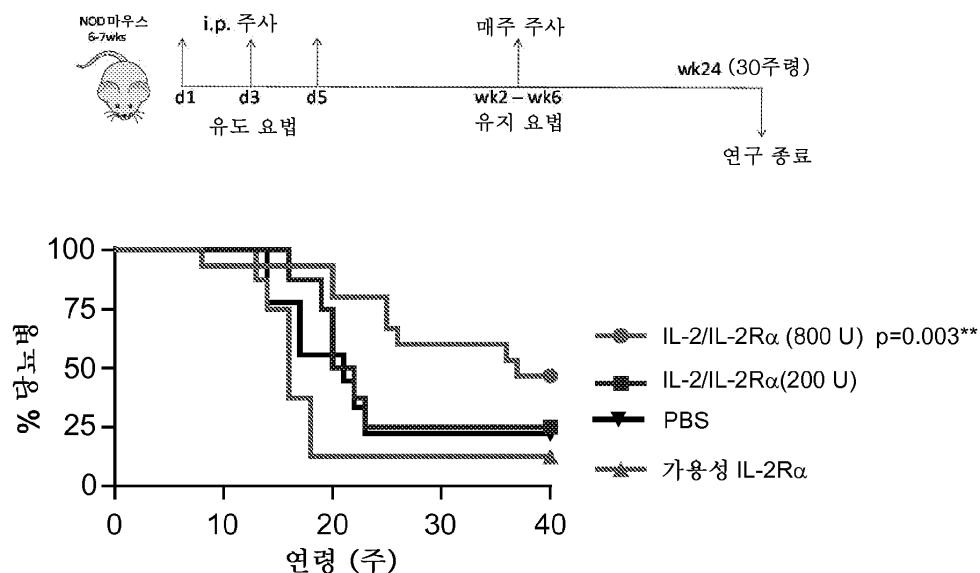
## 도면8



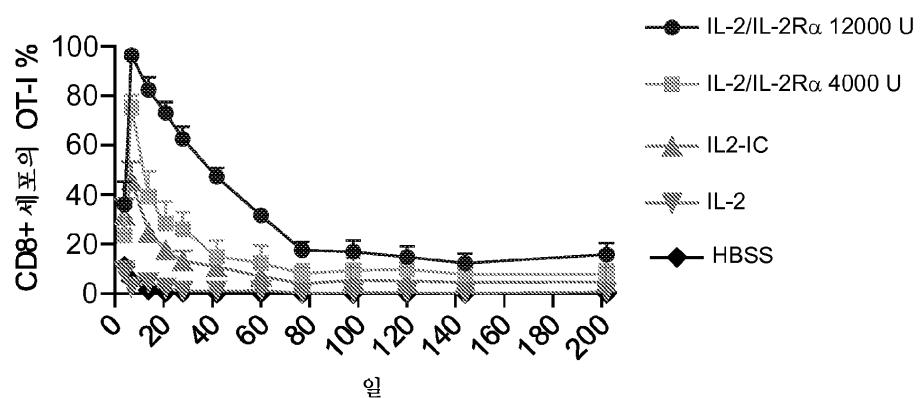
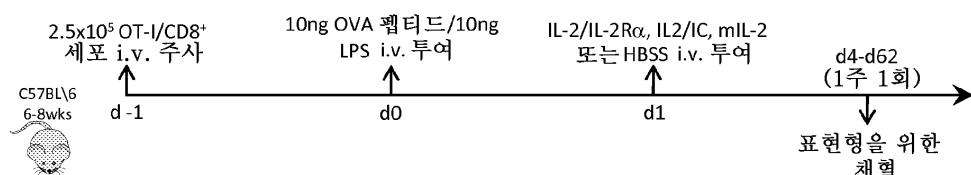
## 도면9



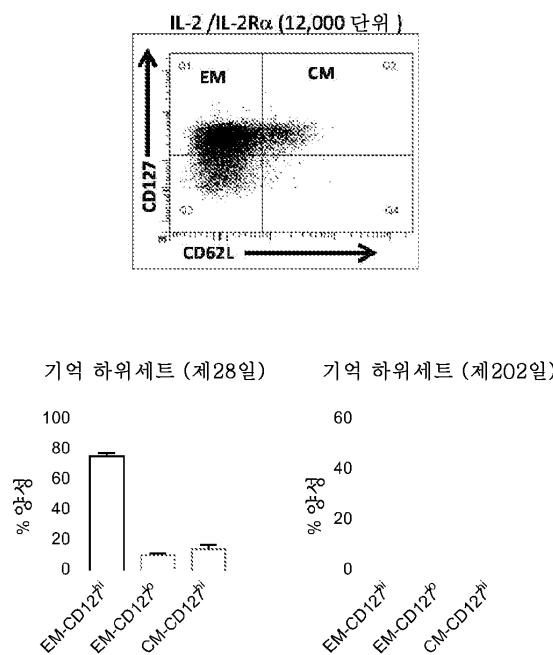
## 도면10



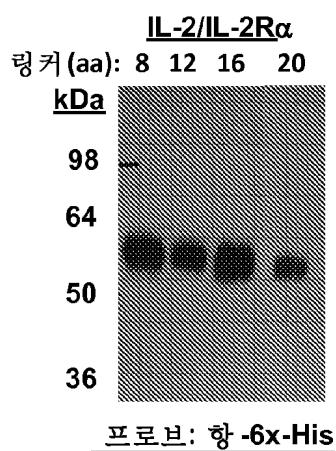
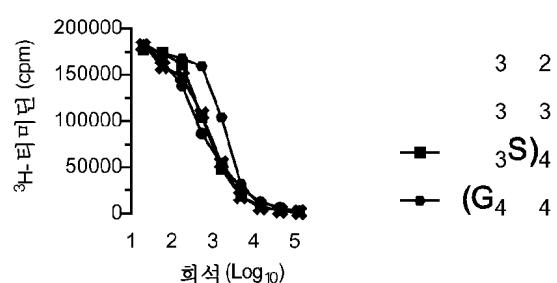
## 도면11



