(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0097984
(43) 공개일자 2025년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C07K 14/55* (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
*A61P 31/00* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
*C07K 14/715* (2006.01) *C12N 15/62* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C07K 14/55* (2013.01)
*A61K 38/00* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7020373(분할)
(22) 출원일자(국제) 2019년03월27일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2020-7030629
원출원일자(국제) 2019년03월27일
심사청구일자 2022년03월25일
(85) 번역문제출일자 2025년06월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/024376
(87) 국제공개번호 WO 2019/191295
국제공개일자 2019년10월03일
(30) 우선권주장
62/649,379 2018년03월28일 미국(US)

(71) 출원인
**브리스톨-마이어스 스퀩 컴퍼니**
미국, 뉴저지 08543-4000, 프린스톤, 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
(72) 발명자
**스트러서스, 메리**
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
**데이비스, 조나단 해리**
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**양영준, 이귀동**

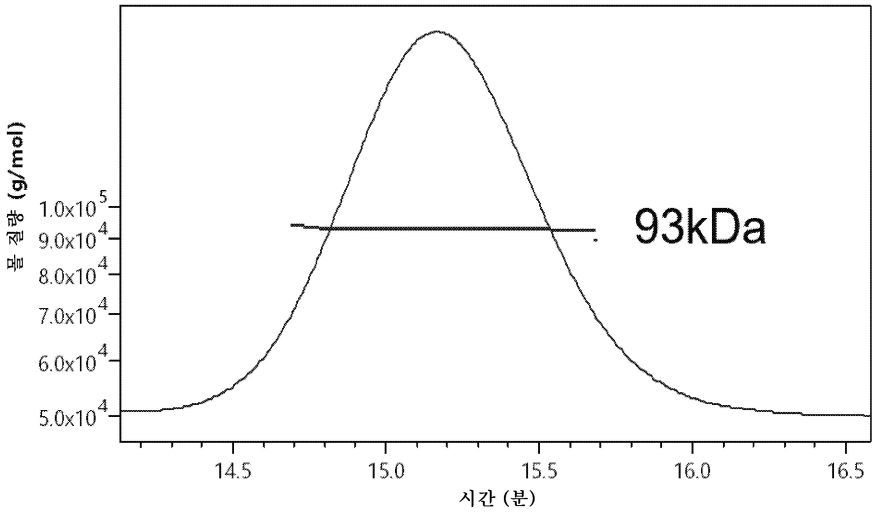
전체 청구항 수 : 총 1 항

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

## (57) 요 약

(a) 인터류킨-2 (IL2)를 포함하는 제1 폴리펩티드; (b) 제1 폴리펩티드에 인 프레임으로 융합된 제2 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질이 본원에 개시되며, 여기서 제2 폴리펩티드는 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2R)의 세포외 도메인을 포함하고, 여기서 IL2 또는 IL2R은 천연 IL2 또는 천연 IL2R과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화 부위를 포함한다. 융합 단백질의 생산 방법 및 치료적 사용 방법이 또한 개시된다.

## 대 표 도



(52) CPC특허분류
***A61P 31/00*** (2018.01)
***A61P 35/00*** (2018.01)
***C07K 14/7155*** (2013.01)
***C12N 15/62*** (2013.01)
*C07K 2319/32* (2013.01)
*C07K 2319/75* (2013.01)
(72) 발명자
**도일, 마이클 루이스**
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
**마디아, 프리얀카 아푸르바**
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

용도.

## 발명의 설명

## 기 술 분 야

[0001] 1. 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본원은 2018년 3월 28일에 출원된 미국 가출원 번호 62/649,379를 우선권 주장하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 2. EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록에 대한 참조

[0004] 본 출원과 함께 출원된 ASCII 텍스트 파일 (파일명: 3338_100PC01_Seqlisting_ST25.txt; 크기: 354,542 바이트; 및 생성일: 2019년 3월 27일)의 전자적으로 제출된 서열 목록의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0005] 3. 분야

[0006] 본원에 개시된 대상은 일반적으로 인터루킨-2/인터루킨-2 수용체-알파 융합 단백질을 사용하여 면역 반응을 조정하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

## 배 경 기 술

[0007] 4. 개시내용의 배경

[0008] 인터류킨-2 (IL2 또는 IL-2)는 면역계의 주요 측면을 조절하는 생물학적 시토카인이다. IL2는 암, 염증성 질환 또는 자가면역 질환을 갖는 환자에서 면역 반응을 부스팅하기 위한 시도에 사용되어 왔다. IL2는 항원-활성화된 T 세포의 클론 확장을 비롯한 면역 반응을 촉진하고, CD4+ T-헬퍼 (Th)1 및 Th2 세포의 발생을 유도하고, CD8+ 세포독성 T 림프구 (CTL)를 최종 분화시키고, CD4+ Th17 및 T-여포성 헬퍼 (Tfh) 세포의 발생에 대항하는 강력한 T 세포 성장 인자이다. IL2는 또한 T 세포 기억 회상 반응을 형성한다.

[0009] 임상 시험은 암 및 HIV/AIDS를 갖는 환자에서 T 및 NK 세포를 부스팅하기 위해 고용량의 IL2의 주입에 의해 (전형적으로, 반복적으로 > 500,000 유닛/kg) IL2의 T 세포 활성화 특성을 활용하였다. 실제로, IL2는 흑색종 및 신세포 암종을 갖는 환자에서의 사용에 대해, 일부 (대략 5%)가 완전 완화를 나타냈기 때문에 FDA에 의해 승인되었다. 그럼에도 불구하고, 이들 및 다른 암에서 반응률은 낮았고, 이 요법은 심각한 독성을 동반하였다. 마찬가지로, IL2는 HIV/AIDS 환자에서 면역을 촉진하는 데 효과적이지 않은 것으로 간주되었다. 이러한 세팅에서 고용량 IL2의 불량한 효능은 부분적으로 Treg의 동반 확장에 기인한다.

[0010] 보다 최근에는, 자기 조직의 자가면역-유사 공격과 연관된 원치 않는 면역 반응을 억제하기 위해 관용을 선택적으로 부스팅하는 데 IL2의 보다 낮은 용량이 사용되었다. 이들 저용량의 IL2는 자가반응성 T 세포의 증진 또는 재활성화의 어떠한 징후도 나타내지 않았다. 전임상 연구는 낮은 IL2R 신호전달이 T 이펙터 (Teff) 세포가 아니라 Treg의 주요 활성을 선택적으로 촉진한다는 것 및 낮은 수준의 IL2에 의한 마우스의 처리가 자가면역을 방지한다는 것을 제시하였다. 현재, 과다활성 면역 반응을 갖는 다수의 환자는 저용량 IL2 (주기적으로 0.5-2백만 유닛)로 치료되고 있다. 지금까지의 경험은 이러한 요법이 자가-공격성 T 세포의 재활성화의 지표 없이 안전하고, Treg는 거의 모든 환자에서 증가하며, 이는 종종 임상 개선을 동반한다는 것이었다. 그럼에도 불구하고, IL2는 그의 효능을 제한하는 매우 짧은 생체내 반감기 및 고용량에서의 독성을 비롯한, 치료제로서의 중요한 결점을 갖는다. 이러한 이유로, 사용을 위한 개선된 약동학 및 반응의 지속성을 갖는 새로운 IL2 생물제제가 요구된다.

## 발명의 내용

[0011] 5. 개시내용의 요약

[0012] 본 개시내용은 (a) 인터류킨-2 (IL2) 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; (b) 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2Rα) 폴리펩티드의 세포외 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질을 포함하며; 여기서 (i) IL2Rα 폴리펩티드의 세포외 도메인은 천연 IL2Rα의 세포외 도메인 (서열식별번호(SEQ ID NO): 7)과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖고/거나; (ii) IL2 폴리펩티드는 천연 IL2 (서열식별번호: 2)와 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖고; 여기서 융합 단백질은 IL2 활성을 갖는다. 일부 실시양태에서, IL2Rα 폴리펩티드의 세포외 도메인은 천연 IL2Rα의 세포외 도메인 (서열식별번호: 7)과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화, 적어도 2개 더 적은 글리코실화, 적어도 3개 더 적은 글리코실화, 적어도 4개 더 적은 글리코실화, 적어도 5개 더 적은 글리코실화, 적어도 6개 더 적은 글리코실화, 적어도 7개 더 적은 글리코실화, 적어도 8개 더 적은 글리코실화 또는 적어도 9개 더 적은 글리코실화를 갖는다. 일부 실시양태에서, IL2 폴리펩티드는 천연 IL2 (서열식별번호: 2)와 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖는다.

[0013] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 폴리펩티드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드는 서열식별번호: 2와 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제2 폴리펩티드를 포함하며, 여기서 제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 12와 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0014] 일부 실시양태에서, 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖는 IL2Rα 폴리펩티드의 세포외 도메인은 글리코실화를 제거하는 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 O-글리코실화 및/또는 N-글리코실화를 제거한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 O-글리코실화를 제거한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 N-글리코실화를 제거한다.

[0015] 일부 실시양태에서, IL2Rα 폴리펩티드의 세포외 도메인의 돌연변이는 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 167 내지 219, 아미노산 168 내지 219, 아미노산 169 내지 219, 아미노산 170 내지 219, 아미노산 171 내지 219, 아미노산 172 내지 219, 아미노산 173 내지 219, 아미노산 174 내지 219, 아미노산 175 내지 219, 아미노산 176 내지 219, 아미노산 177 내지 219, 아미노산 178 내지 219, 아미노산 179 내지 219, 아미노산 180 내지 219, 아미노산 181 내지 219, 아미노산 182 내지 219, 아미노산 183 내지 219, 아미노산 184 내지 219, 아미노산 185 내지 219, 아미노산 186 내지 219, 아미노산 187 내지 219, 아미노산 188 내지 219, 아미노산 189 내지 219, 아미노산 190 내지 219, 아미노산 191 내지 219 또는 아미노산 192 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7에 상응하는 167, 169, 171 내지 192로부터 219까지의 아미노산의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7에 상응하는 170 내지 219의 결실을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 11이다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 12이다.

[0016] 일부 실시양태에서, 돌연변이는 글리코실화된 아미노산의 글리코실화되지 않은 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하는 아미노산의 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하지 않는 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 아미노산 N49, 아미노산 N68, 아미노산 T74, 아미노산 T85, 아미노산 T197, 아미노산 T203, 아미노산 T208 및 아미노산 T216 또는 그의 임의의 조합에서 이루어지며, 여기서 아미노산 위치는 서열식별번호: 7에 상응한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 아스파라긴으로부터 알라닌, 트레오닌, 세린, 아르기닌, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 트레오닌으로부터 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다.

[0017] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 N49이다. 일부 실시양태에서, N49는 알라닌, 트레오닌, 세린, 아르기닌, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0018] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 N68이다. 일부 실시양태에서, N68은 알라닌, 트레오닌, 세린, 아르기닌, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌,

프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0019] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T74이다. 일부 실시양태에서, T74는 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0020] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T85이다. 일부 실시양태에서, T85는 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0021] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T197이다. 일부 실시양태에서, T197은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0022] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T203이다. 일부 실시양태에서, T203은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0023] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T208이다. 일부 실시양태에서, T208은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0024] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T216이다. 일부 실시양태에서, T216은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0025] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 아미노산 S50, 아미노산 S51, 아미노산 T69, 아미노산 T70, 아미노산 C192 또는 그의 임의의 조합에서 이루어지며, 여기서 아미노산 위치는 서열식별번호: 7에 상응한다.

[0026] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 S50에서 이루어진다. 일부 실시양태에서, S50은 프롤린으로 돌연변이된다.

[0027] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 S51이다. 일부 실시양태에서, S51은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0028] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T69이다. 일부 실시양태에서, T69는 프롤린으로 돌연변이된다.

[0029] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 T70이다. 일부 실시양태에서, T70은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0030] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 C192이다. 일부 실시양태에서, C192는 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0031] 일부 실시양태에서, 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖는 IL2 폴리펩티드는 글리코실화를 제거하는 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 글리코실화된 아미노산의 글리코실화되지 않은 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하는 아미노산의 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하지 않는 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 알라닌으로부터 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신

및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 트레오닌으로부터 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 시스테인으로부터 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 시스테인으로부터 세린으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 시스테인으로부터 알라닌으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 시스테인으로부터 발린으로의 치환이다.

[0032] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 서열식별번호: 2에 상응하는 것과 비교하여 아미노산 T3에서 이루어진다. 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 아미노산 C125에서 이루어진다. 일부 실시양태에서, 아미노산 C125에서의 치환은 C125S, C125A 및 C125V로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0033] 일부 실시양태에서, 돌연변이는 결실이다. 일부 실시양태에서, 결실은 아미노산 A1에서 이루어진다.

[0034] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 효소적으로 또는 화학적으로 탈글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 알칼리, 히드라진분해, PNGase F, 엔도 H, O-글리코시다제 또는 그의 임의의 조합에 의해 탈글리코실화된다.

[0035] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드 사이에 인 프레임으로 융합된 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 글리신/세린 링커이다. 일부 실시양태에서, 글리신/세린 링커는 $(GS)_n$, $(GGS)_n$, $(GGGS)_n$, $(GGGGS)_n$ 또는 $(GGGGS)_n$의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10의 정수이다. 일부 실시양태에서, 글리신/세린 링커는 $(GGGS)_3$의 아미노산 서열을 포함한다.

[0036] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 폴리펩티드 및/또는 제2 폴리펩티드에 융합된 이종 모이어티를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 이종 모이어티는 반감기 연장 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 이종 모이어티는 비-폴리펩티드 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이종 모이어티는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이종 모이어티는 알부민, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분, 이뮤노글로불린-결합 폴리펩티드, 이뮤노글로불린 G (IgG), 알부민-결합 폴리펩티드 (ABP), PAS화 모이어티, HES화 모이어티, XTEN, PEG화 모이어티, Fc 영역, 및 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0037] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 13으로 이루어지는 폴리펩티드보다 더 안정적이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 (i) 참조 단백질과 비교하여 증가된 열역학적 안정성; (ii) 참조 단백질과 비교하여 증가된 TM; (iii) 참조 단백질과 비교하여 분해에 대한 증가된 저항성; (iv) 참조 단백질과 비교하여 변형에 대한 증가된 저항성; (v) 참조 단백질과 비교하여 증가된 생체내 안정성; 및 (vi) 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 특성을 가지며, 여기서 참조 단백질은 (i) 인터류킨-2 (IL2) 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; (b) 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2Rα) 폴리펩티드의 세포외 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하고; 융합 단백질과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖는다.

[0038] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 단량체이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 이량체이다. 일부 실시양태에서, 이량체는 2개의 단량체를 포함하고 단량체는 공유 결합을 통해 서로 회합된다. 일부 실시양태에서, 이량체는 2개의 단량체를 포함하고 단량체는 비-공유 결합을 통해 회합된다.

[0039] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 13으로 이루어지는 폴리펩티드의 약동학적 특성과 비교하여 증가된 반감기, 증가된 $C_{max}$, 증가된 AUC, 증가된 $C_{min}$, 감소된 클리어런스, 개선된 생체이용률, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 약동학적 특성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 연장된 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 연장된 반감기는 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 13으로 이루어지는 폴리펩티드의 반감기와 비교하여 적어도 약 1.5배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 21배 또는 적어도 약 22배이다.

[0040] 일부 실시양태에서, 1종 이상의 융합 단백질이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 1종 이상

의 융합 단백질을 포함하는 조성물이 본원에 제공된다.

[0041] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질 중 어느 하나를 코딩하는 핵산이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질 중 어느 하나를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터가 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질 중 어느 하나를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포가 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵 세포이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포, 곤충 세포, 효모 세포, 트랜스제닉 포유동물 세포 및 식물 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 원핵 세포이다. 일부 실시양태에서, 원핵 세포는 박테리아 세포이다.

[0042] 일부 실시양태에서, (a) 본원에 개시된 융합 단백질, 본원에 개시된 조성물, 본원에 개시된 핵산, 본원에 개시된 벡터 또는 본원에 개시된 숙주 세포; 및 (b) 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 본원에 제공된다.

[0043] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질, 본원에 개시된 조성물, 본원에 개시된 핵산, 본원에 개시된 벡터, 또는 본원에 개시된 숙주 세포 및 융합 단백질을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트가 본원에 제공된다.

[0044] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 숙주 세포를 적합한 조건 하에 배양하고 융합 단백질을 회수하는 것을 포함하는 융합 단백질을 생산하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵 세포 또는 원핵 세포이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포, 곤충 세포, 진균 세포, 식물 세포, 트랜스제닉 포유동물 세포 또는 박테리아 세포이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 CHO 세포, HEK 293 세포, NS0 세포, Per C6 세포, BHK 세포 및 COS 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 박테리아 세포는 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*)이다.

[0045] 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본원에 개시된 융합 단백질, 본원에 개시된 조성물, 본원에 개시된 핵산, 본원에 개시된 벡터, 본원에 개시된 숙주 세포, 또는 본원에 개시된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 방광암, 유방암, 자궁암, 자궁내막 암종, 난소암, 결장직장암, 결장암, 두경부암, 폐암, 위암, 배세포암, 골암, 편평 세포암, 피부암, 중추 신경계의 신생물, 림프종, 백혈병, 육종, 바이러스-관련 암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 위장암, 호지킨 또는 비-호지킨 림프종, 췌장암, 교모세포종, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 골수종, 타액선 암종, 신장암, 기저 세포 암종, 흑색종, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 고환암, 식도암 또는 두경부암 및 그의 임의의 조합이다.

[0046] 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 염증성 질환 또는 자가면역 질환이다. 일부 실시양태에서, 염증성 질환 또는 자가면역 질환은 제1형 당뇨병, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 복강 질환, 전신 홍반성 루푸스, 루푸스 신염, 피부 루푸스, 소아 특발성 관절염, 크론병, 궤양성 결장염 또는 전신 경화증, 이식편 대 숙주 질환, 건선, 원형 탈모증, HCV-유도된 혈관염, 쇼그렌 증후군, 천포창, 강직성 척추염, 베체트병, 베게너 육아종증, 다카야스병, 자가면역 간염, 경화성 담관염, 고우게로틴-쇼그렌(Gougerot-sjoegren) 및 대식세포 활성화 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0047] 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 감염성 질환이다. 일부 실시양태에서, 감염성 질환은 병원성 바이러스에 의해 유발된다. 일부 실시양태에서, 병원성 바이러스는 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), A형 간염, B형 간염, C형 간염, 포진 바이러스, 아데노바이러스, 인플루엔자 바이러스, 플라비바이러스, 에코바이러스, 리노바이러스, 콕사키 바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 볼거리 바이러스, 로타바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 파르보바이러스, 백시니아 바이러스, 인간 T-림프향성 (HTL) 바이러스, 뎅기 바이러스, 유두종 바이러스, 연속종 바이러스, 폴리오바이러스, 광견병 바이러스, 존 커닝햄(John Cunningham) (JC) 바이러스 및 아르보바이러스성 뇌염 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 감염성 질환은 병원성 박테리아에 의해 유발된다. 일부 실시양태에서, 병원성 박테리아는 클라미디아(chlamydia), 리케치아 박테리아(rickettsial bacteria), 미코박테리움(mycobacteria), 스타필로코쿠스(staphylococci), 스트렙토코쿠스(streptococci), 뉴모노코쿠스(pneumonococci), 메닝고코쿠스(meningococci) 및 고노코쿠스(gonococci), 클레브시엘라(klebsiella), 프로테우스(proteus), 세라티아(serratia), 슈도모나스(pseudomonas), 레지오넬라(legionella), 디프테리아(diphtheria), 살모넬라(salmonella), 바실루스(bacilli), 콜레라(cholera), 파상풍, 보툴리눔독소증, 탄저병, 흑사병, 렙토스피라증 및 라임병 박테리아로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 감염성 질환은 병원성 진균에 의해 유발된다. 일부 실시양태에서, 병원성 박테리아는 칸디다

(Candida) (알비칸스(albicans), 크루세이(krusei), 글라브라타(glabrata), 트로피칼리스(tropicalis) 등), 크립토코쿠스 네오포르만스(Cryptococcus neoformans), 아스페르길루스(Aspergillus) (푸미가투스(fumigatus), 니거(niger) 등), 뮤코랄레스(Mucorales) 속 (뮤코르(mucor), 압시디아(absidia), 리조푸스(rhizopus)), 스포로트릭스 쉔크키이(*Sporothrix schenkii*), 블라스토미세스 더마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*), 파라콕시디오이데스 브라실리엔시스(*Paracoccidioides brasiliensis*), 콕시디오이데스 임미티스(*Coccidioides immitis*) 및 히스토플라스마 캅술라툼(*Histoplasma capsulatum*)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 감염성 질환은 병원성 기생충에 의해 유발된다. 일부 실시양태에서, 병원성 기생충은 엔트아메바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*), 발란티디움 콜라이(*Balantidium coli*), 네글레리아 포울레리(Naegleria fowleri), 아칸트아메바(*Acanthamoeba*) 종, 지아르디아 람블리아(*Giardia lamblia*), 크립토스포리디움(*Cryptosporidium*) 종, 뉴모시스티스 카리니이(*Pneumocystis carinii*), 플라스모디움 비박스(*Plasmodium vivax*), 바베시아 미크로티(*Babesia microti*), 트리파노소마 브루세이(*Trypanosoma brucei*), 트리파노소마 크루지(*Trypanosoma cruzi*), 리슈마니아 도노바니(*Leishmania donovani*), 톡소플라스마 곤디이(*Toxoplasma gondii*) 및 니포스트롱길루스 브라실리엔시스(*Nippostrongylus brasiliensis*)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0048] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 대상체에게 제2 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 작용제는 PD-1 길항제, CTLA-4 길항제, TIM3 길항제, GITR 길항제, KIR 길항제, LAG3 길항제 또는 그의 임의의 조합이다. 일부 실시양태에서, 제2 작용제는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA-4 항체, 항-TIM3 항체, 항-KIR 항체, 항-GITR 항체, 항-LAG3 항체 또는 그의 임의의 조합이다. 일부 실시양태에서, 제2 작용제는 시토카인 억제제이다. 일부 실시양태에서, 시토카인 억제제는 IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF, IFN-γ 또는 그의 임의의 조합 중 1종 이상을 표적화한다.

[0049] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 국소, 표피 점막, 비강내, 경구, 질, 직장, 설하, 국소, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 또는 흉골내 경로를 통해 투여된다.

## 도면의 간단한 설명

[0050] 6. 도면의 간단한 설명

도 1은 SEC/MALS 정적 광 산란에 의해 측정시 서열식별번호: 16의 분자 질량이 93 kDa이라는 것을 보여준다. 폴리펩티드 쇄 단독의 이론적 질량은 37,812 Da (환원됨)이다. 관찰된 용액 질량은 그것이 글리코실화로 인해 질량의 약 19%를 갖는 동질의 동종이량체로서 존재한다는 것을 입증한다.

도 2는 표면 플라즈몬 공명 측정을 사용하여 인간 sCD25에 대한 IL2-CD25 융합 단백질 (서열식별번호: 16)의 원형 결합을 보여준다.

도 3은 Balb/C 마우스에서 표시된 융합 단백질의 0.5 mg/kg 단일 정맥내 (IV) 또는 피하 (SC) 용량 후 혈청 농도-시간 프로파일을 보여준다. 각각의 시점은 3마리 마우스로부터의 샘플의 평균을 나타낸다. 오차 막대는 표준 편차를 나타낸다.

도 4는 Balb/C 마우스에서 표시된 융합 단백질의 0.5 mg/kg 단일 정맥내 (IV) 또는 피하 (SC) 용량 후 혈청 농도-시간 프로파일을 보여준다. 각각의 시점은 3마리 마우스로부터의 샘플의 평균을 나타낸다. 오차 막대는 표준 편차를 나타낸다.

도 5는 시노몰구스 원숭이에서 hIL2-CD25 (22-212)의 0.075 mg/kg 단일 피하 (SC) 용량 후 혈청 농도-시간 프로파일을 보여준다. 각각의 시점은 3마리 원숭이로부터의 샘플의 평균을 나타낸다. 오차 막대는 표준 편차를 나타낸다.

도 6은 대표적인 공여자로부터의 인간 PBMC에서 STAT5 인산화를 유도하는 IL2-CD25 융합 단백질의 활성을 보여준다. 세포를 Treg ($CD4^+$, $foxp3^+$, $CD25^+$) 또는 Tconv ($CD4^+$, $foxp3^-$), $CD8^+$, 및 NK 세포 ($CD3^-$, $CD56^+$)에 대해 게이팅하고, 인큐베이션 후 pSTAT5에 대해 양성으로 염색된 세포의 백분율을 정량화하였다. 이들 실험으로부터 결정된 Treg에서의 pSTAT5 유도에 대한 $EC_{50}$은 hIL2-CD25(22-240), hIL2-CD25(22-212), 및 hIL2-CD25(22-187)에 대해 각각 10 ng/ml, 4.4 ng/ml, 및 4.6 ng/ml였다.

도 7은 말단절단된 융합 단백질이 전혈에서 IL2R을 자극하여 다양한 세포 유형에서 인산화된 STAT5를 유도하는 능력을 보여준다. IL2R 신호전달을, pSTAT5에 대한 세포내 염색 후 유동 세포측정법에 의해 측정하고 전혈 혼

합물에서 pSTAT5에 대해 양성으로 염색된 세포의 퍼센트를 결정함으로써 검출하였다. 대표적인 공여물에서 hIL2-CD25(22-240)의 효력을 hIL2-CD25(22-212)와 비교하였다. 인간 전혈에서 단백질을 적정하고, 세포내 pSTAT5 염색의 강도를 유동 세포측정법에 의해 측정하였다. Treg에서의 pSTAT5 유도에 대한 EC50은 hIL2-CD25(22-240)에 대해 22 ng/ml 및 hIL2-CD25(22-212)에 대해 36 ng/ml였다.

도 8a-도 8c는 인간화 면역계를 갖는 마우스에서 T 세포를 증가시키는 hIL2-CD25(22-240), hIL2-CD25(22-212) 및 hIL2-CD25(22-184)의 유사한 능력을 보여준다. NSG-huCD34 생착된 마우스에게의 융합 단백질의 투여(s.c.)를 3가지 용량에 대해 3일마다 수행하였다. 투여된 마우스의 비장으로부터의 Treg (도 8a), CD8 (도 8b), 및 NK 세포 (도 8c)의 분석을 유동 세포측정법에 의해 결정하였다.

도 9a 및 도 9b는 hIL2-CD25(22-212) (서열식별번호: 16)에 의한 PBMC (도 9a) 또는 전혈 농도 (도 9b)에 포함된 혼합 세포 집단에서 15분 후의 STAT5의 인산화를 보여준다.

도 10은 시험관내 인간 또는 마우스 혈청에서 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) 내의 (G3S)3 링커 안정성의 LC-MS/MS 기반 분석을 보여준다. 항-IL2 항체를 사용한 포획 후에 LC-MS/MS를 사용한 IL2 및 CD25의 피크 면적 비를 보고한다.

도 11은 0.075 mg/kg의 단일 피하 용량 후 원숭이의 혈청에서 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) 내의 (G3S)3 링커 안정성의 LC-MS/MS 기반 분석을 보여준다. 항-IL2 항체를 사용한 포획 후에 LC-MS/MS를 사용한 IL2 및 CD25의 피크 면적 비를 보고한다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0051] 7. 본 개시내용에 대한 상세한 설명

[0052] 본 개시내용은 본 개시내용의 실시양태의 전부가 아닌 일부를 제시하는 첨부 도면을 참조하여 이하에 보다 상세히 기재될 것이다. 사실상, 이들 개시내용은 많은 상이한 형태로 구현될 수 있고, 본원에 제시된 실시양태로 제한하는 것으로 해석되어서는 안되고; 오히려, 이들 실시양태는 본 개시내용이 적용 가능한 법적 요건을 충족시키도록 제공된다. 전반적으로 유사한 번호는 유사한 요소를 지칭한다.

[0053] 본원에 제시된 본 개시내용의 많은 변형 및 다른 실시양태는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 이들 개시내용이 상기 설명 및 연관 도면에 나타내어진 교시의 이익을 갖는다는 것을 상기시킬 것이다. 따라서 본 개시내용은 개시된 특정 실시양태에 제한되지 않는 것으로 이해되어야 하며, 그러한 변형 및 다른 실시양태는 첨부된 청구범위의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다. 구체적 용어가 본원에 사용될지라도, 이는 일반적 및 서술적 의미로만 사용되고 제한의 목적을 위한 것이 아니다.

[0054] 7.1 개관

[0055] 면역계를 조정하기 위해 사용될 수 있는 다양한 방법 및 조성물이 제공된다. 조성물은 (a) 인터류킨-2 (IL2) 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 (b) 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2Rα) 폴리펩티드의 세포외 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질을 포함하며; 여기서 (i) IL2Rα 폴리펩티드의 세포외 도메인은 천연 IL2Rα의 세포외 도메인 (서열식별번호: 7)과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖고/거나; (ii) IL2 폴리펩티드는 천연 IL2 (서열식별번호: 2)와 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖고; 여기서 융합 단백질은 IL2 활성을 갖는다.

[0056] 본 개시내용은 또한 본원에 개시된 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드, 상기 뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 상기 뉴클레오티드를 포함하는 숙주 세포, 및 상기 융합 단백질, 뉴클레오티드, 벡터 또는 숙주 세포를 포함하는 조성물를 기재한다. 본 개시내용은 또한 상기 융합 단백질, 뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포 또는 조성물을 제조하는 방법 또는 상기 융합 단백질, 뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포 또는 조성물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0057] 7.2 정의

[0058] 단수 개체의 용어가 1개 이상의 그러한 개체를 지칭한다는 것에 유의해야 하며; 예를 들어, "뉴클레오티드 서열"은 1개 이상의 뉴클레오티드 서열을 나타내는 것으로 이해된다. 이에 따라, 단수 용어, "1개 이상" 및 "적어도 1개"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

[0059] 게다가, 본원에서 사용된 경우의 "및/또는"은 2개의 특정 특색 또는 성분 각각을 함께 또는 따로 구체적으로 개시하는 것으로서 이해되어야 한다. 따라서, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용된 용어 "및/또는"은

"A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독), 및 "B" (단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용된 용어 "및/또는"은 하기 측면 각각을 포괄하도록 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).

[0060] 유사하게, 단어 "또는"은 문맥이 달리 명백하게 나타내지 않는 한 "및"을 포함하는 것으로 의도된다. 핵산 또는 폴리펩티드에 대해 제공된 모든 염기 크기 또는 아미노산 크기, 및 모든 분자량 또는 분자 질량 값은 대략적이고, 설명을 위해 제공된다는 것을 추가로 이해하여야 한다.

[0061] 측면이 언어 "포함하는"을 사용하여 본원에 기재된 경우에, "로 이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진"과 관련하여 기재된 다른 유사한 측면이 또한 제공되는 것으로 이해된다.

[0062] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 개시내용이 관련된 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, 문헌 [the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press는 통상의 기술자에게 본 개시내용에 사용된 많은 용어에 대한 일반 사전을 제공한다.

[0063] 단위, 접두어, 및 기호는 국제 단위계 (SI) 허용 형태로 나타내어진다. 수치 범위는 범위를 규정하는 수를 포함한다. 달리 나타내지 않는 한, 아미노산 서열은 아미노에서 카르복시 배향으로 좌측에서 우측으로 표기된다. 본원에 제공된 표제는 본 개시내용의 다양한 측면을 제한하는 것이 아니며, 이는 본 명세서를 전체로서 참조할 수 있다. 따라서, 바로 아래에서 정의되는 용어는 본 명세서를 그 전문을 참조하여 보다 충분히 정의된다.

[0064] 용어 "약"은 대략적으로, 대략, 부근 또는 영역 내의 것을 의미하는 것으로 본원에 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우에, 이는 경계를 제시된 수치 값 초과 및 미만으로 확장함으로써 범위를 변경한다. 따라서, "약 10-20"은 "약 10 내지 약 20"을 의미한다. 일반적으로, 용어 "약"은 수치 값을 기재된 값 초과 및 미만으로, 예를 들어 10 퍼센트 위 또는 아래 (더 높거나 또는 더 낮은)의 변동치만큼 변경할 수 있다.

[0065] 본원에서 사용된 "인터루킨-2", "IL2" 또는 "IL-2"는 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유동물 및 달리 나타내지 않는 한 가축 또는 농업 포유동물을 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 또는 재조합 IL2를 지칭한다. 상기 용어는 프로세싱되지 않은 IL2뿐만 아니라, 세포에서의 프로세싱에 의해 생성된 임의의 형태의 IL2 (즉, 성숙한 형태의 IL2)를 포괄한다. 상기 용어는 또한 IL2의 자연 발생 변이체 및 단편, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체, 및 자연 발생 IL2의 IL2 활성을 갖는 비-자연 발생 변이체를 포괄한다.

[0066] IL2에 대한 추가의 핵산 및 아미노산 서열은 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 파밀리아리스(Canis familiaris) (개) (카니스 루푸스 파밀리아리스(*Canis lupus familiaris*))); P36835 (카프라 히르쿠스(*Capra hircus*) (염소)); 및 P37997 (에쿠스 카발루스(*Equus caballus*) (말))을 참조한다.

[0067] IL2의 생물학적 활성 단편 및 변이체는 IL2 활성을 보유한다. 어구 "IL2의 생물학적 활성" 또는 "IL2 활성"은 IL-2 수용체 보유 림프구를 자극하는 능력을 포함하나 이에 제한되지는 않는 IL2의 하나 이상의 생물학적 활성을 지칭한다. 이러한 활성은 시험관내에서 및 생체내에서 둘 다 측정될 수 있다. IL2는 면역 활성의 전반적인 조절자이고, 본원에서 제시된 효과는 이러한 활성의 총합이다. 예를 들어, 이것은 생존 활성 (Bcl-2)을 조절하고/거나, T 이펙터 활성 (IFN-감마, 그랜자임 B 및 퍼포린)을 유도하고/거나, T 조절 활성 (FoxP3)을 촉진한다.

[0068] IL2의 생물학적 활성 변이체는 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 출원 공개 20060269515 및 20060160187 및 WO 99/60128을 참조한다.

[0069] 본원에서 사용된 용어 "CD25", "IL2 수용체 α", "IL2Rα" 또는 "IL2Ra"는 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유동물 및 달리 나타내지 않는 한 가축 또는 농업 포유동물을 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 또는 재조합 IL2Rα를 지칭한다. 상기 용어는 또한 IL2Rα의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체, 또는 IL2Rα 활성을 갖는 비-자연 발생 변이체를 포괄한다. 인간 IL2는 그의 수용체 시스템인 IL2R을 통한 신호전달을 통해 그의 생물학적 효과를 발휘한다. IL2 및 그의 수용체 (IL2R)는 면역 반응에 중요한 T-세포 증식 및 다른 기본적인 기능에 필요하다.

IL2R은 알파 (p55), 베타 (p75) 및 감마 (p65) 쇄인 3개의 비-공유 연결된 타입 I 막횡단 단백질로 이루어진다. 인간 IL2R 알파 쇄는 219개 아미노산의 세포외 도메인, 19개 아미노산의 막횡단 도메인 및 13개 아미노산의 세포내 도메인을 함유한다. IL2R 알파 (IL2R-α)의 분비된 세포외 도메인은 본원에 기재된 융합 단백질에 사용될 수 있다.

[0070] IL2Rα에 대한 핵산 및 아미노산 서열은 공지되어 있다. 예를 들어, 진뱅크 수탁 번호 NP_001030597.1 (판 트로글로디테스(*Pan troglodytes*)); NP_001028089.1 (마카카 물라타(*Macaca mulatta*)); NM_001003211.1 (카니스 루푸스(*Canis lupus*)); NP_776783.1 (보스 타우루스(*Bos taurus*)); NP_032393.3 (무스 무스쿨루스(*Mus musculus*)); 및 NP_037295.1 (라투스 노르베기쿠스)을 참조한다.

[0071] 또한, IL2Rα의 세포외 도메인의 생물학적 활성 단편 및 변이체가 제공된다. 그러한 IL2Rα 세포외 도메인 활성 변이체 또는 단편은 IL2Rα 세포외 도메인 활성을 보유할 것이다. 어구 "IL2Rα 세포외 도메인의 생물학적 활성"은 IL2에 결합하고/거나 IL2 수용체 반응성 세포에서 세포내 신호전달을 증진시키는 능력을 포함하나 이에 제한되지는 않는 IL2Rα의 세포외 도메인의 하나 이상의 생물학적 활성을 지칭한다. IL2Rα의 생물학적 활성 단편 및 변이체의 비-제한적인 예는 예를 들어 문헌 [Robb et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5654-5658, 1988에 개시되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2Rα의 생물학적 활성 단편 및 변이체는 천연 IL2Rα의 세포외 도메인과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 포함한다.

[0072] 대상에 적용되는 바와 같은 본원에 사용된 용어 "자연 발생"은 대상이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 지칭한다. 예를 들어, 자연에서 공급원으로부터 단리될 수 있고 실험실에서 사람에 의해 의도적으로 변형되지 않은 유기체 (바이러스 포함)에 존재하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 자연 발생이다.

[0073] "폴리펩티드"는 쇄의 길이에 대한 상한치 없이, 적어도 2개의 연속적으로 연결된 아미노산 잔기를 포함하는 쇄를 지칭한다. 단백질 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 변형, 예컨대, 비제한적으로, 글리코실화, 인산화 또는 디술피드 결합 형성을 함유할 수 있다. "단백질" 또는 "융합 단백질"은 1개 이상의 폴리펩티드를 포함할 수 있다.

[0074] 폴리펩티드의 단편 또는 변이체 및 그의 임의의 조합이 또한 본 개시내용에 포함된다. 본 개시내용의 폴리펩티드 결합 도메인 또는 결합 분자에 관해 언급할 때 용어 "단편" 또는 "변이체"는 참조 폴리펩티드의 특성의 적어도 일부 (예를 들어, IL2Rα에 대한 IL2 결합 활성)를 보유하는 임의의 폴리펩티드를 포함한다. 폴리펩티드의 단편은 단백질분해성 단편뿐만 아니라 결실 단편을 포함하지만, 자연 발생 전장 폴리펩티드 (또는 성숙 폴리펩티드)를 포함하지 않는다. 본 개시내용의 폴리펩티드 결합 도메인 또는 결합 분자의 변이체는 상기 기재된 바와 같은 단편, 및 또한 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입으로 인해 변경된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 변이체는 자연적으로 또는 비-자연적으로 발생할 수 있다. 비-자연 발생 변이체는 관련 기술분야에 공지된 돌연변이유발 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 변이체 폴리펩티드는 보존적 또는 비-보존적 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 포함할 수 있다.

[0075] 상기 언급한 바와 같이, 폴리펩티드 변이체는 예를 들어 변형된 폴리펩티드를 포함한다. 변형은 예를 들어 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 플라빈의 공유 부착, 헴 모이어티의 공유 부착, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유 부착, 가교결합, 고리화, 디술피드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교결합의 형성, 시스테인의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마-카르복실화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 히드록실화, 아이오딘화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, PEG화 (Mei et al., Blood 116:270-79 (2010)), 단백질분해 프로세싱, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 단백질에 대한 아미노산의 전달-RNA 매개 부가 예컨대 아르기닐화, 및 유비퀴틴화를 포함한다.

[0076] 단백질 또는 뉴클레오티드 서열 내에서 본원에 사용된 "에 상응하는", "에 상응하는 아미노산", "에 상응하는 부위", 또는 "등가의 아미노산"은 제1 단백질 서열, 예를 들어, IL2 서열과 제2 단백질 서열, 예를 들어, 제2 IL2 서열 사이의 동일성 또는 유사성을 최대화하기 위한 정렬에 의해 확인된다. 제2 단백질 서열 내의 등가의 아미노산을 확인하기 위해 사용된 숫자는 제1 단백질 서열 내의 상응하는 아미노산을 확인하기 위해 사용된 숫자에 기초한다. 일부 실시양태에서, 용어 "에 상응하는"은 폴리펩티드 내의 1개 이상의 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 내의 1개 이상의 뉴클레오티드에서의 돌연변이에 대한 관계를 지칭한다. 비제한적 예로서, 본원에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 서열식별번호: 7)의 특정 아미노산 (예를 들어, S50)은 서열식별번호: 7에서 50번째 아미노산-세린-을 지칭한다.