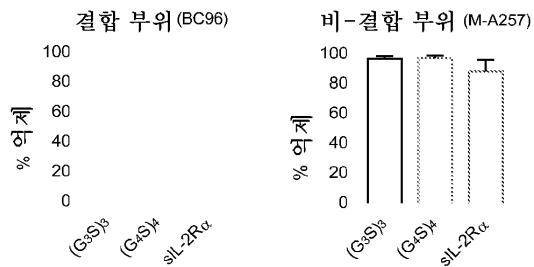
## 도면12



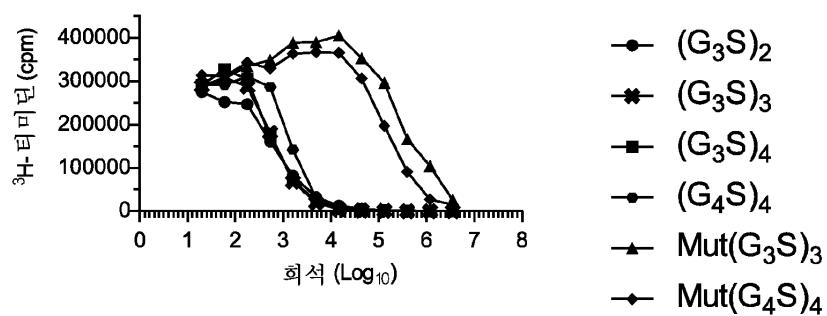
## 도면13



## 도면14



## 도면15



## 서 열 목록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Malek, Thomas

&lt;120&gt; INTERLEUKIN-2/INTERLEUKIN-2 RECEPTOR

ALPHA FUSION PROTEINS AND METHODS OF USE

&lt;130&gt; 060569-464173

&lt;150&gt; US 62/033,726

&lt;151&gt; 2014-08-06

&lt;160&gt; 65

&lt;170&gt; FastSEQ for Windows Version 4.0

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 153

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapeins

&lt;400&gt; 1

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		

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 2

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 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> 3			
<211> 169			
<212> PRT			
<213> Mus musculus			
<400> 3			
Met Tyr Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu			
1	5	10	15
Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala			
20	25	30	
Glu Ala Gln His Leu			
35	40	45	
Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn			
50	55	60	
Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu			
65	70	75	80
Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu			
85	90	95	
Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe			
100	105	110	
Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val			
115	120	125	

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp  
 130 135 140  
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys  
 145 150 155 160  
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln  
 165

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 169

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt;

&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 4

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

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

115 120 125

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

165

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 272

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 5

Met Asp Ser Tyr Leu Leu Met Trp Gly Leu Leu Thr Phe Ile Met Val

1

5

10

15

Pro Gly Cys Gln Ala Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro

20

25

30

His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn

35

40

45

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr

50

55

60

Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys

65

70

75

80

Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro

85

90

95

Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro

100

105

110

Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro

115

120

125

Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val

130

135

140

Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His

145 150 155 160

Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg

165

170

175

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln

180

185

190

Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu

195

200

205

Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr

210

215

220

Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

225 230 235 240

Val Ala Val Ala Gly Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu

245

250

255

Ser Gly Leu Thr Trp Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile

260

265

270

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 251

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 6

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys

1 5 10 15

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

20

25

30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

35

40

45

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser

50

55

60

Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln

65 70 75 80

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp

85

90

95

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

100

105

110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

115

120

125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

130	135	140	
Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln			
145	150	155	160
Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu			
165	170	175	
Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys			

180	185	190	
Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr			
195	200	205	
Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Val Ala Val Ala Gly			
210	215	220	
Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp			
225	230	235	240
Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile			
245	250		

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 219

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 7

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

50	55	60	
Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln			
65	70	75	80
Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp			
85	90	95	

Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

100 105 110

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr

115 120 125

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu

130 135 140

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln

145 150 155 160

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu

165 170 175

Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys

180 185 190

Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr

195 200 205

Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

210 215

<210> 8

<211> 268

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Met Glu Pro Arg Leu Leu Met Leu Gly Phe Leu Ser Leu Thr Ile Val

1 5 10 15

Pro Ser Cys Arg Ala Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro

20 25 30

Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn

35 40 45

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met

50 55 60

Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn

65 70 75 80

Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln

85 90 95

Lys Glu Gln Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met

100 105 110

His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys

115 120 125

His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val

130 135 140

His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala

145 150 155 160

Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro

165 170 175

Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser

180 185 190

Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser

195 200 205

Cys Pro Ile Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala

210 215 220

Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala

225 230 235 240

Ser Cys Leu Phe Leu Leu Ile Ser Ile Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr

245 250 255

Trp Gln His Arg Trp Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile

260 265

<210> 9

<211> 247

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys

1 5 10 15

Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg

20 25 30

Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn

35 40 45

Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser

50 55 60

Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr

65 70 75 80

Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu

85 90 95

Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys

100 105 110

Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile

115 120 125

Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys

130 135 140

Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val

145 150 155 160

Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly

165 170 175

Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr

180 185 190

Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe

195 200 205

Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala Ser Cys Leu Phe Leu

210 215 220

Leu Ile Ser Ile Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp Gln His Arg Trp

225 230 235 240

Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile

245

<210> 10

<211> 215

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 10

Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys

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

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; (Gly3Ser)4 linker

&lt;400&gt; 11

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1

5

10

15

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; (Gly3Ser)2 linker

&lt;400&gt; 12

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1

5

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; (Gly3Ser)3 linker

&lt;400&gt; 13

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1

5

10

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; (Gly3Ser)5 linker

&lt;400&gt; 14

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 15

<211> 3

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Gly3 linker

<400> 15

Gly Gly Gly

1

<210> 16

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized Mature form of IL-2

(Gly4Ser)4-extracellular domain of IL-2 R

<400> 16

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln

1 5 10 15

Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Leu

20 25 30

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

35 40 45

Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu Pro Lys Gln Ala

50 55 60

Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu

65 70 75 80

Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp

85 90 95

Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val Val Lys Leu Lys

100 105 110

Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr

115 120 125

Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys Gln Ser Ile Ile

130 135 140

Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro

165 170 175

Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly

180 185 190

Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu

195 200 205

Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln

210 215 220

Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln

225 230 235 240

Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro

245 250 255

Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro

260 265 270

Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu

275 280 285

Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln

290 295 300

Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly

305 310 315 320

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg

325 330 335

Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu

340 345 350

Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr

355 360 365

Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys

370 375 380

<210> 17

<211> 404

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form of IL-2

(Gly4Ser)4-extracellular domain of IL-2 R

<400> 17

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala

20 25 30

Glu Ala Gln His Leu

35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu

85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe

100 105 110

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

115 120 125

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp

130	135	140
Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys		
145	150	155
Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
165	170	175
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys		
180	185	190
Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser		
195	200	205
Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg		
210	215	220
Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser		
225	230	235
Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln		
245	250	255
Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp		
260	265	270
Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His		
275	280	285
Cys Arg Glu Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr		
290	295	300
His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr		
305	310	315
Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys		
325	330	335
Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg		
340	345	350
Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn		
355	360	365
Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe		
370	375	380

Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr  
 385 390 395 400

Met Glu Tyr Lys

<210> 18

<211> 389

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized mature form of IL-2 (Gly4Ser)5-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 18