[0077] 본원에 사용된 용어 "와 회합된"은 제1 아미노산 쇄와 제2 아미노산 쇄 사이에 형성된 공유 또는 비-공유 결합을 지칭한다. 한 실시양태에서, 용어 "와 회합된"은 공유, 비-펩티드 결합 또는 비-공유 결합을 의미한다. 이러한 회합은 콜론, 즉 (:)에 의해 표시될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 이는 펩티드 결합을 제외한 공유 결합을 의미한다. 예를 들어, 아미노산 시스테인은 제2 시스테인 잔기 상의 티올 기와 디술피드 결합 또는 브릿지를 형성할 수 있는 티올 기를 포함한다. 대부분의 자연 발생 IgG 분자에서, CH1 및 CL 영역은 디술피드 결합에 의해 회합되고, 2개의 중쇄는 카바트 넘버링 시스템을 사용하여 239 및 242에 상응하는 위치 (위치 226 또는 229, EU 넘버링 시스템)에서 2개의 디술피드 결합에 의해 회합된다. 공유 결합의 예는 펩티드 결합, 금속 결합, 수소 결합, 디술피드 결합, 시그마 결합, 파이 결합, 델타 결합, 글리코시드 결합, 애그노스틱 결합, 벤트 결합, 쌍극자 결합, Pi 백본, 이중 결합, 삼중 결합, 사중 결합, 오중 결합, 육중 결합, 접합, 과접합, 방향족성, 합틱성 또는 항결합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 비-공유 결합의 비제한적 예는 이온 결합 (예를 들어, 양이온-파이 결합 또는 염 결합), 금속 결합, 수소 결합 (예를 들어, 이수소 결합, 이수소 착물, 저-장벽 수소 결합 또는 대칭 수소 결합), 반 데르 발스 힘, 런던 분산 힘, 기계적 결합, 할로겐 결합, 친금성, 삽입, 적층, 엔트로피 힘 또는 화학적 극성을 포함한다.

[0078] 본원에 사용된 용어 "필적하는"은, 예를 들어 융합 단백질을 사용하여 생성된 비교된 비율 또는 수준이 참조 비율 또는 수준과 동일하거나, 실질적으로 동일하거나 또는 유사하다는 것을 의미한다. 본원에 사용된 용어 "유사한"은 비교된 비율 또는 수준이 참조 비율 또는 수준과 10% 이하 또는 15% 이하의 차이를 갖는다는 것을 의미한다. 용어 "실질적으로 동등한"은 비교된 비율 또는 수준이 참조 비율 또는 수준과 0.01%, 0.5% 또는 1% 이하의 차이를 갖는다는 것을 의미한다.

[0079] 본원에 사용된 용어 "발현"은 폴리뉴클레오티드가 유전자 산물, 예를 들어 RNA 또는 폴리펩티드를 생산하는 과정을 지칭한다.

[0080] "융합" 또는 "융합" 단백질은 제1 아미노산 서열이 자연에서 자연적으로 연결되지 않는 제2 아미노산 서열에 인프레임으로 연결된 것을 포함한다. 통상적으로 별개의 단백질 내에 존재하는 아미노산 서열이 융합 폴리펩티드 내에 합쳐질 수 있거나 또는 통상적으로 동일한 단백질 내에 존재하는 아미노산 서열이 융합 폴리펩티드 내에 새로운 배열로, 예를 들어, IL2 단백질과 IL2-Rα 단백질의 융합체로 배치될 수 있다. 융합 단백질은, 예를 들어 화학적 합성에 의해 또는 펩티드 영역이 목적하는 관계로 코딩되는 폴리뉴클레오티드를 생성 및 번역함으로써 생성된다. 융합 단백질은 공유, 비-펩티드 결합 또는 비-공유 결합에 의해 제1 아미노산 서열과 회합된 제2 아미노산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 전사/번역시, 단일 단백질이 만들어진다. 이러한 방식으로, 다수의 단백질 또는 그의 단편이 단일 폴리펩티드로 통합될 수 있다. "작동가능하게 연결된"은 2개 이상의 요소들 사이에서의 기능적 연결을 의미하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 두 폴리펩티드 사이의 작동가능한 연결은 단일 폴리펩티드 융합 단백질을 생성하기 위해 두 폴리펩티드를 인 프레임으로 함께 융합시킨다. 특정한 측면에서, 상기 융합 단백질은 추가로 아래에서 상세히 논의되는 바와 같이 링커 서열을 포함할 수 있는 제3 폴리펩티드를 추가로 포함한다.

[0081] "Fc 영역" (단편 결정화가능한 영역), "Fc 도메인" 또는 "Fc"는 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 상에 위치된 Fc 수용체에 대한 결합 또는 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)에 대한 결합을 포함하는, 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개하는 항체의 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. 따라서, Fc 영역은 제1 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인 (예를 들어, CH1 또는 CL)을 제외한 항체의 불변 영역을 포함한다. IgG, IgA 및 IgD 항체 이소형에서, Fc 영역은 항체의 2개의 중쇄의 제2 (CH2) 및 제3 (CH3) 불변 도메인으로부터 유래된, 2개의 동일한 단백질 단편을 포함하고; IgM 및 IgE Fc 영역은 각각의 폴리펩티드 쇄에 3개의 중쇄 불변 도메인 (CH 도메인 2-4)을 포함한다. IgG 이소형은 특정 종에서 하위부류로 분류된다: 인간에서 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4, 및 마우스에서 IgG1, IgG2a, IgG2b 및 IgG3. IgG의 경우, Fc 영역은 이뮤노글로불린 도메인 CH2 및 CH3 및 CH1과 CH2 도메인 사이의 힌지를 포함한다. 이뮤노글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계의 정의가 본원에 정의된 바와 같이 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 IgG1의 경우 아미노산 잔기 D221, IgG2의 경우 V222, IgG3의 경우 L221 및 IgG4의 경우 P224로부터 중쇄의 카르복시-말단까지의 스트레치로 정의되며, 여기서 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 인간 IgG Fc 영역의 CH2 도메인은 아미노산 237로부터 아미노산 340까지에 이르고, CH3 도메인은 Fc 영역에서 CH2 도메인의 C-말단에 위치하며, 즉 그것은 IgG의 아미노산 341로부터 아미노산 447 또는 446 (C-말단 리신 잔기가 부재하는 경우) 또는 445 (C-말단 글리신 및 리신 잔기가 부재하는 경우)까지에 이른다. 본원에 사용된 Fc 영역은 임의의 동종이형 변이체를 포함한 천연 서열 Fc, 또는 변이체 Fc (예를 들어, 비-자연 발생 Fc)일 수 있다.

[0082] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 이뮤노글로불린의 Fc 영역에 결합하는 수용체이다. IgG 항체에 결합하는 FcR은 이들

수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함한, FcγR 패밀리의 수용체를 포함한다. FcγR 패밀리는 3종의 활성화 (마우스에서 FcγRI, FcγRIII 및 FcγRIV; 인간에서 FcγRIA, FcγRIIA 및 FcγRIIIA) 및 1종의 억제 (FcγRIIB) 수용체로 이루어진다. 인간 FcγR의 다양한 특성은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 대부분의 선천성 이펙터 세포 유형은 1종 이상의 활성화 FcγR 및 억제 FcγRIIB를 공-발현하는 반면에, 자연 킬러 (NK) 세포는 1종의 활성화 Fc 수용체 (마우스에서 FcγRIII 및 인간에서 FcγRIIIA)를 선택적으로 발현하지만, 마우스 및 인간에서 억제 FcγRIIB는 발현하지 않는다. 인간 IgG1은 대부분의 인간 Fc 수용체에 결합하고, 그것이 결합하는 활성화 Fc 수용체의 유형과 관련하여 뮤린 IgG2a와 동등한 것으로 간주된다.

[0083] 본원에 사용된 용어 "삽입된", "삽입된다", "내에 삽입된다", 또는 문법적으로 관련된 용어는 명시된 단백질 내의 유사한 위치 대비 융합 폴리펩티드 내의 이종 모이어티 (예를 들어, 반감기 연장 모이어티)의 위치를 지칭한다. 본원에 사용된 상기 용어는 본원에 개시된 재조합 폴리펩티드의 특징을 지칭하고, 융합 폴리펩티드가 제조되는 임의의 방법 또는 과정을 나타내거나 암시하거나 추론하지 않는다.

[0084] 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드와 관련하여 "이종" 및 "이종 모이어티"는 상이한 단백질 또는 폴리뉴클레오티드로부터 유래되는 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. 예를 들어, 이종 폴리펩티드는 합성이거나, 또는 상이한 종, 개체의 상이한 세포 유형, 또는 별개의 개체의 동일하거나 상이한 유형의 세포로부터 유래될 수 있다. 한 측면에서, 이종 모이어티는 또 다른 폴리펩티드에 융합되어 융합 폴리펩티드 또는 단백질을 생산하는 폴리펩티드이다. 또 다른 측면에서, 이종 모이어티는 폴리펩티드 또는 단백질에 접합된 비-폴리펩티드, 예컨대 PEG이다. 본원에 개시된 이종 모이어티의 비제한적 예는 글리신/세린 링커 (예를 들어, GGGSGGGSGGGS (서열식별번호: 71) (또한 $(Gly_3Ser)_3$으로 표시됨))이다.

[0085] "천연 서열 Fc 영역" 또는 "천연 서열 Fc"는 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역, 뿐만 아니라 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 천연 서열 Fc는 Fc의 다양한 동종이형을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Jefferis et al. (2009) mAbs 1: 1] 참조).

[0086] 융합 단백질을 사용하는 시험관내 또는 생체내 검정의 맥락에서의 용어 "$EC_{50}$"은 최대 반응의 50%, 즉 최대 반응과 기준선의 절반인 반응을 유도하는 융합 단백질의 농도를 지칭한다.

[0087] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기를 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 치환시키는 것을 지칭한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 관련 기술분야에서 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질에서의 예측되는 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 또 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오티드 및 아미노산 보존적 치환을 확인하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Brummell et al., Biochem. 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al. Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); 및 Burks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997)] 참조)

[0088] 본원에 사용된 용어 "핵산 분자"는 DNA 분자 및 RNA 분자를 포함하는 것으로 의도된다. 핵산 분자는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, cDNA일 수 있다.

[0089] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "조절 영역"은 코딩 영역의 상류에 (5' 비-코딩 서열), 내에, 또는 하류에 (3' 비-코딩 서열) 위치하고, 연관된 코딩 영역의 전사, RNA 프로세싱, 안정성, 또는 번역에 영향을 미치는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 조절 영역은 프로모터, 번역 리더 서열, 인트론, 폴리아데닐화 인식 서열, RNA 프로세싱 부위, 이펙터 결합 부위, 및 스템-루프 구조를 포함할 수 있다. 코딩 영역이 진핵생물 세포에서의 발현을 위해 의도되는 경우, 폴리아데닐화 신호 및 전사 종결 서열은 통상적으로 코딩 서열에 대해 3'에 위치할 것이다.

[0090] 유전자 산물, 예를 들어, 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 코딩 영역과 작동가능하게 회

합된 프로모터 및/또는 다른 전사 또는 번역 제어 요소를 포함할 수 있다. 또한, 프로모터외에, 다른 전사 제어 요소, 예를 들어 인핸서, 오퍼레이터, 리프레서 및 전사 종결 신호가 유전자 산물 발현을 지시하는 코딩 영역과 작동가능하게 회합될 수 있다.

[0091] 다양한 전사 제어 영역은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 이들은 척추동물 세포에서 기능하는 전사 제어 영역, 예컨대 비제한적으로 시토메갈로바이러스 (인트론-A와 함께, 극초기 프로모터), 원숭이 바이러스 40 (초기 프로모터) 및 레트로바이러스 (예컨대 라우스 육종 바이러스)로부터의 프로모터 및 인핸서 세그먼트를 비제한적으로 포함한다. 다른 전사 제어 영역은 척추동물 유전자, 예컨대 액틴, 열 쇼크 단백질, 소 성장 호르몬 및 토끼 β-글로빈으로부터 유래된 것뿐만 아니라 진핵 세포에서 유전자 발현을 제어할 수 있는 다른 서열을 포함한다. 추가의 적합한 전사 제어 영역은 조직-특이적 프로모터 및 인핸서뿐만 아니라 림포카인-유도성 프로모터 (예를 들어, 인터페론 또는 인터류킨에 의해 유도될 수 있는 프로모터)를 포함한다.

[0092] 유사하게, 다양한 번역 제어 요소는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 이들은 리보솜 결합 부위, 번역 개시 및 종결 코돈 및 피코르나바이러스로부터 유래된 성분 (특히 내부 리보솜 진입 부위 또는 IRES, 또한 CITE 서열로서 지칭됨)을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0093] 용어 "퍼센트 서열 동일성", "퍼센트 동일성", "서열 동일성", 또는 "동일성"은 상호교환가능하게 사용되고, 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입되어야 하는 부가 또는 결실 (즉, 갭)을 고려하여, 비교 윈도우에 걸쳐 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열 사이에 공유되는 동일한 매칭되는 위치의 수를 지칭한다. 매칭된 위치는 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산이 표적 및 참조 서열 모두에 존재하는 임의의 위치이다. 표적 서열에 존재하는 갭은 뉴클레오티드 또는 아미노산이 아니기 때문에 계수되지 않는다. 마찬가지로, 참조 서열로부터의 뉴클레오티드 또는 아미노산이 아니라 표적 서열 뉴클레오티드 또는 아미노산이 계수되기 때문에 참조 서열에 존재하는 갭은 계수되지 않는다.

[0094] 2개의 서열 사이의 서열 비교 및 퍼센트 동일성의 결정은 하기 비제한적 예에 기재된 바와 같이 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다.

[0095] 서열 동일성의 백분율은 동일한 아미노산 잔기 또는 핵산 염기가 둘 다의 서열에서 나타나는 위치의 수를 결정하여 매칭되는 위치의 수를 산출하고, 매칭되는 위치의 수를 비교 윈도우 내의 전체 위치의 수로 나누고, 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다. 2개 서열 사이의 서열의 비교 및 퍼센트 서열 동일성의 결정은 온라인 사용 및 다운로드 둘 다를 위해 용이하게 입수가능한 소프트웨어를 사용하여 달성될 수 있다. 적합한 소프트웨어 프로그램이 다양한 공급원으로부터, 및 단백질 및 뉴클레오티드 서열 둘 다의 정렬을 위해 이용가능하다. 퍼센트 서열 동일성을 결정하는 데 적합한 하나의 프로그램은 bl2seq로, 이는 미국 정부의 국립 생물 정보 센터 BLAST 웹 사이트(blast.ncbi.nlm.nih.gov)로부터 이용가능한 BLAST 스위트 프로그램의 일부이다. Bl2seq는 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 2개의 서열 사이의 비교를 수행한다. BLASTN은 핵산 서열을 비교하는 데 사용되고, 반면에 BLASTP는 아미노산 서열을 비교하는 데 사용된다. 다른 적합한 프로그램은, 예를 들어 생물정보학 프로그램의 EMBOSS 스위트의 일부이자 또한 유럽 생물정보학 연구소 (EBI)로부터 www.ebi.ac.uk/Tools/psa에서 이용가능한 Needle, Stretcher, Water, 또는 Matcher이다.

[0096] 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 참조 서열과 정렬되는 단일 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 표적 서열 내의 상이한 영역은 각각 그 자체의 퍼센트 서열 동일성을 가질 수 있다. 퍼센트 서열 동일성 값은 소수 첫째자리까지 반올림되는 것에 유의한다. 예를 들어, 80.11, 80.12, 80.13, 및 80.14는 80.1로 버림되고, 80.15, 80.16, 80.17, 80.18, 및 80.19는 80.2로 올림된다. 또한 길이 값은 항상 정수일 것임을 유의한다.

[0097] 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 퍼센트 동일성은 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70 또는 80의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 가중치를 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램 (worldwideweb.gcg.com에서 이용가능)을 사용하여 결정될 수 있다. PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 캡 페널티 4를 사용하여 ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 내로 혼입된 문헌 [E. Meyers 및 W. Miller (CABIOS, 4: 11-17 (1989)]의 알고리즘을 사용하여 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 간의 동일성 백분율이 또한 결정될 수 있다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 블로섬(Blossum) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램 (http://www.gcg.com에서 이용가능) 내로 혼입된 문헌 [Needleman 및 Wunsch (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970))]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

[0098] 추가로 본원에 기재된 핵산 및 단백질 서열은, 예를 들어 관련 서열을 확인하기 위해 공중 데이터베이스에 대한

검색을 수행하기 위한 "질의 서열"로서 사용될 수 있다. 이러한 검색은 문헌 [Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램 (버전 2.0)을 사용하여 수행될 수 있다. NBLAST 프로그램, 점수 = 100, 워드 길이 = 12로 BLAST 뉴클레오티드 검색을 수행하여 본원에 기재된 핵산 분자에 상동인 뉴클레오티드 서열을 수득할 수 있다. XBLAST 프로그램, 점수 = 50, 워드 길이 = 3으로 BLAST 단백질 검색을 수행하여 본원에 기재된 단백질 분자에 상동인 아미노산 서열을 수득할 수 있다. 비교 목적으로 갭이 있는 정렬을 수득하기 위해, 갭드 BLAST를 문헌 [Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같이 이용할 수 있다. BLAST 및 갭드 BLAST 프로그램을 사용하는 경우에, 각각의 프로그램 (예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다. [worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov]를 참조한다.

[0099] 핵산은 전세포 내에, 세포 용해물 내에, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은 다른 세포 성분 또는 다른 오염물, 예를 들어 다른 세포 핵산 (예를 들어, 염색체의 다른 부분) 또는 단백질로부터, 알칼리/SDS 처리, CsCl 밴딩, 칼럼 크로마토그래피, 아가로스 겔 전기영동 및 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 것을 포함한 표준 기술에 의해 정제되었을 때 "단리되거나" 또는 "실질적으로 순수해진다". 문헌 [F. Ausubel, et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)]을 참조한다.

[0100] 본원에 사용된 용어 "벡터"는 그것이 연결된 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭하는 것으로 의도된다. 벡터의 한 유형은 "플라스미드"이며, 이는 추가의 DNA 절편이 라이게이션될 수 있는 환형의 이중 가닥 DNA 루프를 지칭한다. 또 다른 유형의 벡터는 추가의 DNA 절편이 바이러스 게놈 내로 라이게이션될 수 있는 바이러스 벡터이다. 특정 벡터는 그것이 도입되는 숙주 세포에서 자율 복제될 수 있다 (예를 들어, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유동물 벡터). 다른 벡터 (예를 들어, 비-에피솜 포유동물 벡터)는 숙주 세포 내로의 도입 시 숙주 세포의 게놈 내로 통합될 수 있고, 이에 의해 숙주 게놈과 함께 복제된다. 또한, 특정 벡터는 작동가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡터" (또는 간단히 "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드 형태이다. 본 명세서에서, 플라스미드가 가장 통상적으로 사용되는 형태의 벡터이므로, "플라스미드" 및 "벡터"는 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 그러나, 등가의 기능을 수행하는 다른 형태의 발현 벡터, 예컨대 바이러스 벡터 (예를 들어, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)가 또한 포함된다.

[0101] 본원에 사용된 용어 "시험관내 숙주 세포" (또는 간단히 "숙주 세포")는 세포에 자연적으로 존재하지 않는 핵산을 포함하는 세포를 지칭하는 것으로 의도되고, 이는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포일 수 있다. 이러한 용어는 특정한 대상 세포뿐만 아니라 이러한 세포의 자손까지 지칭하는 것으로 의도된다는 것을 이해하여야 한다. 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 후속 세대에서 특정 변형이 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 실제로는 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 여전히 본원에 사용된 용어 "숙주 세포"의 범주 내에 포함된다. 예시적인 숙주 세포는 원핵 세포 (예를 들어, 이. 콜라이) 또는 대안적으로, 진핵 세포, 예를 들어, 진균 세포 (예를 들어, 효모 세포 예컨대 사카로미세스 세레비지아에(*Saccharomyces cerevisiae*), 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*) 또는 쉬조사카로미세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*)), 및 다양한 동물 세포, 예컨대 곤충 세포 (예를 들어, Sf-9) 또는 포유동물 세포 (예를 들어, HEK293F, CHO, COS-7, NIH-3T3)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0102] 본원에 사용된 어구 "아미노산의 바로 하류"는 아미노산의 말단 카르복실 기 바로 옆의 위치를 지칭한다. 유사하게, 어구 "아미노산의 바로 상류"는 아미노산의 말단 아민 기 바로 옆의 위치를 지칭한다. 따라서, 본원에 사용된 어구 "삽입 부위의 2개의 아미노산 사이"는 이종 모이어티(예를 들어, 반감기 연장 모이어티)가 2개의 인접한 아미노산 사이에 삽입된 위치를 지칭한다.

[0103] 본원에 사용된 "투여"는 치료제를 포함하는 조성물을, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여 대상체에게 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질에 대한 다양한 투여 경로는 정맥내, 복강내, 근육내, 피하, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함한다. 본원에 사용된 어구 "비경구 투여"는 통상적으로 주사에 의하는, 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하며, 비제한적으로, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함한다. 대안적으로, 본원에 기재된 항체는 비-비경구 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어, 비강내로, 경구로, 질로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있다. 또한, 투여는 예를 들어 1회, 복수회, 및/또는 1 이상의

연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0104] "면역 반응"은 관련 기술분야에서 이해되는 바와 같고, 일반적으로 외래 작용제 또는 비정상적, 예를 들어 암성 세포에 대한 척추동물 내에서의 생물학적 반응을 지칭하며, 이 반응은 이들 작용제 및 그에 의해 유발되는 질환에 대해 유기체를 보호한다. 면역 반응은 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 다른 비정상 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우에는 정상 인간 세포 또는 조직의 선택적 표적화, 그에 대한 결합, 그에 대한 손상, 그의 파괴, 및/또는 그의 척추동물 신체로부터의 제거를 발생시키는, 면역계의 1종 이상의 세포 (예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 킬러 (NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 또는 호중구) 및 이들 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생산된 가용성 거대분자 (항체, 시토카인 및 보체 포함)의 작용에 의해 매개된다. 면역 반응은, 예를 들어 T 세포, 예를 들어 이펙터 T 세포, Th 세포, $CD4^+$ 세포, $CD8^+$ T 세포 또는 Treg 세포의 활성화 또는 억제, 또는 면역계의 임의의 다른 세포, 예를 들어 NK 세포의 활성화 또는 억제를 포함한다.

[0105] "면역조정제" 또는 "면역조절제"는 작용제, 예를 들어 면역 반응의 조정, 조절 또는 변형에 수반될 수 있는 신호전달 경로의 성분을 표적화하는 작용제를 지칭한다. 면역 반응의 "조정", "조절" 또는 "변형"은 면역계 세포에서의 또는 이러한 세포 (예를 들어, 이펙터 T 세포, 예컨대 Th1 세포)의 활성에서의 임의의 변경을 지칭한다. 보다 특히, 본원에 사용된 용어 "조정"은 제시된 활성 또는 반응의 유도, 억제, 강화, 상승, 증가 또는 감소를 포함한다. 이러한 조정은 다양한 세포 유형의 수의 증가 또는 감소, 이들 세포의 활성의 증가 또는 감소, 또는 면역계 내에서 발생할 수 있는 임의의 다른 변화에 의해 나타날 수 있는 면역계의 자극 또는 억제를 포함한다. 억제 및 자극 면역조정제 둘 다가 확인되었고, 이들 중 일부는 종양 미세환경에서 증진된 기능을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역조정제는 T 세포의 표면 상의 분자를 표적화한다. "면역조정 표적" 또는 "면역조절 표적"은 물질, 작용제, 모이어티, 화합물 또는 분자에 의한 결합에 대해 표적화되고, 그러한 결합에 의해 활성이 변경되는 분자, 예를 들어 세포 표면 분자이다. 면역조정 표적은 예를 들어, 세포 표면 상의 수용체 ("면역조정 수용체") 및 수용체 리간드 ("면역조정 리간드")를 포함한다.

[0106] "면역요법"은 면역계 또는 면역 반응을 유도, 증진, 억제, 또는 달리 변형시키는 것을 포함하는 방법에 의해 질환을 앓거나, 질환에 걸릴 위험이 있거나, 질환의 재발을 겪는 대상체를 치료하는 것을 지칭한다.

[0107] "면역자극 요법" 또는 "면역자극성 요법"은, 예를 들어 암을 치료하기 위해, 대상체에서 면역 반응의 증가 (유도 또는 증진)를 발생시키는 요법을 지칭한다.

[0108] "내인성 면역 반응을 강화시키는 것"은 대상체에서 기존의 면역 반응의 유효성 또는 효력을 증가시키는 것을 의미한다. 유효성 및 효력의 이러한 증가는, 예를 들어 내인성 숙주 면역 반응을 억제하는 메카니즘을 극복함으로써 또는 내인성 숙주 면역 반응을 증진시키는 메카니즘을 자극함으로써 달성될 수 있다.

[0109] "T 이펙터" ("$T_{eff}$") 세포는 세포용해 활성을 갖는 T 세포 (예를 들어, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포), 뿐만 아니라 시토카인을 분비하여 다른 면역 세포를 활성화시키고 지시하는 T 헬퍼 (Th) 세포, 예를 들어 Th1 세포를 지칭하지만, 조절 T 세포 (Treg 세포)는 포함하지 않는다. 본원에 기재된 특정 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 $T_{eff}$ 세포, 예를 들어 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ $T_{eff}$ 세포 및 Th1 세포를 활성화시킨다.

[0110] 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 증가된 능력은 T 세포 공동-자극 수용체의 증진된 효능제 활성 및/또는 억제 수용체의 증진된 길항제 활성으로부터 발생될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 증가된 능력은 면역 반응을 측정하는 검정, 예를 들어 시토카인 또는 케모카인 방출, 세포용해 활성 (표적 세포 상에서 직접적으로 또는 CD107a 또는 그랜자임을 검출하는 것을 통해 간접적으로 결정됨) 및 증식에서의 변화를 측정하는 검정에서 $EC_{50}$ 또는 활성의 최대 수준의 배수 증가에 의해 반영될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계 활성을 자극하는 능력은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과로 증진될 수 있다.

[0111] 본원에 사용된 용어 "연결된" 및 "융합된"은 각각 제2 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열에 공유 또는 비-공유 연결된 제1 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 제1 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열은 제2 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열에 직접 연결되거나 병치될 수 있거나, 또는 대안적으로 개재 서열은 제1 서열을 제2 서열에 공유 연결시킬 수 있다. 용어 "연결된"은 C-말단 또는 N-말단에서 제2 아미노산 서열에 대한 제1 아미노산 서열의 융합을 의미할 뿐만 아니라, 전체 제1 아미노산 서열 (또는 제2 아미노산 서열)을 제2 아미노산 서열 (또는 각각 제1 아미노산 서열) 내의 임의의 2개의 아미노산 내로 삽입하는 것을 또한 포함한다.

한 실시양태에서, 제1 아미노산 서열은 펩티드 결합 또는 링커에 의해 제2 아미노산 서열에 연결된다. 제1 뉴클레오티드 서열은 포스포디에스테르 결합 또는 링커에 의해 제2 뉴클레오티드 서열에 연결될 수 있다. 링커는 펩티드 또는 폴리펩티드 (폴리펩티드 쇄의 경우) 또는 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 쇄 (뉴클레오티드 쇄의 경우) 또는 임의의 화학적 모이어티 (폴리펩티드 및 폴리뉴클레오티드 쇄 둘 다의 경우)일 수 있다. 용어 "연결된"은 또한 하이픈(-)으로 표시된다.

[0112] 본원에 사용된 용어 "T 세포-매개 반응"은 이펙터 T 세포 (예를 들어, $CD8^+$ 세포) 및 헬퍼 T 세포 (예를 들어, $CD4^+$ 세포)를 포함한 T 세포에 의해 매개되는 반응을 지칭한다. T 세포 매개 반응은, 예를 들어, T 세포 세포독성 및 증식을 포함한다.

[0113] 본원에 사용된 용어 "세포독성 T 림프구 (CTL) 반응"은 세포독성 T 세포에 의해 유도되는 면역 반응을 지칭한다. CTL 반응은 주로 $CD8^+$ T 세포에 의해 매개된다.

[0114] 본원에 사용된 용어 "억제하다" 또는 "차단하다" (예를 들어, 세포 상의 IL2Rα에 대한 IL2의 결합의 억제/차단을 지칭함)는 상호교환가능하게 사용되고, 부분 및 완전 억제/차단 둘 다를 포괄한다. 일부 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질은 IL2Rα에 대한 IL2의 결합을, 예를 들어 본원에 추가로 기재된 바와 같이 결정 시, 적어도 약 50%, 예를 들어 약 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 억제한다. 일부 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질은 IL2Rα에 대한 IL2의 결합을, 예를 들어 본원에 추가로 기재된 바와 같이 결정 시, 50% 이하, 예를 들어 약 40%, 30%, 20%, 10%, 5% 또는 1% 억제한다.

[0115] 본원에 사용된 어구 "종양의 성장을 억제하다"는 종양의 성장의 임의의 측정가능한 감소, 예를 들어 종양의 성장의 적어도 약 10%, 예를 들어 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 99% 또는 100%의 억제를 포함한다.

[0116] 본원에 사용된 "암"은 신체 내 비정상 세포의 비제어된 성장을 특징으로 하는 광범위한 질환군을 지칭한다. 비조절된 세포 분열은 이웃 조직을 침습하는 악성 종양 또는 세포의 형성을 발생시킬 수 있고, 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이될 수 있다.

[0117] 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 질환과 연관된 증상, 합병증, 상태 또는 생화학적 징후의 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 역전, 완화, 호전, 억제 또는 저속화 또는 예방하거나 또는 전체 생존을 증진시킬 목적으로 대상체에 대해 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 대상체에게 활성제를 투여하는 것을 지칭한다. 치료는 질환을 갖는 대상체 또는 질환을 갖지 않는 대상체 (예를 들어, 예방용)에 대한 것일 수 있다. 예방 차원에서 제공될 경우, 본원에 개시된 융합 단백질은 임의의 증상 전에 미리 제공된다. 물질의 예방 차원의 투여는 임의의 후속 증상을 예방하거나 약화시키는 역할을 한다.

[0118] 융합 단백질, 제약 조성물 또는 백신과 관련하여 "효능 증진" 또는 "면역원성 증진"은 예를 들어 보호 면역과 연관된 융합 단백질, 제약 조성물 또는 백신의 활성의 특정 파라미터의 증가 또는 감소와 같은 특정 값의 변화에 의해 측정된 결과의 개선을 의도한다. 한 실시양태에서, 증진은 특정 파라미터에서 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 증가를 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, 증진은 특정 파라미터에서 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 감소를 지칭한다. 한 예에서, 백신의 효능/면역원성의 증진은 질환 진행을 억제 또는 치료하는 백신 능력의 증가, 예컨대 상기 목적을 위한 백신 효능의 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 또는 100% 초과의 증가를 지칭한다. 추가의 예에서, 백신의 효능/면역원성의 증진은 백신이 이미 발병된 암에 대해 대상체가 자연 방어를 동원하는 능력의 증가, 예컨대 상기 목적을 위한 융합 단백질, 제약 조성물 또는 백신 효과의 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 증가를 의미한다.

[0119] 유사하게, 융합 단백질, 제약 조성물 또는 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, 융합 단백질, 제약 조성물 또는 백신에 대한 억제된 면역 반응을 극복하는 것은 질환 진행을 억제 또는 치료하는 융합 단백질, 제약 조성물 또는 백신의 능력 회복, 예컨대 상기 목적을 위한 백신 효과의 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 100% 초과의 회복을 의미한다.

[0120] 본원에 (상호교환가능하게) 사용된 "치료 유효량", "치료 용량", "용량", "유효 용량", "유효 투여량" 또는 "투여량"은 본원에 기재된 바와 같은 치료 목표를 달성하는 용량을 의미한다. 일부 실시양태에서, "치료 용량"은 대상체에서 면역 관용을 유도하는 용량을 의미한다. 특정 실시양태에서, "치료 용량"은 관용 기간까지의 명시

된 시간 내에 예를 들어, 제1 용량을 투여하고 12주 내에, 대상체에서 면역 관용을 유도하는 용량을 의미한다. IL2/IL2Rα 융합 단백질의 "치료 유효량"은 목적하는 생물학적 반응을 도출하기에 충분한 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 양을 지칭한다. 관련 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 효과적인 특정한 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 절대량은 목적하는 생물학적 종점, 전달되는 IL2/IL2Rα 융합 단백질, 표적 세포 또는 조직 등과 같은 요인에 따라 달라질 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. 질환 퇴행을 촉진하거나 질환의 발생 또는 재발을 억제하는 치료제의 능력은 숙련된 진료의에게 공지된 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측해주는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 치료제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.

[0121] 본원에 사용된 "치료하다", "치료" 또는 "치료하는"은 예를 들어 질환 또는 상태의 중증도의 감소; 상태 경과의 지속시간의 감소; 질환 또는 상태와 연관된 1종 이상의 증상의 호전 또는 제거; 질환 또는 상태를 반드시 치유하지 않으면서 질환 또는 상태를 갖는 대상체에게의 유익한 효과의 제공을 지칭한다.

[0122] 예로서, 항암제는 대상체에서 암 퇴행을 촉진하는 약물이다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량의 약물은 암을 제거하는 지점까지 암 퇴행을 촉진한다. "암 퇴행을 촉진하는 것"은 유효량의 약물을 단독으로 또는 항신생물제와 조합하여 투여하여 환자에서 종양 성장 또는 크기의 감소, 종양의 괴사, 적어도 1종의 질환 증상의 중증도 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간 증가, 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 방지, 또는 달리 질환 증상의 호전을 발생시키는 것을 의미한다. 추가로, 치료와 관련한 용어 "유효한" 및 "유효성"은 약리학적 유효성 및 생리학적 안전성 둘 다를 포함한다. 약리학적 유효성은 환자에게서 암 퇴행을 촉진하는 약물의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 약물의 투여로부터 발생되는 세포, 기관 및/또는 유기체 수준에서의 독성의 수준, 또는 다른 유해 생리학적 효과 (유해 효과)를 지칭한다.

[0123] 종양의 치료에 대한 예로서, 치료 유효량 또는 유효 투여량의 약물은 세포 성장 또는 종양 성장을 비치료된 대상체에 비해 적어도 약 20%, 적어도 약 40%, 적어도 약 60% 또는 적어도 약 80% 억제한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량 또는 유효 투여량의 약물은 세포 성장 또는 종양 성장을 완전히 억제하며, 즉 세포 성장 또는 종양 성장을 100% 억제한다. 종양 성장을 억제하는 화합물의 능력은 하기 기재된 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 대안적으로, 조성물의 이러한 특성은 세포 성장을 억제하는 화합물의 능력을 검사함으로써 평가될 수 있고, 이러한 억제는 숙련된 진료의에게 공지된 검정에 의해 시험관내에서 측정될 수 있다. 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 종양 퇴행은 적어도 약 20일, 적어도 약 40일 또는 적어도 약 60일의 기간 동안 관찰되고 계속될 수 있다.

[0124] 용어 "환자"는 예방적 또는 치유적 치료를 받는 인간 및 다른 포유동물 대상체를 포함한다.

[0125] 본원에 사용된 용어 "대상체"는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법 및 조성물은 암을 갖는 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다. 용어 "비-인간 동물"은 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비-포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류, 파충류 등을 포함한다.

[0126] 본원에 지칭된 용어 "체중 기준" 용량 또는 투여는 환자에게 투여되는 용량이 환자의 체중을 기준으로 하여 계산된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 60 kg 체중을 갖는 환자가 3 mg/kg의 항-IL2 항체를 필요로 하는 경우에, 투여를 위해 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 적절한 양 (즉, 180 mg)을 계산하고 사용할 수 있다.

[0127] 본원에 기재된 방법 및 투여량과 관련하여 용어 "균일 용량"의 사용은 환자의 체중 또는 체표면적 (BSA)과 무관하게 환자에게 투여되는 용량을 의미한다. 따라서 균일 용량은 mg/kg 용량으로 제공되지 않고, 오히려 작용제 (예를 들어, IL2/IL2Rα 융합 단백질)의 절대량으로서 제공된다. 예를 들어, 60 kg 인간 및 100 kg 인간은 동일한 용량의 항체 (예를 들어, 480 mg의 IL2/IL2Rα 융합 단백질)를 받을 것이다.

[0128] 본원에 사용된 용어 "ug" 및 "uM"은 각각 "μg" 및 "μM"과 상호교환가능하게 사용된다.

[0129] 본원에 기재된 다양한 측면이 하기 서브섹션에서 추가로 상세하게 기재된다.

[0130] 이뮤노글로불린 또는 이뮤노글로불린 단편 또는 영역의 아미노산 넘버링에 대해 이루어진 참조는 모두 문헌 [Kabat et al. 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U. S. Department of Public Health, Bethesda; MD]에 기초한다. FcRn 수용체는 인간을 비롯한 여러 포유동물 종으로부터 단리되었다. 인간 FcRn, 래트 FcRn 및 마우스 FcRn의 서열은 공지되어 있다 (Story et al., J. Exp. Med. 180: 2377 (1994)). Fc는 이뮤노글로불린의 힌지 영역을 갖거나 갖지 않는 이뮤노글로불린의 CH2 및 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

예시적인 Fc 변이체는 WO 2004/101740 및 WO 2006/074199에 제공된다.

[0131] 7.3 인터류킨-2/인터류킨-2 수용체 알파 융합 단백질

[0132] 적어도 2개의 성분: (a) 인터류킨-2 (IL2) 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; (b) 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2Rα) 폴리펩티드의 세포외 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, IL2Rα 폴리펩티드의 세포외 도메인은 천연 IL2Rα의 세포외 도메인 (서열식별번호: 7)과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖고/거나; (ii) IL2 폴리펩티드는 천연 IL2 (서열식별번호: 2)와 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖는다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 IL2 활성을 갖는다.

[0133] 7.3.1 인터류킨-2

[0134] 일부 실시양태에서, 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2Rα) 폴리펩티드의 세포외 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어지는 제2 폴리펩티드에 인 프레임으로 융합된 인터류킨-2 (IL2)를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질이 제공된다. 일부 실시양태에서 융합 단백질은 서열식별번호: 2를 갖는 IL2를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드는 서열식별번호: 2와 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0135] 한 실시양태에서, IL2 폴리펩티드는 포유동물 예컨대 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유동물 및 달리 나타내지 않는 한 가축 또는 농업 포유동물을 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 천연 또는 재조합 IL2이다.

[0136] 본 개시내용에 유용한 IL2 폴리펩티드는 융합 단백질에서 발현된다. 본원에 기재된 융합 단백질은 인간 IL2R, 보다 구체적으로 인간 IL2Rα의 세포외 도메인 내의 특정한 도메인 (예를 들어, 기능적 도메인)에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, IL2를 포함하는 융합 단백질은 길항제이다. 일부 실시양태에서, IL2를 포함하는 융합 단백질은 고친화도로 인간 IL2Rα에 결합한다.

[0137] 용어 IL2는 프로세싱되지 않은 IL2뿐만 아니라, 세포에서의 프로세싱으로부터 생성된 임의의 형태의 IL2 (즉, 성숙한 형태의 IL2)를 포괄한다. 상기 용어는 또한 IL2의 자연 발생 변이체 및 단편, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체 및 비-자연 발생 변이체를 포괄한다. 인간 IL2의 예시적인 성숙 형태의 아미노산 서열 (20개 아미노산의 신호 서열을 가짐)이 서열식별번호: 2에 제시된다. 프로세싱되지 않은 인간 IL2는 N-말단의 20개 아미노산의 신호 펩티드를 추가로 포함하고 (서열식별번호: 1), 이는 성숙 IL2 분자에는 존재하지 않는다. 마우스 IL2의 예시적인 성숙 형태의 아미노산 서열 (20개 아미노산의 신호 서열을 가짐)이 서열식별번호: 4에 제시된다. 프로세싱되지 않은 마우스 IL2는 N-말단의 20개 아미노산의 신호 펩티드를 추가로 포함하고 (서열식별번호: 3), 이는 성숙 IL2 분자에는 존재하지 않는다. "야생형 IL2"로도 명명되는 "천연 IL2"는 자연 발생 또는 재조합 IL2를 의미한다.

[0138] IL2에 대한 추가의 핵산 및 아미노산 서열이 공지되어 있다. 예를 들어, 진뱅크 수탁 번호: Q7JFM2 (아오투스 레무리누스 (회색배 올빼미 원숭이)); Q7JFM5 (아오투스 낸시마아에 (마 올빼미 원숭이)); P05016 (보스 타우루스 (소)); Q29416 (카니스 파밀리아리스 (개) (카니스 루푸스 파밀리아리스)); P36835 (카프라 히르쿠스 (염소)); 및 P37997 (에쿠스 카발루스 (말))을 참조한다.

[0139] IL2의 생물학적 활성 단편 및 변이체가 또한 제공된다. 이러한 IL2 활성 변이체 또는 단편은 IL2 활성을 보유할 것이다. IL2의 생물학적 활성은 IL2 수용체 보유 림프구를 자극하는 능력을 지칭할 수 있다. 이러한 활성은 시험관내에서 및 생체내에서 둘 다 측정될 수 있다. IL2는 면역 활성의 전반적인 조절자이고, 본원에서 제시된 효과는 이러한 활성의 총합이다. 예를 들어, 이것은 생존 활성 (Bcl-2)을 조절하고, T 이펙터 활성 (IFN-감마, 그랜자임 B 및 퍼포린)을 유도하고, T 조절 활성 (FoxP3)을 촉진한다. 예를 들어, 문헌 [Malek et al. (2010) Immunity 33(2):153-65]을 참조한다.