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln

1 5 10 15

Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Leu

20 25 30

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

35 40 45

Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu Pro Lys Gln Ala

50 55 60

Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu

65 70 75 80

Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp

85 90 95

Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val Val Lys Leu Lys

100 105 110

Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr

115 120 125

Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys Gln Ser Ile Ile

130 135 140

Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu

165 170 175

Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu

180 185 190

Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe

195 200 205

Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp

210 215 220

Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys

225 230 235 240

Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr

245 250 255

Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly

260 265 270

His Cys Arg Glu Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile

275 280 285

Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly

290 295 300

Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys

305 310 315 320

Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu

325 330 335

Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg

340 345 350

Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp

355 360 365

Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu

370 375 380

Thr Met Glu Tyr Lys

385

<210> 19

&lt;211&gt; 409

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly4Ser)5-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 19

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala  
20 25 30Glu Ala Gln His Leu  
35 40 45Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn  
50 55 60Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu  
65 70 75 80Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu  
85 90 95Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe  
100 105 110Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val  
115 120 125Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp  
130 135 140Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys  
145 150 155 160Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
165 170 175Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
180 185 190

Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr

195	200	205
-----	-----	-----

Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys

210	215	220
-----	-----	-----

Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp

245	250	255
-----	-----	-----

Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln

260	265	270
-----	-----	-----

Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu

275	280	285
-----	-----	-----

Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp

290	295	300
-----	-----	-----

Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile

325	330	335
-----	-----	-----

Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr

340	345	350
-----	-----	-----

Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser

355	360	365
-----	-----	-----

Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile

370	375	380
-----	-----	-----

Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys

405
-----

<210> 20

<211> 380

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Synthesized mature form of IL-2 (Gly3Ser)4-  
extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 20

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln

1 5 10 15

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

Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn

210	215	220	
Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln			
225	230	235	240
Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met			
245	250	255	
His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys			
260	265	270	
His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val			
275	280	285	
His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala			
290	295	300	
Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro			
305	310	315	320
Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser			
325	330	335	
Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser			
340	345	350	
Cys Pro Ile Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala			
355	360	365	
Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys			
370	375	380	
<210> 21			
<211> 400			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly3Ser)4-			
extracellular domain of IL-2 R			
<400> 21			
Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu			
1	5	10	15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala

20 25 30

Glu Ala Gln His Leu

35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu

85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe

100 105 110

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

115 120 125

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp

130 135 140

Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys

145 150 155 160

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Ser Gly Gly

165 170 175

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro

180 185 190

Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly

195 200 205

Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu

210 215 220

Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln

225 230 235 240

Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln

245 250 255

Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro

260 265 270

Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro

275 280 285

Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu

290 295 300

Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln

305 310 315 320

Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly

325 330 335

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg

340 345 350

Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu

355 360 365

Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr

370 375 380

Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys

385 390 395 400

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 372

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized mature form IL-2 (Gly4Ser)4-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

290	295	300
Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met		
305	310	315
Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu		
325	330	335
Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe		
340	345	350
Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr		
355	360	365
Thr Glu Tyr Gln		
370		
<210> 23		
<211> 392		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly4Ser)4-		
extracellular domain of IL-2 R		
<400> 23		
Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu		
1	5	10
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 Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile		
35	40	45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe		
50	55	60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65	70	75
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
85	90	95

Asn Phe His Leu 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 Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys

165 170 175

Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala

180 185 190

Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg

195 200 205

Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser

210 215 220

His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg

225 230 235 240

Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg

245 250 255

Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser

260 265 270

Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr

275 280 285

Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys

290 295 300

Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys

305 310 315 320

Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys

325 330 335

Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln

340	345	350
Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr		
355	360	365
Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr		
370	375	380
Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln		
385	390	
<210> 24		
<211> 368		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthesized mature form IL-2 (Gly3Ser)4-		
extracellular domain of IL-2 R		
<400> 24		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		
35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu 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 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly		

130	135	140
Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro		
145	150	155
His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn		
165	170	175
Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr		
180	185	190
Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys		
195	200	205
Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro		
210	215	220
Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro		
225	230	235
Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro		
245	250	255
Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val		
260	265	270
Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His		
275	280	285
Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg		
290	295	300
Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln		
305	310	315
Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu		
325	330	335
Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr		
340	345	350
Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln		
355	360	365
<210> 25		
<211> 388		

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)4-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 25

Met Asp 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 Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His 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 Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro

165 170 175

Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly

180 185 190

Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser

195

200

205

Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp

210

215

220

Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys

225 230 235 240

Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu

245

250

255

Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His

260

265

270

Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr

275

280

285

His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr

290

295

300

Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His

305 310 315 320

Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met

325

330

335

Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu

340

345

350

Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe

355

360

365

Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr

370

375

380

Thr Glu Tyr Gln

385

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 364

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt;

Synthesized mature form IL-2 (Gly3Ser)3-

## extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 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 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 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

165 170 175

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

260 265 270

Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

275 280 285

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu

305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

325 330 335

Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala

340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

355 360

<210> 27

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 27

Met Asp 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 Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

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

50	55	60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65	70	75
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
85	90	95
Asn Phe His Leu 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 Gly Gly Ser Gly Gly		
145	150	155
Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro		
165	170	175
His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn		
180	185	190
Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr		
195	200	205
Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys		
210	215	220
Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro		
225	230	235
Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro		
245	250	255
Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro		
260	265	270
Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val		
275	280	285
Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His		
290	295	300

Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg

305 310 315 320

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln

325 330 335

Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu

340 345 350

Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr

355 360 365

Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

370 375 380

<210> 28

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IL-2 leader optimized Kozak sequence

<400> 28

gccaccatgg acaggatgca actcctgtct tgcattgcac taagtcttgc acttgtcaca 60

aacagt 66

<210> 29

<211> 1239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form of IL-2

(Gly4Ser)4-extracellular domain of IL-2 R

<400> 29

atggacagca tgtagctcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgtctt tgtcaacagc 60

gcacccactt caagctctac ttcaagctct acagcgaaag cacagcagca gcagcagcag 120

cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgatggacc tacaggagct cctgaggcagg 180

atggagaatt acaggaacct gaaactcccc aggatgctca cttcaaaatt ttacttgcgg 240

aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgcgg 300

catgttctgg atttgactca aagcaaaagc tttcaattgg aagatgctga gaatttcata 360  
 agcaatatca gagtaactgt tgtaaaacta aaggcctcg acaacacatt tgagtgc当地 420  
 ttcgatgatg agtcagcaac tgtggtggac tttctgagga gatggatagc cttctgtcaa 480

agcatcatct caacaagccc tcaaggtgga ggtggatctg gtggaggtgg atcaggtgga 540  
 ggtggatccg gtggaggtgg atctgaactg tgtctgtatg acccaccgcg ggtcccaat 600  
 gccacattca aagcccttc ctacaagaac ggcaccatcc taaactgtga atgcaagaga 660  
 gtgttccgaa gactaaagga attggctat atgcgttgct taggaaactc ctggagcagc 720  
 aactgccagt gcaccagcaa ctcccatgac aaatcgagaa agcaagttac agctcaactt 780  
 gaacaccaga aagagcaaca aaccacaaca gacatgcaga agccaacaca gtctatgcac 840  
 caagagaacc ttacaggtca ctgcagggag ccacccctt ggaaacatga agattccaag 900  
 agaatctatc attcgtgga aggacagagt gttcactacg agtgttattcc gggatacaag 960

gctctacaga gaggcctgc tattagcatc tgcaagatga agtgtggaa aacgggtgg 1020  
 actcagcccc agtcacatg tgttagatgaa agagaacacc accgattct ggctagttag 1080  
 gaatctcaag gaagcagaaa ttcttctccc gagagtgaga cttcctgccc cataaccacc 1140  
 acagacttcc cacaacccac agaaacaact gcaatgacgg agacatttg gtcacaatg 1200  
 gagtataagg gtggacatca ccatcaccat cactaataa 1239

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 1227

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly3Ser)4-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 30

atggacagca tgcagctcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgtccct tgtcaacagc 60  
 gcacccactt caagctctac ttcaagctct acagcgaaag cacagcagca gcagcagcag 120  
 cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgtatggacc tacaggagct cctgagcagg 180  
 atggagaatt acaggaacct gaaactcccc aggatgctca cttcaaaatt ttacttgccc 240  
 aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgggg 300  
 catgttctgg atttgactca aagcaaaagc tttcaattgg aagatgctga gaatttcata 360  
 agcaatatca gagtaactgt tgtaaaacta aaggcctcg acaacacatt tgagtgc当地 420

ttgcgtatgt agtcagcaac tgtggggac tttctgagga gatggatagc cttctgtcaa 480  
 agcatcatct caacaagccc tcaaggtgga ggttctggc gaggttcagg tggaggttc 540  
 ggtggagggt ctgaaactgtg tctgtatgc ccacccgagg tcccaatgc cacattcaaa 600  
 gcccctcct acaagaacgg caccatccta aactgtaat gcaagagagg tttccgaaga 660  
 ctaaaggaat tggctatat gcgttgctta ggaaactcct ggagcagcaa ctgccagtgc 720  
 accagcaact cccatgacaa atcgagaaag caagttacag ctaaacttga acaccagaaa 780  
 gagcaacaaa ccacaacaga catgcagaag ccaacacagt ctatgcacca agagaacctt 840  
 acaggtcaact gcagggagcc acctccttgg aaacatgaag attccaagag aatctatcat 900

ttcggtggaa gacagagtgt tcactacgag tgtattccgg gatacaaggc tctacagaga 960  
 ggtcctgcta ttagcatctg caagatgaag tgtggaaaaa cgggggtggac tcagccccag 1020  
 ctcacatgtg tagatgaaag agaacaccac cgatttctgg ctatgtgagga atctcaagga 1080  
 agcagaaatt ctctcccgaa gaggacttccttgc taaccaccac agacttccca 1140  
 caacccacag aaacaactgc aatgacggag acatggatgc tcacaatggaa gtataagggt 1200  
 ggacatcacc atcaccatca ctaataa 1227

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 1254

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt;

&gt; Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly4Ser)5-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 31

atggacagca tgcaagtcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgctct tgtcaacagc 60  
 gcacccactt caagctctac ttcaagctct acagcgaaag cacagcagca gcagcagcag 120  
 cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgatggacc tacaggagct cctgagcagg 180  
 atggagaatt acaggaacct gaaactcccc aggatgtca cttcaaaatt ttacttgc 240  
 aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgcgg 300  
 catgttctgg atttgactca aagcaaaagc tttcaattgg aagatgtga gaatttcatac 360

agcaaatatca gagtaactgt tgtaaaacta aagggtctg acaacacatt tgagtgc 420  
 ttgcgtatgt agtcagcaac tgtggggac tttctgagga gatggatagc cttctgtcaa 480  
 agcatcatct caacaagccc tcaaggtgga ggtggatcag gtggaggtgg atctgggtgaa 540  
 ggtggatcag gtggaggtgg atccgggtgaa ggtggatcag aactgtgtct gtatgcacca 600

cccgagggtcc ccaatgccac attcaaagcc ctctctaca agaacggcac catcctaaac 660  
 tgtaatgca agagagggtt ccgaagacta aaggaattgg tctatatgca ttgcttagga 720  
 aactcctgga gcagcaactg ccagtgcacc agcaactccc atgacaaatc gagaaagcaa 780  
 gttacagctc aacttgaaca ccagaaagag caacaaacca caacagacat gcagaagcca 840

acacagtcta tgcaccaaga gaaccttaca ggtcaactgca gggagccacc tccttgaaa 900  
 catgaagatt ccaagagaat ctatcatttc gtggaaggac agagtgtca ctacgagtgt 960  
 attccggat acaaggctct acagagaggc cctgctatta gcatctgcaa gatgaagtgt 1020  
 gggaaaacgg ggtggactca gccccagctc acatgtgtat atgaaagaga acaccaccga 1080  
 tttctggcta gtgaggaatc tcaaggaagc agaaattttt ctcccgagag tgagacttcc 1140  
 tgccccataa ccaccacaga cttcccacaa cccacagaaa caactgcaat gacggagaca 1200  
 tttgtgtca caatggagta taagggtgga catcaccatc accatacta ataa 1254

&lt;210

&gt; 32

&lt;211&gt; 1206

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly4Ser)4-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 32

atggacagga tgcaactct gtctgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60  
 gcacccactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120  
 ttacagatga tttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180  
 acatthaat tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatctca gtgtctagaa 240  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggactc aaagaaaaa ctttactta 300