[0140] IL2의 생물학적 활성 변이체는 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 출원 공개 2006/0269515 및 2006/0160187 및 WO 99/60128을 참조한다.

[0141] IL2의 생물학적 활성 단편 및 변이체는 본원에 개시된 융합 단백질에 사용될 수 있다. 이러한 기능적 단편은 서열식별번호: 2의 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: 2에 제시된 서열 세트에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을

포함할 수 있다.

[0142] IL2 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 활성 변이체 및 단편이 추가로 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 2를 코딩하는 폴리펩티드의 적어도 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700개의 연속적인 뉴클레오티드를 포함할 수 있고, IL2 활성을 갖는 단백질을 계속 코딩할 수 있다. 대안적으로, 기능적 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 코딩하는 폴리펩티드에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있고, 기능적 IL2 폴리펩티드를 계속 코딩할 수 있다.

[0143] IL2의 예시적인 폴리펩티드 서열은 하기 표 1에 언급된다.

[0144] 표 1

| SEQ ID NO | 설명 | 서열 |
|---|---|---|
| 1 | IL2 (인간, 프로세싱되지 않음) | MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT |
| 2 | IL2 (인간, 성숙 형태) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT |
| 3 | IL2 (마우스, 프로세싱되지 않음) | MYSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ |
| 4 | IL2 (마우스, 성숙 형태) | APTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ |

[0145]

[0146] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 융합 단백질은 IL2Rα의 세포외 도메인 내에 적어도 1개의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, IL2 폴리펩티드는 천연 IL2 (서열식별번호: 2)와 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화 부위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개 더 적은 글리코실화 부위는 글리코실화를 제거하는 1개 이상의 돌연변이에 기인한다.

[0147] 다른 실시양태에서, 융합 단백질은 글리코실화 부위를 갖는 아미노산의 글리코실화 부위를 갖지 않는 아미노산으로의 치환인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 O-글리코실화 및/또는 N-글리코실화를 제거한다. 한 실시양태에서, 돌연변이는 O-글리코실화, 예를 들어, 서열식별번호: 2의 아미노산 3에서 트레오닌을 제거한다. 또 다른 실시양태에서, 돌연변이는 N-글리코실화를 제거한다.

[0148] 일부 실시양태에서, 돌연변이는 글리코실화된 IL2의 아미노산의 글리코실화되지 않은 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하는 IL2의 아미노산의 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하지 않는 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다.

[0149] 일부 실시양태에서, IL2의 아미노산의 1개 이상의 치환은 알라닌으로부터 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다.

[0150] 일부 실시양태에서, IL2의 아미노산의 1개 이상의 치환은 트레오닌으로부터 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다.

[0151] 일부 실시양태에서, IL2의 아미노산의 1개 이상의 치환은 반응성 아미노산, 예를 들어, 시스테인으로부터 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미

노산으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 시스테인으로부터 세린으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 시스테인으로부터 알라닌으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 시스테인으로부터 발린으로의 치환이다.

[0152] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 서열식별번호: 2에 상응하는 것과 비교하여 IL2의 아미노산 T3에서 이루어진다.

[0153] 일부 실시양태에서, 치환 중 1개는 서열식별번호: 2의 아미노산 C125에서 이루어진다. 특정한 실시양태에서, 아미노산 C125에서의 치환은 C125S, C125A 및 C125V로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0154] 일부 실시양태에서, 돌연변이는 결실이다. 특정한 실시양태에서, 결실은 서열식별번호: 2의 아미노산 A1에서 이루어진다.

[0155] 본 개시내용은 또한 IL2 폴리펩티드에 대한 임의의 다른 돌연변이를 포함한다. 다른 실시양태에서, 돌연변이는 또한 예를 들어, IL2 활성을 개선하고, IL2의 반감기를 개선하고, 안정성을 개선하는 등, IL2의 특성을 개선하는 1개 이상의 치환을 포함한다.

[0156] 본 섹션에서 하기 개시되는 바와 같이, 본원에 언급된 돌연변이는 서열식별번호: 2의 아미노산 위치 대비 돌연변이이다. 본 발명에 따르면, 하기 돌연변이 중 임의의 것이 단독으로 또는 다른 개시된 돌연변이 또는 관련 기술분야에 공지된 임의의 것과 조합되어 본원에 개시된 바와 같은 IL2 융합 단백질 중 1종 이상에서 사용될 수 있다.

[0157] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Carmenate et al., J Immunol, 200 (10) 3475-3484 (2018)] 및/또는 US 8,759,486에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 Q22, Q126, I129, S130 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, Q22V, Q126A, I129D, S130G, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 8,759,486 B2에 개시된 바와 같이 L18N, Q126Y 및 S130R 중 1개 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 8,759,486 B2에 개시된 바와 같이 Q13Y, Q126Y, I129D 및 S130R 중 1개 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 WO 2018/091003 A1에 개시된 바와 같이 K35E, K35D 및 K35Q 중 1개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0158] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Epstein et al. Blood, 101(12):4853-61] (2003)] 및/또는 US 7,371,371에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 R38에서의, 예를 들어, R38W를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 7,371,371 B2에 개시된 바와 같이 IL2의 아미노산 위치 22 내지 58의 밖의 1개 이상의 돌연변이 및 R38W의 돌연변이를 포함한다.

[0159] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)] 및/또는 US 8,906,356에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 91, 126, 또는 둘 다에서의, 예를 들어, V91R, Q126T 또는 둘 다를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)] 및 또한 US 8,906,356에 개시된 바와 같이 E15W의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)] 및 또한 US 8,906,356에 개시된 바와 같이 N88R 및 V91R 중 하나 또는 둘 다의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)] 및/또는 US 8,906,356에 개시된 바와 같이 Q126T 또는 Q126I의 돌연변이를 포함한다.

[0160] 일부 실시양태에서, IL2는 US 8,906,356 B2에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어 아미노산 69, 74, 91, 126 또는 그의 임의의 조합에서의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 US 8,906,356 B2에 개시된 바와 같이 V91R, Q126T, Q126L, Q127T 또는 그의 임의의 조합이다.

[0161] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)] 및/또는 US 7,569,215 B2에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 E15, N30, E68, V69, N71, S75, N90, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, N30S, E68D, V69A, N71A, S75P, N90H, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. Biochemistry, Vol. 44, No. 31 (2005)]에 개시된 바와 같이 E15W의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 US 7,569,215 B2에 개시된 바와 같이 V69A이다.

[0162] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)] 및/또는 US 7,951,360 B2에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 N29, Y31, K35, T37, K48, V69, N71, N88, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, N29S, Y31H, K35R, T37A, K48E, V69A, N71R, N88D, 또는 그의 임의의 조

합을 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. Biochemistry, Vol. 44, No. 31 (2005)]에 개시된 바와 같이 E15W의 돌연변이를 포함한다.

[0163] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)] 및/또는 US 8,349,311 B2에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 69, 74, 128, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, V69A, I128P 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0164] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)]에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 S4, T10, Q11, V69, N88, T133, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, S4P, T10A, Q11R, V69A, N88D, T133A, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0165] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)]에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 N30, V69, I128 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, N30S, V69A, I128T 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0166] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Wittrup et al. J Immunother. 32(9):887-94 (2009)]에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 K8, Q13, N26, N30, K35, T37, V69, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, K8R, Q13R, N26D, N30T, K35R, T37R, V69A, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0167] 일부 실시양태에서, IL2는 문헌 [Shanafelt et al., Nat Biotechnol.,18(11):1197-202 (2000)]에 개시된 1개 이상의 돌연변이, 예를 들어, 아미노산 잔기 N88에서의, 예를 들어, N88R을 포함한다.

[0168] 일부 실시양태에서, IL2는 US 9,616,105 B2에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 20, 88, 126 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, N88R, N88G 또는 N88I를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 9,616,105 B2에 개시된 바와 같이 N88R, N88G 또는 N88I의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 9,616,105 B2에 개시된 바와 같이 D20H, D20I 또는 D20Y의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 9,616,105 B2에 개시된 바와 같이 Q126L의 돌연변이를 포함한다.

[0169] 일부 실시양태에서, IL2는 US 2018/0125941 A1에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, D20H, N88I, N88G, N88R, Q126L, Q126F 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 2018/0037624 A1에 개시된 바와 같이 T3A, N88G, N88R, D20H, C125S, Q126L 및 Q126F 중 1개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0170] 일부 실시양태에서, IL2는 US 2017/0327555 A1에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 N88, D20, C125, Q126 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, N88G, N88R, D20H, C125S, Q126L, Q126F, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0171] 일부 실시양태에서, IL2는 WO 2016/025385 A1에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 D109, C125, 또는 둘 다에서의, 예를 들어, D109C, C125S 또는 둘 다를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 WO 2016/025385 A1에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어; 아미노산 잔기 D20, N88, Q126, C125, Q126, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, D20H, N88I, N88G, N88R, Q126L, C125S, Q126F, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0172] 일부 실시양태에서, IL2는 WO 2016/164937 A1에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 L12, Q13, E15, H16, L19, D20, M23, D84, S87, N88, V91, E95, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, L12G, L12K, L12Q, L12S, Q13G, E15A, E15G, E15S, H16A, H16D, H16G, H16K, H16M, H16N, H16R, H16S, H16T, H16V, H16Y, L19A, L19D, L19E, L19G, L19N, L19S, L19T, L19V, D20A, D20E, D20F, D20G, D20T, D20W, M23R, D84A, D84E, D84G, D84I, D84M, D84Q, D84R, D84S, D84T, S87E, N88A, N88D, N88E, N88F, N88G, N88M, N88R, N88S, N88V, N88W, V91D, V91E, V91G, V91S, E95G, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0173] 일부 실시양태에서, IL2는 US 9,932,380 B2 또는 US 9,580,486에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 잔기 V91에서의, 예를 들어, V91K를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 C125A 또는 C125S의 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 T3에서의 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, T3에서의 돌연변이는 T3A 또는 T3N 중 하나이다. 일부 실시양태에서, IL2는 S5에서의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 S5T이다.

[0174] 일부 실시양태에서, IL2는 US 9,732,134 B2에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, E15, H16, Q22, D84, N88, E95 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0175] 일부 실시양태에서, IL2는 US 2015/0218260 A1에 개시된 1개 이상의 돌연변이: 예를 들어, N88D를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 US 9,266,938 B2에 개시된 돌연변이: 예를 들어, 아미노산 42, 45, 72, 또는 그의 임의의 조합에서의, 예를 들어, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R 또는 L72K를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R 및 F42K의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2는 Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R 및 Y45K의 돌연변이를 포함한다.

[0176] 일부 실시양태에서, IL2는 1 내지 4개의 돌연변이: L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, 또는 L72K의 제1 돌연변이, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, 또는 F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, 또는 Y45K의 제2 돌연변이, T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K, 또는 T3P의 제3 돌연변이, 및/또는 C125A, C125S, C125T 또는 C125V의 제4 돌연변이를 포함한다. 본원에 열거되거나 본원에 인용된 특허, 특허 공개 또는 임의의 다른 참고문헌에 개시된 돌연변이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0177] 7.3.2 인터류킨-2 수용체 알파

[0178] 융합 단백질은 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2Rα)의 세포외 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL2Rα의 세포외 도메인은 서열식별번호: 7으로서 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 7과 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0179] 본원에 사용된 용어 "CD25" 또는 "IL2 수용체 a", "IL2Rα", "IL2Ra", "IL2-Rα", 및 "IL2-Ra"는 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유동물 및 달리 나타내지 않는 한 가축 또는 농업 포유동물을 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 또는 재조합 IL2Rα를 지칭한다. 상기 용어는 또한 IL2Rα의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체, 또는 비-자연 발생 변이체를 포괄한다. 인간 IL2는 그의 수용체 시스템인 IL2R을 통한 신호전달을 통해 그의 생물학적 효과를 발휘한다. IL2 및 그의 수용체 (IL2R)는 면역 반응에 중요한 T-세포 증식 및 다른 기본적인 기능에 필요하다. IL2R은 알파 (p55), 베타 (p75) 및 감마 (p65) 쇄인 3개의 비-공유 연결된 타입 I 막횡단 단백질로 이루어진다. 인간 IL2R 알파 쇄는 219개 아미노산의 세포외 도메인, 19개 아미노산의 막횡단 도메인 및 13개 아미노산의 세포내 도메인을 함유한다. IL2R 알파 (IL2Rα)의 분비된 세포외 도메인은 본원에 기재된 융합 단백질에 사용될 수 있다.

[0180] 인간 IL2Rα의 예시적인 성숙 형태의 아미노산 서열은 서열식별번호: 6에 제시된다. 프로세싱되지 않은 인간 IL2Rα는 서열식별번호: 5에 제시되어 있다. 서열식별번호: 5 및/또는 서열식별번호: 6의 세포외 도메인이 서열식별번호: 7에 제시되어 있다. 마우스 IL2Rα의 예시적인 성숙 형태의 아미노산 서열은 서열식별번호: 9에 제시된다. 프로세싱되지 않은 마우스 IL2Rα는 서열식별번호: 8에 제시된다. 서열식별번호: 8 및/또는 서열식별번호: 9의 세포외 도메인은 서열식별번호: 10에 제시되어 있다. "야생형 IL2Rα"로도 명명되는 "천연 IL2Rα"는 자연 발생 또는 재조합 IL2Rα를 의미한다.

[0181] IL2Rα에 대한 핵산 및 아미노산 서열은 공지되어 있다. 예를 들어, 진뱅크 수탁 번호 NP_001030597.1 (P. 트로글로디테스); NP_001028089.1 (M. 물라타); NM_001003211.1 (C. 루푸스); NP_776783.1 (B. 타우루스); NP_032393.3 (M. 무스쿨루스); 및 NP_037295.1 (R. 노르베기쿠스)을 참조한다.

[0182] 본원에 사용된 IL2Rα의 세포외 도메인은 달리 명시되지 않는 한 IL2에 대한 결합에서 그의 정상 역할을 하는 기능적 IL2Rα 세포외 도메인을 의미한다. 용어 IL2Rα EC 도메인은 IL2 결합에 있어서 전장 야생형 IL2Rα EC의 기능을 보유하는 그의 기능적 단편, 변이체, 유사체 또는 유도체를 포함한다. IL2Rα EC 도메인은 인간, 돼지, 개, 래트 또는 뮤린 IL2Rα EC 도메인일 수 있다. 어구 "IL2Rα EC 도메인의 생물학적 활성"은 IL2 수용체 반응성 세포에서 세포내 신호전달을 증진시키는 능력을 포함하나 이에 제한되지는 않는 IL2Rα의 EC 도메인의 하나 이상의 생물학적 활성을 지칭한다. IL2Rα EC 도메인의 생물학적 활성 단편 및 변이체의 비-제한적인 예는 예를 들어 문헌 [Robb et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5654-5658, 1988]에 개시되어 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2Rα EC 도메인의 생물학적 활성 단편 및 변이체는 천연 IL2Rα의 세포외 도메인과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 포함한다.

[0183] IL2Rα의 세포외 도메인의 생물학적 활성 단편 및 변이체는 본원에 개시된 융합 단백질에서 사용될 수 있다.

이러한 기능적 단편은 서열식별번호: 7 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 연속적인 아미노산을 포함할 수 있다. 대안적으로, 기능적 변이체는 서열식별번호: 7에 제시된 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있다.

[0184] IL2Rα의 세포외 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 활성 변이체 및 단편이 추가로 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 7을 코딩하는 폴리펩티드의 적어도 100, 200, 300, 400, 500, 600개 또는 그 초과의 연속적인 뉴클레오티드를 포함하고, IL2Rα의 세포외 도메인 활성을 갖는 단백질을 계속 코딩할 수 있다. 대안적으로, 기능적 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 코딩하는 폴리펩티드에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있고, IL2Rα의 세포외 도메인 활성을 갖는 단백질을 계속 코딩할 수 있다.

[0185] IL2Rα의 폴리펩티드 서열은 표 2에 언급된다.

[0186] 표 2.

| SEQ ID NO | 설명 | 서열 |
|---|---|---|
| 5 | IL2Rα (인간, 프로세싱되지 않은 형태) | MDSYLLMWGLLTFIMVPGCQAELCDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTS SATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVC KMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESET SCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGCVFLLISVLL LSGLTWQRRQRKSRRTI |
| 6 | IL2Rα (인간, 성숙 형태) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLY MLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEME TSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQVAVAGCVFLLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI |
| 7 | IL2Rα (인간, IL2Rα 세포외 도메인의 성숙 형태) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLY MLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEME TSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQ |
| 8 | IL2Rα (마우스, 프로세싱되지 않은 형태) | MEPRLLMLGFLSLTIVPSCRAELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKS RKQVTAQLEHQKEQQTTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPP WKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCG KTGWTQPQLTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITT TDFPQPTETTAMTETFVLTMEYKVAVASCLFLLISILLLSGLTW QHRWRKSRRTI |

[0187]

| | | |
|---|---|---|
| 9 | IL2Rα (마우스, 성숙 형태) | ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYM RCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTTDM QKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYE CIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHHRFL ASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETFVLTMEY KVAVASCLFLLISILLLSGLTWQHRWRKSRRTI |
| 10 | IL2Rα (마우스, IL2Rα 세포외 도메인의 성숙 형태) | ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYM RCLGNSWSSNCQCTSNILRASHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTT TDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSV HYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETFVL TMEYK |
| 11 | IL2Rα (인간, IL2Rα 세포외 도메인의 성숙 형태) - 완전-말단절단됨 | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLY MLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE |
| 12 | IL2Rα (인간, IL2Rα 세포외 도메인의 성숙 형태) - 절반-말단절단됨 | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLY MLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEME TSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |

[0188]

[0189] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 융합 단백질은 IL2Rα의 EC 도메인 내에 적어도 1개의 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0190] 일부 실시양태에서, IL2Rα 폴리펩티드의 EC 도메인은 천연 IL2Rα의 세포외 도메인 (서열식별번호: 7)과 비교하여 적어도 1개 더 적은 글리코실화, 적어도 2개 더 적은 글리코실화, 적어도 3개 더 적은 글리코실화, 적어도 4개 더 적은 글리코실화, 적어도 5개 더 적은 글리코실화, 적어도 6개 더 적은 글리코실화, 적어도 7개 더 적은 글리코실화, 적어도 8개 더 적은 글리코실화 또는 적어도 9개 더 적은 글리코실화를 갖는다.

[0191] 일부 실시양태에서, 적어도 1개 더 적은 글리코실화를 갖는 IL2Rα 폴리펩티드의 EC 도메인은 글리코실화를 제거하는 돌연변이를 포함한다. 다른 실시양태에서, 융합 단백질은 글리코실화 부위를 갖는 아미노산의 글리코실화 부위를 갖지 않는 아미노산으로의 치환인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 O-글리코실화 및/또는 N-글리코실화를 제거한다. 한 실시양태에서, 돌연변이는 O-글리코실화를 제거한다. 또 다른 실시양태에서, 돌연변이는 N-글리코실화를 제거한다.

[0192] 일부 실시양태에서, 융합 단백질에서의 돌연변이는 IL2Rα의 C-말단의 결실을 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 167 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 168 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 169 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 170 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 171 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 172 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 173 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 174 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 175 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 176 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 177 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 178 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아

미노산 179 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 180 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 181 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 182 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 183 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 184 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 185 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 186 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 187 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 188 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 189 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 190 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 191 내지 219의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7의 아미노산 192 내지 219의 결실이다.

[0193] 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7에 상응하는 167, 168, 169 또는 171 내지 192로부터 219까지의 아미노산의 결실이다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 서열식별번호: 7에 상응하는 170 내지 219의 결실을 포함하지 않는다.

[0194] 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이로써 본질적으로 이루어지거나, 또는 이로써 이루어진다. 다른 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 11 및 +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, +21, +22, +23, +24 또는 +25개 아미노산을 포함하거나, 이로써 본질적으로 이루어지거나, 또는 이로써 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산을 갖는 서열식별번호: 11을 포함하거나, 이로써 본질적으로 이루어지거나, 또는 이로써 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 이로써 본질적으로 이루어지거나, 또는 이로써 이루어진다.

[0195] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 1개 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 돌연변이는 글리코실화된 IL2Rα의 아미노산의 글리코실화되지 않은 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다.

[0196] 일부 실시양태에서, IL2Rα의 1개 이상의 치환 아미노산은 아미노산 N49, 아미노산 N68, 아미노산 T74, 아미노산 T85, 아미노산 T197, 아미노산 T203, 아미노산 T208 및 아미노산 T216 또는 그의 임의의 조합에서 이루어지며, 여기서 아미노산 위치는 서열식별번호: 7에 상응한다.

[0197] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 아스파라긴으로부터 또 다른 아미노산으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 아스파라긴으로부터 알라닌, 트레오닌, 세린, 아르기닌, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다.

[0198] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 트레오닌으로부터 또 다른 아미노산으로의 치환이다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 치환은 트레오닌으로부터 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로의 치환이다.

[0199] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 N49이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미노산 N49는 알라닌, 트레오닌, 세린, 아르기닌, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0200] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 N68이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미노산 N68은 알라닌, 트레오닌, 세린, 아르기닌, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0201] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 T74이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미

노산 T74는 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0202] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 T85이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미노산 T85는 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0203] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 T197이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미노산 T197은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0204] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 T203이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미노산 T203은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0205] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 T208이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미노산 T208은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0206] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7의 아미노산 T216이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7의 아미노산 T216은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0207] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 1개 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 돌연변이는 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하는 IL2Rα의 아미노산의 근처 아미노산에서의 글리코실화를 허용하지 않는 아미노산으로의 1개 이상의 치환이다.

[0208] 일부 실시양태에서, 치환은 아미노산 S50, 아미노산 S51, 아미노산 T69, 아미노산 T70, 아미노산 C192 또는 그의 임의의 조합에서 이루어지며, 여기서 아미노산 위치는 서열식별번호: 7에 상응한다.

[0209] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 S50이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 S50은 프롤린으로 돌연변이된다.

[0210] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 S51이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 S51은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0211] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 T69이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 T69는 프롤린으로 돌연변이된다.

[0212] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 T70이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 T70은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0213] 일부 실시양태에서, 치환은 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 C192이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 7에 상응하는 아미노산 C192는 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산으로 돌연변이된다.

[0214] 7.3.3 링커

[0215] 본 개시내용의 융합 단백질은 링커를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 제1 폴리펩티드를 제2 폴리펩티드에 N-말단에서 C-말단으로, 예를 들어, N-IL2-링커-IL2Rα EC-C로 연결할 수 있다. 다른 실시양태에서, 링커는 제2 폴리펩티드를 제1 폴리펩티드에 N-말단에서 C-말단으로, 예를 들어, N-IL2Rα EC-링커-IL2-C로 연결할 수 있다.

[0216] 한 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질은 IL2 폴리펩티드와 IL2Rα 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 아미노산을 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 본 개시내용에 유용한 링커는 적어도 1개의 아미노산 및 100개 미만의 아미노산, 90개 미만의 아미노산, 80개 미만의 아미노산, 70개 미만의 아미노산, 60개 미만의 아미노산, 50개 미만의 아미노산, 40개 미만의 아미노산, 30개 미만의 아미노산, 20개 미만의 아미노산, 19개 미만의 아미노산, 18개 미만의 아미노산, 17개 미만의 아미노산, 16개 미만의 아미노산, 15개 미만의 아미노산, 14개 미만의 아미노산, 13개 미만의 아미노산 또는 12개 미만의 아미노산을 갖는다. 한 실시양태에서, 링커 서열은 글리신 아미노산 잔기를 포함한다. 다른 경우에, 링커 서열은 글리신 및 세린 아미노산 잔기의 조합을 포함한다.

[0217] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드 사이에 인 프레임으로 융합된 링커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 글리신/세린 링커인 링커를 포함한다. 이러한 글리신/세린 링커는 펩티드 GGGS (서열식별번호: 174) 또는 GGGGS (서열식별번호: 72), 또는 이들 주어진 펩티드의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 반복부를 포함한 이들의 반복부를 포함하나 이에 제한되지는 않는 아미노산 잔기의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 글리신/세린 링커는 $(GS)_n$, $(GGS)_n$, $(GGGS)_n$, $(GGGGS)_n$ 또는 $(GGGGS)_n$의 아미노산 서열을 포함하며, n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10의 정수이다. 특정한 실시양태에서, 링커 서열은 GGGSGGGSGGGS (서열식별번호: 71) (또한 $(Gly_3Ser)_3$으로 나타내어짐)를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 링커 서열은 GGGSGGGSGGGSGGGS (서열식별번호: 74) (또한 $(Gly_3Ser)_4$으로 나타내어짐)를 포함한다. 다른 실시양태에서, 링커 서열은 $(Gly_3Ser)_5$ (GGGSGGGSGGGSGGGSGGGS) (서열식별번호: 75), $(Gly_3Ser)_6$ (GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGS) (서열식별번호: 76) 또는 $(Gly_3Ser)_7$ (GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGS) (서열식별번호: 77) 중 하나를 포함한다. 다른 실시양태에서, 링커 서열은 서열식별번호: 78에 제시된 바와 같이 $(Gly_4Ser)_3$ (GGGGSGGGGSGGGGS)를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 링커 서열은 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (서열식별번호: 79) (또한 $(Gly_4Ser)_4$으로 나타내어짐); GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (서열식별번호: 80) (또한 $(Gly_4Ser)_5$으로 나타내어짐); $(Gly_4Ser)_2$ (GGGGSGGGGS) (서열식별번호: 81), $(Gly_4Ser)_1$ (GGGGS) (서열식별번호: 82), $(Gly_4Ser)_6$ (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS) (서열식별번호: 83); $(Gly_4Ser)_7$ (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS) (서열식별번호: 97); 또는 $(Gly_4Ser)_5$ (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS) (서열식별번호: 84)를 포함한다.

[0218] 7.3.4 이종 모이어티

[0219] 본 개시내용의 융합 단백질은 추가의 성분, 예를 들어, 이종 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 요소는 융합 단백질의 발현을 돕고/돕거나, 융합 단백질의 분비를 돕고/돕거나, 융합 단백질의 안정성을 개선하고/하거나, 단백질의 보다 효율적인 정제를 가능하게 하고/하거나 융합 단백질의 활성을 조정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이종 모이어티는 폴리펩티드 모이어티이다. 다른 실시양태에서, 이종 모이어티는 비-폴리펩티드 모이어티이다.

[0220] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 폴리펩티드에 융합된 이종 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제2 폴리펩티드에 융합된 이종 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드에 융합된 이종 모이어티를 포함한다.

[0221] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 1종 이상의 추가의 이종 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이종 모이어티는 반감기 연장 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 이종 모이어티는 알부민, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분, 이뮤노글로불린-결합 폴리펩티드, 이뮤노글로불린 G (IgG), 알부민-결합 폴리펩티드 (ABP), PAS화 모이어티, HES화 모이어티, XTEN, PEG화 모이어티, Fc 영역, 및 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0222] 1) 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분

[0223] 이뮤노글로불린 불변 영역은 CH (불변 중쇄) 도메인으로 표시되는 도메인 (CH1, CH2 등)으로 구성된다. 이소형, (즉, IgG, IgM, IgA IgD 또는 IgE)에 따라, 불변 영역은 3 또는 4개의 CH 도메인으로 구성될 수 있다. 일부 이소형 (예를 들어 IgG) 불변 영역은 또한 힌지 영역을 함유한다. 문헌 [Janeway et al. 2001, Immunobiology, Garland Publishing, N.Y., N.Y.]를 참조한다.

[0224] 본 개시내용의 융합 단백질을 생산하기 위한 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분은 다수의 상이한 공급원으로부터 수득될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분은 인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된다. 그러나, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분은 예를 들어 설치류 (예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 기니 피그) 또는 비-인간 영장류 (예를 들어 침팬지, 마카크) 종을 포함한 또 다른 포유동물 종의 이뮤노글로불린으로부터 유래될 수 있는 것으로 이해된다. 더욱이, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분은 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE를 포함한 임의의 이뮤노글로불린 부류, 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함한 임의의 이뮤노글로불린 이소형으로부터 유래될 수 있다. 한 실시양태에서, 인간 이소형 IgG1이 사용된다.

[0225] 다양한 이뮤노글로불린 불변 영역 유전자 서열 (예를 들어 인간 불변 영역 유전자 서열)은 공개적으로 접근가능한 기탁의 형태로 이용가능하다. 특정한 이펙터 기능을 갖는 (또는 특정한 이펙터 기능이 결여된) 또는 면역원성을 감소시키기 위한 특정한 변형을 갖는 불변 영역 도메인 서열이 선택될 수 있다. 항체 및 항체-코딩 유전자의 다수의 서열이 공개되었고, 적합한 Ig 불변 영역 서열 (예를 들어 힌지, CH2 및/또는 CH3 서열, 또는 그의 부분)은 관련 기술분야에 인식된 기술을 사용하여 이들 서열로부터 유래될 수 있다. 이어서, 상기 방법 중 임의의 것을 사용하여 수득된 유전 물질을 변경시키거나 또는 합성하여 본 개시내용의 폴리펩티드를 수득할 수 있다. 본 개시내용의 범주는 불변 영역 DNA 서열의 대립유전자, 변이체 및 돌연변이를 포괄하는 것으로 추가로 인지될 것이다.

[0226] 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분의 서열은, 예를 들어, 관심 도메인을 증폭시키기 위해 선택되는 폴리머라제 연쇄 반응 및 프라이머를 사용하여 클로닝될 수 있다. 항체로부터 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분의 서열을 클로닝하기 위해, mRNA를 하이브리도마, 비장 또는 림프 세포로부터 단리시키고, DNA로 역전사시키고, PCR에 의해 항체 유전자를 증폭시킬 수 있다. PCR 증폭 방법은 미국 특허 번호 4,683,195; 4,683,202; 4,800,159; 4,965,188; 및 예를 들어, 문헌 ["PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications" Innis et al. eds., Academic Press, San Diego, CA (1990); Ho et al. 1989. Gene 77:51; Horton et al. 1993. Methods Enzymol. 217:270)]에 상세히 기재되어 있다. PCR은 컨센서스 불변 영역 프라이머에 의해, 또는 공개된 중쇄 및 경쇄 DNA 및 아미노산 서열에 기초한 보다 특이적인 프라이머에 의해 개시될 수 있다. 상기 논의된 바와 같이, PCR은 또한 항체 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 DNA 클론을 단리하는 데 사용될 수 있다. 이러한 경우에 라이브러리는 컨센서스 프라이머 또는 보다 큰 상동 프로브, 예컨대 마우스 불변 영역 프로브에 의해 스크리닝될 수 있다. 항체 유전자의 증폭에 적합한 수많은 프라이머 세트는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 정제된 항체의 N-말단 서열에 기초한 5' 프라이머 (Benhar and Pastan. 1994. Protein Engineering 7:1509); cDNA 말단의 신속한 증폭 (Ruberti, F. et al. 1994. J. Immunol. Methods 173:33); 항체 리더 서열 (Larrick et al. 1989 Biochem. Biophys. Res. Commun. 160:1250)). 항체 서열의 클로닝은 1995년 1월 25일에 출원된 뉴만(Newman) 등의 미국 특허 번호 5,658,570에 추가로 기재되어 있다.

[0227] 본원에 사용된 이뮤노글로불린 불변 영역은 모든 도메인 및 힌지 영역 또는 그의 부분을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분은 CH2 도메인, CH3 도메인, 및 힌지 영역, 즉, Fc 영역 또는 FcRn 결합 파트너를 포함한다.

[0228] 본원에 사용된 용어 "Fc 영역"은 천연 이뮤노글로불린의 Fc 영역에 상응하는 폴리펩티드의 부분으로서 정의되고, 즉, 그의 2개의 중쇄의 각각의 Fc 도메인의 이량체 회합에 의해 형성된 바와 같다. 천연 Fc 영역은 또 다른 Fc 영역과 동종이량체를 형성한다.

[0229] 한 실시양태에서, "Fc 영역"은 파파인 절단 부위의 바로 상류의 힌지 영역 (즉, 중쇄 불변 영역의 제1 잔기를 114로 취하여, IgG에서 잔기 216)에서 시작하여, 항체의 C-말단에서 종료하는 단일 이뮤노글로불린 중쇄의 부분을 지칭한다. 따라서, 완전 Fc 도메인은 적어도 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다.

[0230] 이뮤노글로불린 불변 영역의 Fc 영역은 이뮤노글로불린 이소형에 따라 CH2, CH3, 및 CH4 도메인, 뿐만 아니라 힌지 영역을 포함할 수 있다. 이뮤노글로불린의 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질은 증가된 안정성, 증가된 혈

청 반감기 (문헌 [Capon et al., 1989, Nature 337:525] 참조), 뿐만 아니라 Fc 수용체 예컨대 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 대한 결합 (미국 특허 번호 6,086,875, 6,485,726, 6,030,613; WO03/077834; US2003-0235536A1)을 포함한 융합 단백질에 대해 여러 바람직한 특성을 제공한다.

[0231] 일부 실시양태에서, "Fc 영역"은 Fc 도메인 또는 Fc 도메인에서 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, Fc 영역은 하기 중 적어도 하나를 포함한다: 힌지 (예를 들어 상부, 중부 및/또는 하부 힌지 영역) 도메인 (EU 넘버링에 따른 항체 Fc 영역의 대략 아미노산 216-230), CH2 도메인 (EU 넘버링에 따른 항체 Fc 영역의 대략 아미노산 231-340), CH3 도메인 (EU 넘버링에 따른 항체 Fc 영역의 대략 아미노산 341-438), CH4 도메인 또는 그의 변이체, 부분 또는 단편. 다른 실시양태에서, Fc 영역은 완전 Fc 도메인 (즉 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인)을 포함한다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 CH3 도메인 (또는 그의 부분)에 융합된 힌지 도메인 (또는 그의 부분), CH2 도메인 (또는 그의 부분)에 융합된 힌지 도메인 (또는 그의 부분), CH3 도메인 (또는 그의 부분)에 융합된 CH2 도메인 (또는 그의 부분), 힌지 도메인 (또는 그의 부분) 및 CH3 도메인 (또는 그의 부분) 둘 다에 융합된 CH2 도메인 (또는 그의 부분)을 포함하거나, 이로써 본질적으로 이루어지거나 또는 이로써 이루어진다. 또 다른 실시양태에서, Fc 영역은 CH2 도메인의 적어도 일부분 (예를 들어 CH2 도메인의 전부 또는 일부)이 결여되어 있다. 특정한 실시양태에서, Fc 영역은 EU 넘버 221 내지 447에 해당하는 아미노산을 포함하거나 또는 이로써 이루어진다.

[0232] 본원에서 F, F1, 또는 F2로 표시되는 Fc 도메인은 다수의 상이한 공급원으로부터 수득할 수 있다. 한 실시양태에서, 폴리펩티드의 Fc 영역은 인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된다. 그러나, Fc 영역은, 예를 들어 설치류 (예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 기니 피그) 또는 비-인간 영장류 (예를 들어 침팬지, 마카크) 종을 포함한 또 다른 포유동물 종의 이뮤노글로불린으로부터 유래될 수 있는 것으로 이해된다. 더욱이, Fc 도메인 또는 또는 그의 부분의 폴리펩티드는 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE를 포함한 임의의 이뮤노글로불린 부류, 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함한 임의의 이뮤노글로불린 이소형으로부터 유래될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 인간 이소형 IgG1이 사용된다.

[0233] 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 상기 야생형 Fc 도메인을 포함하는 Fc 영역에 의해 부여된 적어도 하나의 이펙터 기능의 변화 (예를 들어, Fc 수용체 (예를 들어 FcγRI, FcγRII, 또는 FcγRIII) 또는 보체 단백질 (예를 들어 C1q)에 결합하거나, 또는 항체-의존성 세포독성 (ADCC), 식세포작용, 또는 보체-의존성 세포독성 (CDCC)을 촉발하는 Fc 영역의 능력의 개선 또는 감소)를 부여한다. 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 조작된 시스테인 잔기를 제공한다.

[0234] 본 개시내용의 Fc 영역은 이펙터 기능 및/또는 FcR 결합의 변화 (예를 들어, 증진 또는 감소)를 부여하는 것으로 공지된 관련 기술분야에 인식된 Fc 변이체를 사용할 수 있다. 특히, 본 개시내용의 결합 분자는 예를 들어, 국제 PCT 공개 WO88/07089A1, WO96/14339A1, WO98/05787A1, WO98/23289A1, WO99/51642A1, WO99/58572A1, WO00/09560A2, WO00/32767A1, WO00/42072A2, WO02/44215A2, WO02/060919A2, WO03/074569A2, WO04/016750A2, WO04/029207A2, WO04/035752A2, WO04/063351A2, WO04/074455A2, WO04/099249A2, WO05/040217A2, WO04/044859, WO05/070963A1, WO05/077981A2, WO05/092925A2, WO05/123780A2, WO06/019447A1, WO06/047350A2 및 WO06/085967A2; 미국 특허 공개 US2007/0231329, US2007/0231329, US2007/0237765, US2007/0237766, US2007/0237767, US2007/0243188, US20070248603, US20070286859, US20080057056; 또는 미국 특허 5,648,260; 5,739,277; 5,834,250; 5,869,046; 6,096,871; 6,121,022; 6,194,551; 6,242,195; 6,277,375; 6,528,624; 6,538,124; 6,737,056; 6,821,505; 6,998,253; 7,083,784; 7,404,956, 및 7,317,091에 개시된 아미노산 위치 중 1개 이상에서의 변화 (예를 들어, 치환)을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개시된 아미노산 위치 중 1개 이상에서 특정 변화 (예를 들어, 관련 기술분야에 개시된 1개 이상의 아미노산의 특정 치환)가 이루어질 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 개시된 아미노산 위치 중 1개 이상에서 상이한 변화 (예를 들어, 관련 기술분야에 개시된 1개 이상의 아미노산 위치의 상이한 치환)가 이루어질 수 있다.

[0235] IgG의 Fc 영역은 널리 인식된 절차, 예컨대 부위 지정 돌연변이유발 등에 따라 변형되어 Fc 수용체에 의해 결합될 변형된 IgG 또는 Fc 단편 또는 그의 부분을 수득할 수 있다. 이러한 변형은 Fc 수용체 접촉 부위로부터 떨어진 변형뿐만 아니라 Fc 수용체에 대한 결합을 보존하거나 또는 심지어 증진시키는 접촉 부위 내의 변형을 포함한다. 예를 들어, 인간 IgG1 Fc (Fc γ1) 내의 하기 단일 아미노산 잔기는 Fc 수용체에 대한 Fc 결합 친화도의 유의한 상실 없이 치환될 수 있으며: P238A, S239A, K246A, K248A, D249A, M252A, T256A, E258A, T260A, D265A, S267A, H268A, E269A, D270A, E272A, L274A, N276A, Y278A, D280A, V282A, E283A, H285A, N286A, T289A, K290A, R292A, E293A, E294A, Q295A, Y296F, N297A, S298A, Y300F, R301A, V303A, V305A, T307A, L309A, Q311A, D312A, N315A, K317A, E318A, K320A, K322A, S324A, K326A, A327Q, P329A, A330Q, P331A,

E333A, K334A, T335A, S337A, K338A, K340A, Q342A, R344A, E345A, Q347A, R355A, E356A, M358A, T359A, K360A, N361A, Q362A, Y373A, S375A, D376A, A378Q, E380A, E382A, S383A, N384A, Q386A, E388A, N389A, N390A, Y391F, K392A, L398A, S400A, D401A, D413A, K414A, R416A, Q418A, Q419A, N421A, V422A, S424A, E430A, N434A, T437A, Q438A, K439A, S440A, S444A, 및 K447A, 여기서 예를 들어 P238A는 위치 238번에서 알라닌에 의해 치환된 야생형 프롤린을 나타낸다. 예로서, 구체적 실시양태는 고도로 보존된 N-글리코실화 부위를 제거하는 N297A 돌연변이를 포함한다. 알라닌 이외에도, 상기 명시된 위치에서 야생형 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시킬 수 있다. 돌연변이는 Fc 내로 도입되어 천연 Fc와 구별되는 100개 초과의 Fc 영역을 생성할 수 있다. 추가로, 이들 개별 돌연변이의 2개, 3개 또는 그 초과의 조합이 함께 도입되어, 수백개 초과의 Fc 영역을 생성할 수 있다. 더욱이, 본 개시내용의 구축물의 Fc 영역 중 하나는 돌연변이될 수 있고, 구축물의 다른 Fc 영역은 전혀 돌연변이되지 않을 수 있거나, 또는 둘 다는 돌연변이되지만 상이한 돌연변이를 가질 수 있다.