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360  
 acaacattca tggatgataa tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420  
 tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgactg gtggaggtgg atctgggtga 480  
 ggtggatcag gtggaggtgg atccgggtga ggtggatctg agctctgtga cgtgacccg 540  
 ccagagatcc cacacgccac attcaaagcc atggctaca aggaaggaac catgttgaac 600  
 tgtaatgca agagagggtt ccgcagaata aaaagcggtt cactctatat gctctgtaca 660  
 gggaaactcta gccactcgat ctggacaac caatgtcaat gcacaagctc tgccactcg 720

aacacaacga aacaagtgac acctcaacct gaagaacaga aagaaaggaa aaccacagaa 780

atgcaaagtc caatgcagcc agtggaccaa gcgagccttc caggtcactg cagggaccc 840  
 ccaccatggg aaaaatgaagc cacagagaga atttatcatt tcgtggtggg gcagatggtt 900  
 tattatcgt gcgtccaggc atacagggtc ctacacagag gtcctgctga gagcgtctgc 960  
 aaaaatgaccc acgggaagac aaggtggacc cagccccagc tcatatgcac aggtgaaatg 1020  
 gagaccagtc agttccagg tgaagagaag cctcaggcaa gccccgaagg ccgtcctgag 1080  
 agtgagactt cctgcctcgta cacaacaaca gatttcaaa tacagacaga aatggctgca 1140  
 accatggaga cgtccatatt tacaacagag taccagggtg gacatcacca tcaccatcac 1200  
 taataa 1206

<210> 33

<211> 1194

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)4-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 33

atggacagga tgcaactcct gtcttgattt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60  
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcattt actgctggat 120  
 ttacagatga ttgttaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180  
 acattnaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatctca gtgtctagaa 240  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aattnagctc aaagaaaaaa ctttcactta 300

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaaactaaa gggatctgaa 360  
 acaacattca tggatgtataa tgctgtatgg acagcaacca ttgttagatt tctgaacaga 420  
 tggattacct ttgtcaag catcatctca acactgactg gtggaggttc tggtggaggt 480  
 tcaggtggag gttcggtgg aggttcttagt ctctgtgacg atgaccgcgc agagatccca 540  
 cacgccacat tcaaagccat ggcctacaag gaaggaacca tggaaactg tgaatgcaag 600  
 agaggtttcc gcagaataaa aagcgggtca ctctatatgc tctgtacagg aaactctagc 660  
 cactcgtcct gggacaacca atgtcaatgc acaagctcg ccactcgaa cacaacgaa 720  
 caagtgacac ctcaacactga agaacagaaa gaaaggaaaa ccacagaaat gcaaagtcca 780

atgcagccag tggaccaagc gagccttcca ggtcactgca gggacccctcc accatggaa 840

aatgaagcca cagagagaat ttatcattc gtgggggc agatggttt ttatcagtgc 900  
 gtccaggat acaggctct acacagaggc cctgctgaga gcgtctgcaa aatgaccac 960  
 ggaaagacaa ggtggaccca gccccagctc atatgcacag gtgaaatgga gaccagtc 1020  
 tttccaggta aagagaagcc tcaggcaagc cccgaaggcc gtcctgagag tgagacttcc 1080  
 tgcctgtca caacaacaga tttcaaata cagacagaaa tggctgcaac catggagacg 1140  
 tccatatttca acacagagta ccagggtgga catcaccatc accatcacta ataa 1194

&lt;210&gt;

34

&lt;211&gt; 1182

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 34

atggacagga tgcaactcct gtctgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60  
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120  
 ttacagatga tttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180  
 acatthaat tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatctca gtgtctgaa 240  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aattagctc aaagaaaaaa ctttactta 300

agacccaggc acttaatcag caatatcaac gtaatagtc tggaactaaa gggatctgaa 360  
 acaacattca tggtaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420  
 tggattaccc ttgtcaaag catcatctca acactgactg gtggaggtt tggggaggt 480  
 tcaggtggag gttcgagct ctgtgacgat gacccgcac agatcccaca cgccacattc 540  
 aaagccatgg cctacaagga aggaaccatg ttgaactgtg aatgcaagag aggttccgc 600  
 agaataaaaa gcggtcact cttatgctc tgtacaggaa actctagcca ctcgtctgg 660  
 gacaaccaat gtcaatgcac aagctctgcc actcggaaaca caacgaaaca agtgacacct 720  
 caacctgaag aacagaaaga aaggaaaacc acagaaatgc aaagtccaaat gcagccagtg 780

gaccaagcga gcctccagg tcaactgcagg gaacctccac catggaaaa tgaagccaca 840  
 gagagaattt atcatttcgt ggtggggcag atggttattt atcagtgcgt ccagggatac 900  
 agggctctac acagaggctcc tgctgagagc gtctgaaaaa tgacccacgg gaagacaagg 960  
 tggacccagc cccagctcat atgcacaggt gaaatggaga ccagtcagtt tccaggtgaa 1020  
 gagaaggcctc aggcaagccc cgaaggccgt cctgagagtg agacttcctg cctcgtcaca 1080

acaacagatt ttcaaataca gacagaaatg gctgcaacca tggagacgtc catattaca 1140

acagagtacc agggtgaca tcaccatcac catcactaat aa 1182

<210>

35

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Kozak consensus

<400> 35

gccggccrcca ugg 13

<210> 36

<211> 396

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 36

Met Tyr Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala

20 25 30

Glu Ala Gln His Leu

35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu

85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe

100 105 110

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

355 360 365

Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala

370 375 380

Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys

385 390 395

<210> 37

<211> 396

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized mature form of IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 37

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala

20 25 30

Glu Ala Gln His Leu

35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu

85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe

100 105 110

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

115 120 125

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp

130 135 140

Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys

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

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 397

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly4Ser)5-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 38

Met Asp 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 Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr

180 185 190

Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys

195 200 205

Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys

210 215 220

Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr

225 230 235 240

Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu

245 250 255

Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro

260 265 270

Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp

275 280 285

Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met

290 295 300

Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro

305 310 315 320

Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln

325 330 335

Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly

340 345 350

Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr

355 360 365

Ser Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala

370 375 380

Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

385 390 395

<210> 39

<211> 377

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized mature form of human IL-2 (Gly4Ser)5-  
extracellular domain of IL-2 R

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Leu

145 150 155 160

Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met

165 170 175

Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe

180 185 190

Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser

195 200 205

Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr

210 215 220

Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu

225 230 235 240

Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala

245 250 255

Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala

260 265 270

Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln

275 280 285

Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val

290 295 300

Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile

305 310 315 320

Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro

325 330 335

Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val

340 345 350

Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu

355 360 365

Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

370 375

<210> 40

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence (Gly4Ser)4

<400> 40

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 41

<211> 25

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Linker sequence (Gly4Ser)5

&lt;400&gt; 41

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20 25

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 1215

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 42

atggacagca tgcagctcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgctcct tgtcaacagc 60  
 gcacccactt caagctctac ttcaagctct acagcgaaag cacagcagca gcagcagcag 120  
 cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgatggacc tacaggagct cctgagcagg 180  
 atggagaatt acaggaacct gaaactcccc aggatgctca cttcaaaatt ttacttgccc 240

aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgcgg 300  
 catgttctgg atttgactca aagcaaaagc tttcaattgg aagatgctga gaatttcatac 360  
 agcaaatatca gagtaactgt tgtaaaacta aagggtctg acaacacatt tgagtgc当地 420  
 ttcgatgatg agtcagcaac tgtgggtggac tttctgagga gatggatagc cttctgtcaa 480  
 agcatcatct caacaagccc tcaaggtgga ggttctggc gaggttcagg tggaggttcg 540  
 gaactgtgtc tgtatgaccc acccgaggc cccaatgcca cattcaaagc cctctctac 600  
 aagaacggca ccatcctaaa ctgtgaatgc aagagaggtt tccgaagact aaaggaattt 660  
 gtctatatgc gttgcttagg aaactcctgg agcagcaact gccagtgcac cagcaactcc 720

catgacaaat cgagaaagca agttacagct caacttgaac accagaaaga gcaacaaacc 780  
 acaacagaca tgcagaagcc aacacagtct atgcaccaag agaaccttac aggtcactgc 840  
 agggagccac ctccctggaa acatgaagat tccaaagagaa tctatcattt cgtgaaagga 900

cagagtgttc actacgagtg tattccggga tacaaggctc tacagagagg tcctgttatt 960  
 agcatctgca agatgaagtg tggaaaacg gggggactc agccccagct cacatgtta 1020  
 gatgaaagag aacaccacccg atttctggct agtgaggaat ctaaggaag cagaaattct 1080  
 tctccgaga gtgagacttc ctgccccata accaccacag acttccacaa acccacagaa 1140  
 acaactgcaa tgacggagac atttgtgctc acaatggagt ataagggtgg acatcaccat 1200

caccatcaact aataa 1215

<210> 43

<211> 360

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized mature form IL-2 (Gly3Ser)2-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 43

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

130	135	140
-----	-----	-----

Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala  
 145 150 155 160  
 Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg  
 165 170 175  
 Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser  
 180 185 190  
 His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg  
 195 200 205  
 Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg  
 210 215 220  
 Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser  
 225 230 235 240  
 Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr  
 245 250 255  
 Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys  
 260 265 270  
 Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys  
 275 280 285  
 Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys  
 290 295 300  
 Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln  
 305 310 315 320  
 Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr  
 325 330 335  
 Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr  
 340 345 350  
 Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln  
 355 360  
  
 <210> 44  
 <211> 380  
 <212> PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)2-  
extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 44

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

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

210	215	220	
Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu			
225	230	235	240
Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val			
245	250	255	
Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu			
260	265	270	
Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val			
275	280	285	
Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala			
290	295	300	
Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro			
305	310	315	320
Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu			
325	330	335	
Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser			
340	345	350	
Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala			
355	360	365	
Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln			
370	375	380	
<210> 45			
<211> 355			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthesized mature form IL-2 (Gly3)- extracellular			
domain of IL-2 R			
<400> 45			
Ala Pro Thr 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 Gly Gly Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro

130 135 140

Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr

145 150 155 160

Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly

165 170 175

Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp

180 185 190

Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln

195 200 205

Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met

210 215 220

Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys

225 230 235 240

Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His

245 250 255

Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg

260 265 270

Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly

275 280 285

Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu

290 295 300

Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly

305 310 315 320

Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln

325 330 335

Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr

340 345 350

Glu Tyr Gln

355

<210> 46

<211> 375

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3)-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 46

Met Asp 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 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 Gly Gly Glu Leu Cys Asp

145 150 155 160

Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr

165 170 175

Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg

180 185 190

Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His

195 200 205

Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn

210 215 220

Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys

225 230 235 240

Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu

245 250 255

Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu

260 265 270

Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val

275 280 285

Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys

290 295 300

Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr

305 310 315 320

Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala

325 330 335

Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr

340 345 350  
 Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser

355 360 365  
 Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

370 375  
 <210> 47

<211> 1170

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)2-  
 extracellular domain of IL-2 R

<400> 47

atggacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60  
 gcacccatctt caagttctac aaagaaaaaca cagctacaac tggagcattt actgcgtggat 120  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180

acattnaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatttca gtgtctagaa 240  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcata aattnagctc aaagcaaaaa ctttactta 300  
 agacccaggg acttaatcg caatatcaac gtaatagttc tggaaactaaa gggatctgaa 360  
 acaacattca tggatgtataa tgctgtatgg acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420  
 tggattacct tttgtcaag catcatctca acactgactg gtggaggttc tggatggatgt 480  
 tcagagctct gtgacgatga cccgccagag atccccacacg ccacattcaa agccatggcc 540  
 tacaaggaag gaaccatgtt gaactgtgaa tgcaagagag gttccgcag aataaaaagc 600  
 gggtcactct atatgctctg tacaggaaac tctagccact cgtcctggaa caaccaatgt 660

caatgcacaa gctctgccac tcggaacaca acgaaacaag tgacacctca acctgaagaa 720  
 cagaaagaaa gggaaaccac agaaatgcaa agtccaatgc agccagtgaa ccaagcgagc 780  
 cttccaggcactgc actgcaggga acctccacca tggaaaatg aagccacaga gagaatttat 840  
 catttcgtgg tggggcagat ggtttattat cagtgcgtcc agggatacag ggctctacac 900  
 agaggctctg ctgagagcgt ctgcaaaatg acccacggga agacaaggtg gaccctggcc 960  
 cagctcatat gcacaggtga aatggagacc agtcagttc caggtgaaga gaaggctcag 1020  
 gcaagccccg aaggccgtcc tgagagttagt acttcctgcc tcgtcacaac aacagattt 1080

caaatacaga cagaaatggc tgcaaccatg gagacgtcca tatttacaac agagtaccag 1140

ggtgacatc accatcacca tcactaataa 1170

<210> 48

<211> 1155

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3)-

extracellular domain of IL-2 R

<400> 48

atggacagga tgcaactcct gtctgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120

ttacagatga tttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180

acattnaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatttca gtgtctagaa 240