[0236] 특정의 상기 돌연변이는 Fc 영역에 새로운 기능성을 부여할 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태는 고도로 보존된 N-글리코실화 부위를 제거하는 N297A를 포함한다. 이러한 돌연변이의 효과는 면역원성을 감소시키고, 이에 의해 Fc 영역의 순환 반감기를 증진시키고, Fc 영역이 친화도를 손상시키지 않으면서 FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, 및 FcγRIIIA에 결합할 수 없게 하는 것이다 (Routledge et al. 1995, Transplantation 60:847; Friend et al. 1999, Transplantation 68:1632; Shields et al. 1995, J. Biol. Chem. 276:6591). 상기 기재된 돌연변이로부터 발생하는 새로운 기능성의 추가의 예로서 Fc 수용체에 대한 친화도는 일부 경우에 야생형의 것을 넘어 증가될 수 있다. 이러한 증가된 친화도는 증가된 "온" 속도, 감소된 "오프" 속도 또는 증가된 "온" 속도 및 감소된 "오프" 속도 둘 다를 반영할 수 있다. Fc 수용체에 대한 증가된 친화도를 부여하는 것으로 여겨지는 돌연변이의 예는 T256A, T307A, E380A, 및 N434A를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다 (Shields et al. 2001, J. Biol. Chem. 276:6591).

[0237] 추가로, 적어도 3개의 인간 Fc 감마 수용체는 하부 힌지 영역 내의 IgG 상의 결합 부위, 일반적으로 아미노산 234-237을 인식하는 것으로 보인다. 따라서, 새로운 기능성 및 잠재적 감소된 면역원성의 또 다른 예는, 예를 들어 인간 IgG1 "ELLG"의 아미노산 233-236을 IgG2 "PVA"로부터의 상응하는 서열로 대체함으로써 (1개의 아미노산 결실을 가짐), 이러한 영역의 돌연변이로부터 발생할 수 있다. 다양한 이펙터 기능을 매개하는 FcγRI, FcγRII, 및 FcγRIII은 상기 돌연변이가 도입되었을 때 IgG1에 결합하지 않을 것으로 나타났다. 문헌 [Ward 및 Ghetie 1995, Therapeutic Immunology 2:77 및 Armour et al. 1999, Eur. J. Immunol. 29:2613].

[0238] 한 실시양태에서, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분, 예를 들어, Fc 영역은 서열 PKNSSMISNTP (서열식별번호: 98)를 포함하고 임의로 HQSLGTQ (서열식별번호: 93), HQNLSDGK (서열식별번호: 94), HQNISDGK (서열식별번호: 95) 또는 VISSHLGQ (서열식별번호: 96) (미국 특허 번호 5,739,277)로부터 선택된 서열을 추가로 포함하는 폴리펩티드이다.

[0239] 특정 실시양태에서, 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분은 헤미-글리코실화된다. 예를 들어, 2개의 Fc 영역 또는 FcRn 결합 파트너를 포함하는 융합 단백질은 제1, 글리코실화, Fc 영역 (예를 들어, 글리코실화 CH2 영역) 및 제2, 비-글리코실화, Fc 영역 (예를 들어, 비-글리코실화 CH2 영역)을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 링커는 글리코실화 및 비-글리코실화 Fc 영역 사이에 개재될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, Fc 영역 또는 FcRn 결합 파트너는 완전히 글리코실화되고, 즉, 모든 Fc 영역은 글리코실화된다. 다른 실시양태에서, Fc 영역은 비-글리코실화될 수 있고, 즉, 어떠한 Fc 모이어티도 글리코실화되지 않는다.

[0240] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질은 Ig 불변 영역의 항원-비의존성 이펙터 기능, 특히 단백질의 순환 반감기를 변경시키는 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 그의 부분 (예를 들어, Fc 변이체)으로의 아미노산 치환을 포함한다.

[0241] 이러한 단백질은 이들 치환이 결여된 단백질과 비교 시 Fc 수용체에 대한 증가된 또는 감소된 결합을 나타내고, 따라서, 각각 증가된 또는 감소된 혈청내 반감기를 갖는다. Fc 수용체에 대한 개선된 친화도를 갖는 Fc 변이체는 보다 긴 혈청 반감기를 가질 것으로 예상되고, 이러한 분자는 예를 들어 만성 질환 또는 장애의 치료를 위해 투여되는 폴리펩티드의 긴 반감기가 요구되는 포유동물의 치료 방법에서 유용할 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 7,348,004, 7,404,956, 및 7,862,820 참조). 대조적으로, 감소된 Fc 수용체 결합 친화도를 갖는 Fc 변이체는 보다 짧은 반감기를 가질 것으로 예상되고, 이러한 분자는 또한 예를 들어 단축된 순환 시간이 유리할 수 있는 포유동물에게 투여하기 위해, 예를 들어 생체내 진단 영상화를 위해 또는 출발 폴리펩티드가 연장된 기간 동안 순환에 존재할 때 독성 부작용을 갖는 상황에 유용하다. 감소된 Fc 수용체 결합 친화도를 갖는 Fc 변이체는 또한 태반을 가로지를 가능성이 더 작고, 따라서, 또한 임신한 여성의 질환 또는 장애의 치료에 유용하다.

추가로, 감소된 Fc 수용체 결합 친화성이 요구될 수 있는 다른 용도는 뇌, 신장, 및/또는 간으로의 국부화가 요구되는 그러한 용도를 포함한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질은 혈관계로부터 신장 사구체의 상피를 가로질러 감소된 수송을 나타낸다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질은 뇌로부터 혈관 공간으로 혈액 뇌 장벽 (BBB)을 가로질러 감소된 수송을 나타낸다. 한 실시양태에서, 변경된 Fc 수용체 결합을 갖는 단백질은 Ig 불변 영역의 "Fc 수용체 결합 루프" 내에 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 적어도 1개의 Fc 영역 (예를 들어, 1 또는 2개의 Fc 영역)을 포함한다. Fc 수용체 결합 루프는 야생형, 전장, Fc 영역의 아미노산 잔기 280-299 (EU 넘버링에 따름)로 구성된다. 다른 실시양태에서, 변경된 Fc 수용체 결합 친화도를 갖는 본 개시내용의 Ig 불변 영역 또는 그의 부분은 하기 EU 위치: 256, 277-281, 283-288, 303-309, 313, 338, 342, 376, 381, 384, 385, 387, 434 (예를 들어, N434A 또는 N434K), 및 438 중 어느 하나에 상응하는 아미노산 위치에서 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 적어도 1개의 Fc 영역을 포함한다. Fc 수용체 결합 활성을 변경시키는 예시적인 아미노산 치환은 국제 PCT 공개 번호 WO05/047327에 개시되어 있다.

[0242] 2) 알부민 또는 단편 또는 그의 변이체

[0243] 특정 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및/또는 IL2Rα EC 도메인에 연결된 이종 모이어티는 알부민 또는 그의 기능적 단편이다.

[0244] 그의 전장 형태의 609개 아미노산의 단백질인 인간 혈청 알부민 (HSA 또는 HA)은 혈청의 삼투압의 상당한 부분을 담당하고, 또한 내인성 및 외인성 리간드의 담체로서 기능한다. 본원에 사용된 용어 "알부민"은 전장 알부민 또는 그의 기능적 단편, 변이체, 유도체 또는 유사체를 포함한다.

[0245] 한 실시양태에서, 융합 단백질은 본원에 기재된 IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인 및 그의 알부민, 단편 또는 변이체를 포함하며, 여기서 IL2 폴리펩티드는 알부민 또는 그의 단편 또는 변이체에 연결된다. 또 다른 실시양태에서, 융합 단백질은 본원에 기재된 IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인 및 그의 알부민, 단편 또는 변이체를 포함하며, 여기서 IL2Rα EC는 알부민 또는 그의 단편 또는 변이체에 연결된다.

[0246] 다른 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인에 연결된 이종 모이어티는 알부민 또는 그의 단편 또는 변이체이고, 이는 IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인의 반감기를 연장시킨다 (또는 연장시킬 수 있다). 알부민 또는 그의 단편 또는 변이체의 추가의 예는 미국 특허 공보 번호 2008/0194481 A1, 2008/0004206 A1, 2008/0161243 A1, 2008/0261877 A1, 또는 2008/0153751 A1 또는 PCT 출원 공개 번호 2008/033413 A2, 2009/058322 A1, 또는 2007/021494 A2에 개시되어 있다.

[0247] 3) 알부민 결합 모이어티

[0248] 특정 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인에 연결된 이종 모이어티는 알부민 결합 펩티드, 박테리아 알부민 결합 도메인, 알부민-결합 항체 단편, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 알부민 결합 모이어티이다. 예를 들어, 알부민 결합 단백질은 박테리아 알부민 결합 단백질, 항체 또는 도메인 항체를 포함하는 항체 단편일 수 있다 (미국 특허 번호 6,696,245 참조). 알부민 결합 단백질은, 예를 들어 박테리아 알부민 결합 도메인, 예컨대 스트렙토코쿠스 단백질 G 중 하나일 수 있다 (Konig, T. 및 Skerra, A. (1998) J. Immunol. Methods 218, 73-83). 접합 파트너로서 사용될 수 있는 알부민 결합 펩티드의 다른 예는, 예를 들어 미국 특허 출원 2003/0069395 또는 문헌 [Dennis et al. (Dennis et al. (2002) J. Biol. Chem. 277, 35035-35043]에 기재된 바와 같이 Cys-Xaa $_1$-Xaa $_2$-Xaa $_3$-Xaa $_4$-Cys 컨센서스 서열을 갖는 것들이며, 여기서 Xaa $_1$은 Asp, Asn, Ser, Thr 또는 Trp이고; Xaa $_2$는 Asn, Gln, His, Ile, Leu 또는 Lys이고; Xaa $_3$은 Ala, Asp, Phe, Trp 또는 Tyr이고; Xaa $_4$는 Asp, Gly, Leu, Phe, Ser 또는 Thr이다.

[0249] 4) PAS 서열

[0250] 다른 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인에 연결된 이종 모이어티는 PAS 서열이다. 한 실시양태에서, 융합 단백질은 본원에 기재된 IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인 및 PAS 서열을 포함하며, 여기서 IL2 폴리펩티드 및/또는 IL2Rα EC 도메인은 PAS 서열에 연결된다.

[0251] 본원에 사용된 PAS 서열은 주로 알라닌 및 세린 잔기를 포함하거나 또는 주로 알라닌, 세린 및 프롤린 잔기를 포함하는 아미노산 서열을 의미하며, 아미노산 서열은 생리학적 조건 하에서 랜덤 코일 입체형태를 형성한다. 따라서, PAS 서열은 융합 단백질에서 이종 모이어티의 일부로서 사용될 수 있는 알라닌, 세린 및 프롤린을 포함하거나, 이로써 본질적으로 이루어지거나 또는 이로써 이루어진 빌딩 블록, 아미노산 중합체 또는 서열 카세트이다. 그렇지만, 통상의 기술자는 알라닌, 세린 및 프롤린을 제외한 잔기가 PAS 서열에서 부차적 성분으로서

첨가될 때 아미노산 중합체가 랜덤 코일 입체형태를 형성할 수 있다는 것을 알고 있다. 본원에 사용된 용어 "부차적 성분"은 알라닌, 세린 및 프롤린을 제외한 아미노산이 PAS 서열에서 특정한 정도로, 예를 들어 약 12%, 즉 PAS 서열의 100개의 아미노산 중 약 12개 이하, 약 10%, 즉 PAS 서열의 100개의 아미노산 중 약 10개 이하, 약 9%, 즉 100개의 아미노산 중 약 9개 이하, 약 8%, 즉 100개의 아미노산 중 약 8개 이하, 약 6%, 즉 100개의 아미노산 중 약 6개, 약 5%, 즉 100개의 아미노산 중 약 5개, 약 4%, 즉 100개의 아미노산 중 약 4개, 약 3%, 즉 100개의 아미노산 중 약 3개, 약 2%, 즉 100개의 아미노산 중 약 2개, 약 1%, 즉 100개의 아미노산 중 약 1개로 첨가될 수 있다는 것을 의미한다. 알라닌, 세린 및 프롤린과 상이한 아미노산은 Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Tyr 및 Val로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0252] 생리학적 조건 하에, PAS 서열 신장은 랜덤 코일 입체형태를 형성하며, 이로써 IL2 폴리펩티드에 증가된 생체내 및/또는 시험관내 안정성을 매개할 수 있다. 랜덤 코일 도메인은 안정한 구조 또는 기능을 저절로 채택하지 않으므로, IL2 폴리펩티드 및 그에 융합된 IL2Rα EC 도메인에 의해 매개되는 생물학적 활성은 본질적으로 보존된다. 다른 실시양태에서, 랜덤 코일 도메인을 형성하는 PAS 서열은 특히 혈장 중의 단백질분해, 면역원성, 등전점/정전기적 양상, 세포 표면 수용체로의 결합 또는 내재화에 대하여 생물학적으로 불활성이지만, 여전히 생분해성이며, 이는 PEG와 같은 합성 중합체에 비하여 뚜렷한 이점을 제공한다.

[0253] 랜덤 코일 입체형태를 형성하는 PAS 서열의 비제한적 예는 ASPAAPAPASPAAPAPSAPA (서열식별번호: 85), AAPASPAPAAPSAPAPAAPS (서열식별번호: 86), APSSPSPSAPSSPSPASPSS (서열식별번호: 87), APSSPSPSAPSSPSPASPS (서열식별번호: 88), SSPSAPSPSSPASPSPSSPA (서열식별번호: 89), AASPAAPSAPPAAASPAAPSAPPA (서열식별번호: 90) 및 ASAAAPAAASAAASAPSAAA (서열식별번호: 91) 또는 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. PAS 서열의 추가의 예는 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 2010/0292130 A1 및 PCT 출원 공개 번호 WO 2008/155134 A1로부터 공지되어 있다.

[0254] 5) HAP 서열

[0255] 특정 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인에 연결된 이종 모이어티는 글리신-풍부 호모-아미노산 중합체 (HAP)이다. HAP 서열은 적어도 50개의 아미노산, 적어도 100개의 아미노산, 120개의 아미노산, 140개의 아미노산, 160개의 아미노산, 180개의 아미노산, 200개의 아미노산, 250개의 아미노산, 300개의 아미노산, 350개의 아미노산, 400개의 아미노산, 450개의 아미노산 또는 500개의 아미노산의 길이를 갖는 글리신의 반복 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, HAP 서열은 HAP 서열에 융합 또는 연결된 모이어티의 반감기를 연장시킬 수 있다. HAP 서열의 비제한적인 예는 $(Gly)_n$, $(Gly_4Ser)_n$ 또는 $S(Gly_4Ser)_n$을 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. 한 실시양태에서, n은 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40이다. 또 다른 실시양태에서, n은 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 또는 200이다.

[0256] 6) 트랜스페린 또는 그의 단편

[0257] 특정 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인에 연결된 이종 모이어티는 트랜스페린 또는 그의 단편이다. 임의의 트랜스페린이 본 개시내용의 융합 단백질을 제조하는 데 사용될 수 있다. 예로서, 야생형 인간 Tf (Tf)는 대략 75 KDa (글리코실화를 고려하지 않음)의 679개 아미노산 단백질이고, 2개의 주요 도메인, N (약 330개 아미노산) 및 C (약 340개 아미노산)를 포함하고, 이는 유전자 중복으로부터 유래되는 것으로 보인다. 진뱅크 수탁 번호 NM001063, XM002793, M12530, XM039845, XM039847 및 S95936 (www.ncbi.nlm.nih.gov/)을 참조한다. 트랜스페린은 2개의 도메인, N 도메인 및 C 도메인을 포함한다. N 도메인은 2개의 서브도메인, N1 도메인 및 N2 도메인을 포함하고, C 도메인은 2개의 서브도메인, C1 도메인 및 C2 도메인을 포함한다.

[0258] 한 실시양태에서, 융합 단백질의 트랜스페린 부분은 트랜스페린 스플라이스 변이체를 포함한다. 한 예에서, 트랜스페린 스플라이스 변이체는 인간 트랜스페린, 예를 들어, 진뱅크 수탁 AAA61140의 스플라이스 변이체일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 융합 단백질의 트랜스페린 부분은 트랜스페린 서열의 1개 이상의 도메인, 예를 들어, N 도메인, C 도메인, N1 도메인, N2 도메인, C1 도메인, C2 도메인 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0259] 7) 중합체, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)

[0260] 다른 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인에 부착된 이종 모이어티는 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 덱스트란 또는 폴리비닐 알콜을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 관련 기술분야에 공지된 가용성 중합체이다. 이종 모이어티, 예컨대 가용성 중합체는 IL2 폴리펩

티드 또는 IL2Rα EC 도메인 또는 N- 또는 C-말단 내의 임의의 위치에 부착될 수 있다.

[0261] 또한, 폴리펩티드의 증가된 용해도, 안정성 및 순환 시간, 또는 감소된 면역원성과 같은 추가의 이점을 제공할 수 있는, 본 개시내용의 융합 단백질의 화학적으로 변형된 유도체가 본 개시내용에 의해 제공된다 (미국 특허 번호 4,179,337 참조). 변형을 위한 화학적 모이어티는 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 덱스트란 및 폴리비닐 알콜을 포함하나 이에 제한되지는 않는 수용성 중합체로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 융합 단백질은 분자 내의 무작위 위치 또는 N- 또는 C-말단에서, 또는 분자 내의 미리 결정된 위치에서 변형될 수 있고, 1, 2, 3개 또는 그 초과의 부착된 화학적 모이어티를 포함할 수 있다.

[0262] 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있으며, 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜의 경우, 한 실시양태에서, 분자량은 취급 및 제조에서의 용이성을 위하여 약 1 kDa 내지 약 100 kDa이다. 목적하는 프로파일 (예, 목적하는 지속 방출의 기간, 생물학적 활성에 대해 존재하는 경우 효과, 취급의 용이성, 항원성의 정도 또는 결여 및 폴리에틸렌 글리콜의 단백질 또는 유사체로의 다른 공지된 효과)에 따라 다른 크기가 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜은 약 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10,000, 10,500, 11,000, 11,500, 12,000, 12,500, 13,000, 13,500, 14,000, 14,500, 15,000, 15,500, 16,000, 16,500, 17,000, 17,500, 18,000, 18,500, 19,000, 19,500, 20,000, 25,000, 30,000, 35,000, 40,000, 45,000, 50,000, 55,000, 60,000, 65,000, 70,000, 75,000, 80,000, 85,000, 90,000, 95,000 또는 100,000 kDa의 평균 분자량을 가질 수 있다.

[0263] 일부 실시양태에서, 폴리에틸렌 글리콜은 분지형 구조를 가질 수 있다. 분지형 폴리에틸렌 글리콜은 예를 들어, 미국 특허 번호 5,643,575; 문헌 [Morpurgo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996); Vorobjev et al., Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999); 및 Caliceti et al., Bioconjug. Chem. 10:638-646 (1999)]에 기재되어 있다.

[0264] 본 개시내용의 각각의 융합 단백질, IL2 폴리펩티드, 또는 IL2Rα EC 도메인에 부착된 폴리에틸렌 글리콜 모이어티의 수 (즉, 치환도)는 또한 달라질 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 PEG화 단백질은 평균 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20개 또는 그 초과의 폴리에틸렌 글리콜 분자에 연결될 수 있다. 마찬가지로, 평균 치환도는 단백질 분자 당 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 5-7, 6-8, 7-9, 8-10, 9-11, 10-12, 11-13, 12-14, 13-15, 14-16, 15-17, 16-18, 17-19 또는 18-20개 폴리에틸렌 글리콜 모이어티와 같은 범위 이내이다. 치환도의 측정 방법에 대해서는 예를 들어 문헌 [Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304 (1992)]에 논의되어 있다.

[0265] 다른 실시양태에서, 본 개시내용에 사용된 IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인은 1종 이상의 중합체에 접합된다. 중합체는 수용성일 수 있고 IL2 폴리펩티드, IL2Rα EC 도메인 또는 IL2 폴리펩티드 또는 IL2Rα EC 도메인에 접합된 다른 모이어티에 공유 또는 비공유 부착될 수 있다. 중합체의 비제한적 예는 폴리(알킬렌 옥시드), 폴리(비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알콜), 폴리옥사졸린, 또는 폴리(아크릴로일모르폴린) 일 수 있다.

[0266] 8) 히드록시에틸 전분 (HES)

[0267] 특정 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인에 연결된 이종 모이어티는 중합체, 예를 들어, 히드록시에틸 전분 (HES) 또는 그의 유도체이다. 한 실시양태에서, 융합 단백질은 본원에 기재된 IL2 폴리펩티드 및 HES를 포함하며, IL2 폴리펩티드 및 IL2Rα EC 도메인은 HES에 연결된다.