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa cttcactta 300

agacccaggg acttaatcg caatatcaac gtaatagtc tggactaaa gggatctgaa 360

acaacattca tgggtgaata tgctgtatgac acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420

tggattacct ttgtcaag catcatctca acactgactg gtggaggtga gctctgtgac 480

gatgaccgc cagagatccc acacgccaca ttcaaagcca tggctacaa ggaaggaacc 540

atgttgaact gtgaatgcaa gagaggttc cgccaaataa aaagcgggtc actctatatg 600

ctctgtacag gaaactctag ccactcggtcc tggacaacc aatgtcaatg cacaagctc 660

gccactcgga acacaacgaa acaagtgaca cctcaacctg aagaacagaa agaaaggaaa 720

accacagaaa tgcaaagtcc aatgcagcca gtggaccaag cgagccccc aggtcactgc 780

aggaaacctc caccatggga aatgaagcc acagagagaa ttatcattt cgtgggtggg 840

cagatggttt attatcgatg cgtccaggga tacagggttc tacacagagg tcctgctgag 900

agcgtctgca aatgaccca cggaaagaca aggtggaccc agccccagct catatgcaca 960

ggtgaaatgg agaccagtca gtttccaggt gaagagaagc ctcaggcaag ccccgaaaggc 1020

cgtccctgaga gtgagacttc ctgcctcgatc acaacaacag atttcaaat acagacagaa 1080

atggctgcaa ccatggagac gtccatattt acaacagagt accagggtgg acatcaccat 1140

caccatcaact aataa 1155

<210> 49

&lt;211&gt; 1221

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly4Ser)5-

extracellular domain of IL-2 R

&lt;400&gt; 49

atggacagga tgcaactcct gtcttgattt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60  
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcattt actgctggat 120  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180  
 acatthaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatctca gtgtctagaa 240  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagaaaaaa ctttcactta 300

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaaactaaa gggatctgaa 360  
 acaacattca tgggtgaata tgctgtatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420  
 tggattaccc tttgtcaag catcatctca acactgactg gtggaggtgg atcaggtgga 480  
 ggtggatctg gtggaggtgg atcaggtgga ggtggatccg gtggaggtgg atctgagctc 540  
 tgtgacgatg accccggaga gatcccacac gccacattca aagccatggc ctacaaggaa 600  
 ggaaccatgt tgaactgtga atgcaagaga ggtttccgca gaataaaaaag cgggtcactc 660  
 tataatgtct gtacaggaaa ctctagccac tcgtcctggg acaaccaatg tcaatgcaca 720  
 agctctgcca ctggAACAC aacgaaacaa gtgacaccc aacctgaaga acagaaagaa 780

aggaaaaacca cagaaatgca aagtccaaatg cagccagttt accaagcgag cttccaggt 840  
 cactgcaggg aaccccccacc atggggaaaat gaagccacag agagaatttta tcatttcgtg 900  
 gtggggcaga tggtttattt tcaagtgcgtc caggataca gggctctaca cagaggtcct 960  
 gctgagagcg tctgcaaaat gacccacggg aagacaaggt ggacccagcc ccagctata 1020  
 tgcacaggtg aatggagac cagtcagttt ccaggtgaag agaagcctca ggcaagcccc 1080  
 gaaggccgtc ctgagagtga gacttcctgc ctgcacaa caacagattt tcaaatacag 1140  
 acagaaatgg ctgcaaccat ggagacgtcc atatttacaa cagagtacca gggtgacat 1200  
 caccatcacc atcactaata a 1221

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; (Gly4Ser)3 linker

&lt;400&gt; 50

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1

5

10

15

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; (Gly4Ser)2 linker

&lt;400&gt; 51

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1

5

10

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; (Gly4Ser)1 linker

&lt;400&gt; 52

Gly Gly Gly Gly Ser

1

5

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Kozak sequence

&lt;400&gt; 53

gccaccatgg

10

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 412

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form of IL-2

(Gly4Ser)4-extracellular domain of IL-2 R + glycine  
spacer and poly-histidine region

&lt;400&gt; 54

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

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

195	200	205	
Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg			
210	215	220	
Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser			
225	230	235	240
Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln			
245	250	255	
Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp			
260	265	270	
Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His			
275	280	285	
Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr			
290	295	300	
His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr			
305	310	315	320
Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys			
325	330	335	
Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg			
340	345	350	
Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn			
355	360	365	
Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe			
370	375	380	
Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr			
385	390	395	400
Met Glu Tyr Lys Gly Gly His His His His His His			
405	410		
<210> 55			
<211> 417			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			

<223> Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly4Ser)5-  
extracellular domain of IL-2 R + glycine spacer  
and poly-histidine region

<400> 55

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala  
20 25 30

Glu Ala Gln His Leu  
35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn  
50 55 60

Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu  
65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu  
85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe  
100 105 110

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

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp  
130 135 140

Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys  
145 150 155 160

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
165 170 175

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
180 185 190

Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr  
195 200 205

Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys

210	215	220
Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu		
225	230	235
Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp		
245	250	255
Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln		
260	265	270
Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu		
275	280	285
Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Trp Lys His Glu Asp		
290	295	300
Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu		
305	310	315
Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile		
325	330	335
Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr		
340	345	350
Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser		
355	360	365
Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile		
370	375	380
Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu		
385	390	395
Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Gly Gly His His His His		
405	410	415
His		

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 408

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly3Ser)4-  
extracellular domain of IL-2 R + glycine spacer  
and poly-histidine region

<400> 56

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala

20 25 30

Glu Ala Gln His Leu

35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu

85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe

100 105 110

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

115 120 125

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp

130 135 140

Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys

145 150 155 160

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Ser Gly Gly

165 170 175

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro

180 185 190

Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly

195 200 205

Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu

210	215	220
Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln		
225	230	235
Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln		
245	250	255
Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro		
260	265	270
Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro		
275	280	285
Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu		
290	295	300
Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln		
305	310	315
Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly		
325	330	335
Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg		
340	345	350
Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu		
355	360	365
Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr		
370	375	380
Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys		
385	390	395
Gly Gly His His His His His		
405		

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 404

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized mature form of IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of IL-2 R + glycine spacer

and poly-histidine region

<400> 57

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala

20 25 30

Glu Ala Gln His Leu

35 40 45

Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu

85 90 95

Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe

100 105 110

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

115 120 125

Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp

130 135 140

Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys

145 150 155 160

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Ser Gly Gly Gly

165 170 175

Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro

180 185 190

Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn

195 200 205

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met

210 215 220

Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn

225	230	235	240
Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln			
245	250	255	
Lys Glu Gln Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met			
260	265	270	
His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys			
275	280	285	
His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val			
290	295	300	
His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala			
305	310	315	320
Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro			
325	330	335	
Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser			
340	345	350	
Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser			
355	360	365	
Cys Pro Ile Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala			
370	375	380	
Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Gly Gly His His			
385	390	395	400
His His His His			

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 388

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)2-  
extracellular domain of IL-2 R + glycine spacer

and poly-histidine region

&lt;400&gt; 58

Met Asp 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 Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His 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 Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

165 170 175

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

180 185 190

Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

195 200 205

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

210 215 220

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

225 230 235 240

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

245 250 255

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

260 265 270

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

275 280 285

Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

290 295 300

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

305 310 315 320

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu

325 330 335

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

340 345 350

Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala

355 360 365

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Gly Gly His His

370 375 380

His His His His

385

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 392

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form of IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of IL-2 R + glycine spacer

and poly-histidine region

&lt;400&gt; 59

Met Asp 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 Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro

165 170 175

His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn

180 185 190

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr

195 200 205

Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys

210 215 220

Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro

225 230 235 240

Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro

245 250 255

Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro

260 265 270

Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val

275 280 285

Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His

290 295 300

Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg

305 310 315 320

Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln

325 330 335

Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu

340 345 350

Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr

355 360 365

Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

370 375 380

Gly Gly His His His His His

385 390

<210> 60

<211> 396

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)4-

extracellular domain of IL-2 R + glycine spacer

and poly-histidine region

<400> 60

Met Asp 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 Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

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

50	55	60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65	70	75
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
85	90	95
Asn Phe His Leu 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 Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
145	150	155
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro		
165	170	175
Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly		
180	185	190
Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser		
195	200	205
Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp		
210	215	220
Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys		
225	230	235
Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu		
245	250	255
Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His		
260	265	270
Cys Arg Glu Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr		
275	280	285
His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr		
290	295	300

Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His  
 305 310 315 320

Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met  
 325 330 335

Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu  
 340 345 350

Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe  
 355 360 365

Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr  
 370 375 380

Thr Glu Tyr Gln Gly Gly His His His His His His

385 390 395

<210> 61

<211> 400

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly4Ser)4-

extracellular domain of IL-2 R + glycine spacer

and poly-histidine region

<400> 61

Met Asp 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 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 Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys

165 170 175

Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala

180 185 190

Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg

195 200 205

Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser

210 215 220

His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg

225 230 235 240

Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg

245 250 255

Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser

260 265 270

Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr

275 280 285

Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys

290 295 300

Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys

305 310 315 320

Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys

325	330	335
Thr Gly Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln		
340	345	350
Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr		
355	360	365
Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr		
370	375	380
Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Gly His His His His His		
385	390	395
400		
<210> 62		
<211> 364		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthesized mature form IL-2 (Gly3Ser)3-		
extracellular domain of mutIL-2 R		
<400> 62		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
15		
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		
35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu 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 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe

145 150 155 160

Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys

165 170 175

Arg Gly Phe Thr Ser Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr

180 185 190

Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser

195 200 205

Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val

225 230 235 240

Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu

245 250 255

Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val

260 265 270

Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala

275 280 285

Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro

290 295 300

Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu

305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser

325 330 335

Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala

340 345 350

Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln

355

360

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 1182

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly3Ser)3-

extracellular domain of mutIL-2 R Mut

&lt;400&gt; 63

atggacagga tgcactcct gtctgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60  
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180  
 acatctaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatttca gtgtctagaa 240  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aat tagctc aaagcaaaaa ctttactta 300  
 agacccaggg acttaatcg caatatcaac gtaatagttc tggactaaa gggatctgaa 360  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420

tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgactg gtggagggtc tgggtggagg 480  
 tcaggtggag gttcgagct ctgtgacgt gacccggccag agatcccaca cgccacattc 540  
 aaagccatgg cctacaagga aggaaccatg ttgaactgtg aatgcaagag aggtttcacc 600  
 tcaataaaaa gccccgtact ctatatgctc tgtacagggaa actctagcca ctcgtcctgg 660  
 gacaaccaat gtcaatgcac aagctctgcc actcggaaaca caacgaaaca agtgacacct 720  
 caacctgaag aacagaaaga aaggaaaacc acagaaatgc aaagtccaaat gcagccatg 780  
 gaccaagcga gccttccagg tcaactgcagg gaaacctccac catggaaaa tgaagccaca 840  
 gagagaattt atcatttcgt ggtggggcag atggtttatt atcagtgcgt ccagggatac 900

agggtctac acagagggtcc tgctgagagc gtctgaaaaa tgacccacgg gaagacaagg 960  
 tggacccaggc cccagctcat atgcacagggt gaaatggaga ccagtcagtt tccaggtgaa 1020  
 gagaagcctc aggcaagccc cgaaggccgt cctgagatg agacttccctg cctcgtcaca 1080  
 acaacagatt ttcaaataca gacagaaatg gctgcaacca tggagacgtc catatataca 1140  
 acagagtacc agggtggaca tcaccatcac catcaataat aa 1182

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 372

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Synthesized mature form IL-2 (Gly4Ser)4-  
extracellular domain of mutIL-2 R

&lt;400&gt; 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 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 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 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro

145 150 155 160

Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly

165 170 175

Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Thr Ser Ile Lys Ser

180 185 190

Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp

195 200 205

Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys

210 215 220

Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu

225 230 235 240

Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His

245 250 255

Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr

260 265 270

His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr

275 280 285

Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His

290 295 300

Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met

305 310 315 320

Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu

325 330 335

Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe

340 345 350

Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr

355 360 365

Thr Glu Tyr Gln

370

<210> 65

<211> 1206

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223

> Synthesized unprocessed form IL-2 (Gly4Ser)4-

extracellular domain of mutIL-2 R

<400> 65

atggacagga tgcaactcct gtcttgattt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagt 60

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggattt actgctggat 120

ttacagatga tttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180  
 acatttaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatctca gtgtctagaa 240  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aattagctc aaagaaaaa ctttactta 300  
 agacccaggg actaatcag caatatcaac gtaatagttc tgaaactaaa gggatctgaa 360

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420  
 tggattacct ttgtcaaag catcatctca acactgactg gtggaggtgg atctgggtgga 480  
 ggtggatcag gtggaggtgg atccggtgga ggtggatctg agctctgtga cgatgaccgg 540  
 ccagagatcc cacacgccac attcaaagcc atggcctaca aggaaggaac catgttgaac 600  
 tgtgaatgca agagaggtt cacctaata aaaagcggt cactctatat gctctgtaca 660  
 gaaactcta gccactcgtc ctgggacaac caatgtcaat gcacaagctc tgccactcg 720  
 aacacaacga aacaagtgac acctaacct gaagaacaga aagaaaggaa aaccacagaa 780  
 atgcaaagtc caatgcagcc agtggaccaa gcgagcctc caggtcactg cagggaccc 840

ccaccatggg aaaaatgaagc cacagagaga atttatcatt tcgtggtggg gcagatggtt 900  
 tattatcagt gcgtccaggg atacagggt ctacacagag gtcctgctga gagcgtctgc 960  
 aaaaatgaccc acgggaagac aagggtggacc cagccccagc tcatatgcac aggtgaaatg 1020  
 gagaccagtc agttccagg tgaagagaag cctcaggcaa gccccgaagg ccgtcctgag 1080  
 agtgagactt cctgcctcgta cacaacaaca gatttcaaa tacagacaga aatggctgca 1140  
 accatggaga cgtccatatt tacaacagag taccagggtg gacatcacca tcaccatcac 1200  
 taataa 1206