[0268] 히드록시에틸 전분 (HES)은 자연 발생 아밀로펙틴의 유도체이고, 체내에서 알파-아밀라제에 의해 분해된다. HES는 옥수수 전분 중에서 95 중량% 이하의 농도로 존재하는 탄수화물 중합체 아밀로펜틴의 치환된 유도체이다. HES는 유리한 생물학적 특성을 나타내고, 혈액량 대체제로서 및 임상에서 혈액희석 요법에서 사용된다 (Sommermeyer et al., Krankenhauspharmazie, 8(8), 271-278 (1987); 및 Weidler et al., Arzneim.-Forschung/Drug Res., 41, 494-498 (1991)).

[0269] 아밀로펙틴은 주쇄에 알파-1,4-글리코시드 결합이 존재하고 분지화 부위에서 알파-1,6-글리코시드 결합이 발견되는 글루코스 모이어티를 함유한다. 이러한 분자의 물리-화학적 특성은 주로 글리코시드 결합의 유형에 의해 결정된다. 닉킹된 알파-1,4-글리코시드 결합으로 인해, 회전당 약 6개의 글루코스-단량체를 갖는 나선형 구조가 생성된다. 중합체의 물리-화학적뿐 아니라 생화학적 특성은 치환을 통해 변형될 수 있다. 히드록시에틸 기의 도입은 알칼리성 히드록시에틸화를 통해 달성될 수 있다. 반응 조건을 적합화함으로써 히드록시에틸화에 관하여 비치환된 글루코스 단량체에서 각각의 히드록시 기의 상이한 반응성을 이용할 수 있다. 이러한 사실로

인하여, 통상의 기술자는 치환 패턴에 제한된 정도로 영향을 미칠 수 있다.

[0270] HES는 주로 분자량 분포 및 치환도에 의해 특징지어진다. DS로 나타낸 치환도는 몰 치환에 관한 것이고, 관련 기술분야에 공지되어 있다. 상기 언급한 바와 같은 문헌 [Sommermeyer et al., Krankenhauspharmazie, 8(8), 271-278 (1987)], 특히 p. 273을 참조한다.

[0271] 한 실시양태에서, 히드록시에틸 전분은 1 내지 300kD, 2 내지 200kD, 3 내지 100kD, 또는 4 내지 70kD의 평균 분자량 (중량 평균)을 갖는다. 히드록시에틸 전분은 추가로 0.1 내지 3, 바람직하게는 0.1 내지 2, 보다 바람직하게는 0.1 내지 0.9, 바람직하게는 0.1 내지 0.8의 몰 치환도, 및 히드록시에틸 기에 대해 2 내지 20 범위의 C2:C6 사이 치환 비를 나타낼 수 있다. 약 130 kD의 평균 분자량을 갖는 HES의 비제한적인 예는 0.2 내지 0.8, 예컨대 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8, 바람직하게는 0.4 내지 0.7, 예컨대 0.4, 0.5, 0.6 또는 0.7의 치환도를 갖는 HES이다. 구체적인 실시양태에서, 약 130 kD의 평균 분자량을 갖는 HES는 프레세니우스 (Fresenius)로부터의 볼루벤(VOLUVEN)®이다. 볼루벤®은 예를 들어 요법에 대한 치료적 징후 및 혈량저하증의 예방에 사용되는 부피 대체를 위하여 사용되는 인공 콜로이드이다. 볼루벤®의 특징은 130,000+/-20,000 D의 평균 분자량, 0.4의 몰 치환도, 약 9:1의 C2:C6 비이다. 다른 실시양태에서, 히드록시에틸 전분의 평균 분자량의 범위는 예를 들어 4 내지 70 kD 또는 10 내지 70 kD 또는 12 내지 70 kD 또는 18 내지 70 kD 또는 50 내지 70 kD 또는 4 내지 50 kD 또는 10 내지 50 kD 또는 12 내지 50 kD 또는 18 내지 50 kD 또는 4 내지 18 kD 또는 10 내지 18 kD 또는 12 내지 18 kD 또는 4 내지 12 kD 또는 10 내지 12 kD 또는 4 내지 10 kD이다. 또 다른 실시양태에서, 사용된 히드록시에틸 전분의 평균 분자량은 4 kD 초과 및 70 kD 미만, 예컨대 약 10 kD의 범위내이거나 또는 9 내지 10 kD 또는 10 내지 11 kD 또는 9 내지 11 kD 또는 약 12 kD 범위내이거나 또는 11 내지 12 kD 또는 12 내지 13 kD 또는 11 내지 13 kD 또는 약 18 kD의 범위내이거나 또는 17 내지 18 kD 또는 18 내지 19 kD 또는 17 내지 19 kD 또는 약 30 kD의 범위내이거나 또는 29 내지 30 또는 30 내지 31 kD 또는 약 50 kD의 범위내이거나 또는 49 내지 50 kD 또는 50 내지 51 kD 또는 49 내지 51 kD의 범위내이다.

[0272] 특정 실시양태에서, 이종 모이어티는 상이한 평균 분자량 및/또는 상이한 치환도 및/또는 상이한 C2:C6 치환의 비를 갖는 히드록시에틸 전분의 혼합물일 수 있다. 따라서, 상이한 평균 분자량 및 상이한 치환도 및 상이한 C2:C6 치환의 비를 갖는 또는, 상이한 평균 분자량 및 상이한 치환도 및 동일하거나 또는 대략 동일한 C2:C6 치환의 비를 갖거나 또는, 상이한 평균 분자량 및 동일하거나 또는 대략 동일한 치환도 및 상이한 C2:C6 치환의 비를 갖거나 또는, 동일하거나 또는 대략 동일한 평균 분자량 및 상이한 치환도 및 상이한 C2:C6 치환의 비를 갖거나 또는, 상이한 평균 분자량 및 동일하거나 또는 대략 동일한 치환도 및 동일하거나 또는 대략 동일한 C2:C6 치환의 비를 갖거나 또는, 동일하거나 또는 대략 동일한 평균 분자량 및 상이한 치환도 및 동일하거나 또는 대략 동일한 C2:C6 치환의 비를 갖거나 또는, 동일하거나 또는 대략 동일한 평균 분자량 및 동일하거나 또는 대략 동일한 치환도 및 상이한 C2:C6 치환의 비를 갖거나 또는, 대략 동일한 평균 분자량 및 대략 동일한 치환도 및 대략 동일한 C2:C6 치환의 비를 갖는 히드록시에틸 전분의 혼합물이 사용될 수 있다.

[0273] 9) 폴리시알산 (PSA)

[0274] 특정 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및/또는 IL2Rα EC 도메인에 연결된 비-폴리펩티드 이종 모이어티는 중합체, 예를 들어, 폴리시알산(PSA) 또는 그의 유도체이다. 폴리시알산(PSA)은 특정 박테리아 균주에 의해 및 특정 세포 내의 포유동물에서 생산된 시알산의 자연 발생 비분지형 중합체이다 (Roth J., et al. (1993) in Polysialic Acid: From Microbes to Man, eds Roth J., Rutishauser U., Troy F. A. (Birkhaeuser Verlag, Basel, Switzerland), pp 335-348). 이들은 제한된 산 가수분해에 의하여 또는 뉴라미니다제를 사용한 소화에 의하여 또는 중합체의 천연 박테리아 유도된 형태의 분별에 의하여 n=약 80 이상의 시알산 잔기 내지는 n=2까지의 다양한 중합도로 생성될 수 있다. 또한, 뉴런 세포 부착 분자 (N-CAM)의 배아 형태로 또한 발견되는 그룹-B 메닝고코쿠스 및 이. 콜라이 균주 K1의 피막 폴리사카라이드를 포함하는 호모중합체 형태, 즉 알파-2,8-연결된 폴리시알산이 존재하도록 상이한 폴리시알산의 조성은 변동된다. 이종중합체 형태는 또한 예컨대 이. 콜라이 균주 K92의 교호 알파-2,8 알파-2,9 폴리시알산 및 엔. 메닌기티디스의 그룹 C 폴리사카라이드로서 존재한다. 시알산은 또한 엔. 메닌기티디스의 그룹 W135 또는 그룹 Y와 같은 시알산을 제외한 단량체와의 교호 공중합체 중에서 발견될 수 있다. 포유동물에서 폴리시알산에 대한 공지의 수용체가 존재하지 않기는 하나, 폴리시알산은 병원성 박테리아에 의한 면역계 및 보체계의 회피 및 태아 발달 중에 미성숙 뉴런의 신경교 접착력의 조절을 포함한 중요한 생물학적 기능을 갖는다 (여기서 중합체는 항-부착 기능을 갖는다) (Cho 및 Troy, P.N.A.S., USA, 91 (1994) 11427-11431). 이. 콜라이 균주 K1의 알파-2,8-연결된 폴리시알산은 또한 "콜로민산"으로 공지되어 있고, 본 개시내용을 예시하기 위해 (다양한 길이로) 사용된다. 폴리시알산을 폴리펩티드에 부착 또는

접합시키는 다양한 방법이 기재되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,846,951; WO-A-0187922, 및 US 2007/0191597 A1 참조).

[0275] 10) XTEN 서열

[0276] 본원에 사용된 "XTEN 서열"은 작은 친수성 아미노산으로 주로 구성된 비-자연 발생, 실질적으로 비-반복적 서열을 갖는 연장된 길이의 폴리펩티드를 지칭하며, 서열은 생리학적 조건 하에 낮은 수준의 구조를 갖거나 또는 2차 또는 3차 구조를 갖지 않는다. 융합 단백질 파트너로서, XTEN은 본 개시내용의 IL2 폴리펩티드 및/또는 IL2Rα EC 도메인에 연결되어 융합 단백질을 생성하는 경우에 특정의 바람직한 약동학적, 물리화학적 및 제약 특성을 부여하는 담체로서 기능할 수 있다. 이러한 바람직한 특성은 증진된 약동학적 파라미터 및 용해도 특징을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0277] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 XTEN 서열은 약 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 또는 2000개 초과의 아미노산 잔기를 갖는 펩티드 또는 폴리펩티드이다. 특정 실시양태에서, XTEN은 약 20 초과 내지 약 3000개의 아미노산 잔기, 30 초과 내지 약 2500개의 잔기, 40 초과 내지 약 2000개의 잔기, 50 초과 내지 약 1500개의 잔기, 60 초과 내지 약 1000개의 잔기, 70 초과 내지 약 900개의 잔기, 80 초과 내지 약 800개의 잔기, 90 초과 내지 약 700개의 잔기, 100 초과 내지 약 600개의 잔기, 110 초과 내지 약 500개의 잔기, 또는 120 초과 내지 약 400개의 잔기를 갖는 펩티드 또는 폴리펩티드이다.

[0278] 본 개시내용의 XTEN 서열은 9 내지 14개의 아미노산 잔기의 하나 이상의 서열 모티프, 또는 서열 모티프와 적어도 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 모티프는 글리신 (G), 알라닌 (A), 세린 (S), 트레오닌 (T), 글루타메이트 (E) 및 프롤린 (P)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 4 내지 6가지 유형의 아미노산을 포함하거나, 이로써 본질적으로 이루어지거나, 또는 이로써 이루어진다. US2010-0239554 A1를 참조한다.

[0279] 일부 실시양태에서, XTEN 서열은 AD 모티프 패밀리, 또는 AE 모티프 패밀리, 또는 AF 모티프 패밀리, 또는 AG 모티프 패밀리, 또는 AM 모티프 패밀리, 또는 AQ 모티프 패밀리, 또는 BC 패밀리, 또는 BD 패밀리의 비-중첩 서열 모티프의 다중 유닛을 포함하며, 생성된 XTEN은 상동성의 범위를 나타낸다. 다른 실시양태에서, XTEN은 모티프 패밀리 중 2개 이상으로부터의 모티프 서열의 다중 유닛을 포함한다. 이들 서열은 하기에서 보다 상세히 기재되는, 알짜 전하, 친수성, 2차 구조의 결여, 또는 모티프의 아미노산 조성에 의해 부여되는 반복성의 결여와 같은 특성을 비롯한 목적하는 물리적/화학적 특징을 달성하도록 선택될 수 있다. 다른 실시양태에서, XTEN 내로 혼입되는 모티프는 본원에 기재된 방법을 사용하여 선택되고 어셈블리되어 약 36 내지 약 3000개 아미노산 잔기의 XTEN을 달성할 수 있다.

[0280] 추가 실시양태에서, 본 개시내용에 사용되는 XTEN 서열은 본 개시내용의 융합 단백질의 물리적 또는 화학적 특성, 예를 들어, 약동학에 영향을 미친다. 본 개시내용에 사용되는 XTEN 서열은 하기 유리한 특성 중 하나 이상을 나타낼 수 있다: 입체형태적 가요성, 증진된 수용해도, 높은 정도의 프로테아제 저항성, 낮은 면역원성, 포유동물 수용체에 대한 낮은 결합, 또는 증가된 유체역학 (또는 스토크) 반경. 구체적 실시양태에서, 본 개시내용에서 IL2 폴리펩티드 및/또는 IL2Rα EC 도메인에 연결된 XTEN 서열은 약동학적 특성을 증가시켜 (예컨대 보다 긴 말기 반감기 또는 증가된 곡선하 면적 (AUC)), 본원에 기재된 융합 단백질이 야생형 IL2 폴리펩티드에 비해 증가된 시간 기간 동안 생체내에서 유지된다. 추가 실시양태에서, 본 개시내용에 사용되는 XTEN 서열은 약동학적 특성을 증가시켜 (예컨대 보다 긴 말기 반감기 또는 증가된 곡선하 면적 (AUC)), IL2 폴리펩티드가 야생형 IL2에 비해 증가된 시간 기간 동안 생체내에서 유지된다.

[0281] 다양한 방법 및 검정을 사용하여 XTEN 서열을 포함하는 단백질의 물리적/화학적 특성을 결정할 수 있다. 이러한 방법은 분석적 원심분리, EPR, HPLC-이온 교환, HPLC-크기 배제, HPLC-역상, 광 산란, 모세관 전기영동, 원형 이색성, 시차 주사 열량측정, 형광, HPLC-이온 교환, HPLC-크기 배제, IR, NMR, 라만 분광법, 굴절측정법, 및 UV/가시광선 분광법을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 추가의 방법은 문헌 [Amau et al., Prot Expr and Purif 48, 1-13 (2006)]에 개시되어 있다.

[0282] 본 개시내용에 따라 사용될 수 있는 XTEN 서열의 추가의 예는 미국 특허 공개 번호 2010/0239554 A1, 2010/0323956 A1, 2011/0046060 A1, 2011/0046061 A1, 2011/0077199 A1, 또는 2011/0172146 A1, 또는 국제 특허 공개 번호 WO 2010091122 A1, WO 2010144502 A2, WO 2010144508 A1, WO 2011028228 A1, WO 2011028229 A1, 또는 WO 2011028344 A2에 개시되어 있다.

[0283] 11) 이뮤노글로불린 결합 펩티드 (또는 폴리펩티드)

[0284] 특정 실시양태에서, IL2 폴리펩티드 및/또는 IL2Rα EC 도메인에 연결된 비-이종 모이어티는 이뮤노글로불린 결합 펩티드이다. 이뮤노글로불린 결합 펩티드는 Fc 영역에 결합될 수 있고, 본원에 기재된 융합 단백질의 반감기를 개선시킬 수 있다.

[0285] 일부 실시양태에서, 본 개시내용에 유용한 이뮤노글로불린 결합 펩티드는 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500개 초과의 아미노산 잔기를 갖는 펩티드 또는 폴리펩티드이다.

[0286] 일부 실시양태에서, 본 개시내용에 유용한 이뮤노글로불린 결합 펩티드는 13량체 IgG-Fc 도메인 결합 펩티드(IgGBP)를 포함한다 (DeLano WL, et al. (2000) Science 287:1279-1283). 다른 실시양태에서, 본 개시내용에 유용한 이뮤노글로불린 결합 펩티드는 미국 특허 공개 번호 20170334954, 미국 특허 공개 번호 20170210777 또는 PCT 공개 번호 WO/2017/069158에 개시된 펩티드를 포함한다.

[0287] 7.3.5 융합 단백질

[0288] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 표 3에 언급된 바와 같이 서열식별번호: 13 내지 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 202 내지 서열식별번호: 204 중 어느 하나를 포함한다.

[0289] 표 3

| SEQ ID NO: | 구축물 | 서열 |
|---|---|---|
| 204 | IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMET SIFTTEYQ |
| 13 | IL2(C145S)-CD25(22-240) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMET SIFTTEYQ |
| 14 | IL2(C145A)-CD25(22-240) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMET SIFTTEYQ |
| 15 | IL2(C145V)-CD25(22-240) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**V**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMET SIFTTEYQ |
| 16 | IL2-CD25(22-212) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 17 | IL2-CD25(22-187) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP |

[0290]

| | | |
|---|---|---|
| | | QLICTGE |
| 18 | IL2(C145A)-CD25(C213S, 22-240) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**S**LVTTTDFQIQTEMAATMET<br>SIFTTEYQ |
| 19 | HSA-$(G_4S)_3$-IL2-CD25(22-187) | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQ**A**PFEDHVKLVNEVTEFA<br>KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE<br>CFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY<br>APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKC<br>ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL<br>LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD<br>LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAK<br>TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK<br>FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY<br>LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN<br>AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF<br>VEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGS<br>APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGS<br>ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSS<br>HSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLP<br>GHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT<br>HGKTRWTQPQLICTGE |
| 20 | IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGS<br>ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSS<br>HSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLP<br>GHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT<br>HGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSGGDAHKSEVA<br>HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQ**A**PFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES<br>AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD<br>NPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAK<br>RYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER<br>AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA<br>DLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV<br>ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKC<br>CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVR<br>YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL<br>CVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHA<br>DICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKA<br>DDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL |
| 21 | IL2(C145A)-CD25(22-192)-GGC | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP |

[0291]

| | | |
|---|---|---|
| | | QLICTGEMETSQGG**C** |
| 22 | IL2(C145A)-CD25(22-213) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**C** |
| 23 | IL2(C145A)-CD25(22-187, N70C) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTG**C**SSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 24 | IL2(C145A)-CD25(22-187, N89C) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATR**C**TTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 25 | IL2(C145A)-CD25(22-187)-C | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE**C** |
| 26 | 인간 Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G<br><br>이종이량체로 형성하기 위한 Fc의 제1 측쇄 | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSII STLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGF RRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE**G** |
| 27 | IL2(C145S)-CD25(22-187)-HuFc1.1(f)-AZ1<br><br>이종이량체 쌍으로 형성하기 위한 Fc의 제1 측쇄 | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEPKS**S**DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG |

[0292]

[0293]

| | | |
|---|---|---|
| 29 | IL2-C145S-CD25(22-187) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGE |
| 30 | IL2-T23A-C145S-CD25(22-187) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGE |
| 31 | IL2-CD25(22-240)-C213S | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMET<br>SIFTTEYQ |
| 32 | IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMET<br>SIFTTEYQ |
| 33 | 천연SigPep-IL2-CD25(22-187) | MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY<br>KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP<br>RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGG<br>SGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSL<br>YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM<br>QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRG<br>PAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE |
| 34 | 천연SigPep-HuIL2-CD25(22-212)-PP | MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY<br>KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP<br>RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGG<br>SGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSL<br>YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPM<br>QPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRG<br>PAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**P**<br>**P** |
| 35 | M-IL2(C145S)-CD25(C213S) | MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKK<br>ATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT<br>FMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEI<br>PHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQC<br>QCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPP<br>WENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWT<br>QPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**S**LVTTTDFQIQTEMAATM |

| | | |
|---|---|---|
| | | ETSIFTTEYQ |
| 36 | M-IL2(C145S)-CD25(C213S) | MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS**S**LVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ |
| 37 | M-IL2-C145A-CD25(22-212) | MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 38 | M-IL2-C145A-CD25(22-212) | MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**A**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 39 | Del-A21-IL2-CD(22-212) | PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 40 | IL2-T23A-L2-CD25(22-212) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGSSGGAGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 41 | IL2-T3A-L3-CD(22-212) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 43 | IL2-T23A-C145S-CD25(22-187) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE |

[0294]

| | | |
|---|---|---|
| 44 | IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMET<br>SIFTTEYQ |
| 45 | IL2-T23A-CD25(22-187) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGE |
| 46 | IL2-T23A-CD25(22-212)-T106A | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW<br>ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 47 | IL2-T23A-CD25(22-212)-T95A | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW<br>ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 49 | IL2-T23A-CD25(22-212) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 50 | IL2-T23A-C145S-CD25(22-212) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 51 | IL2-C145S-CD25(22-212) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 52 | IL2-T23A-CD25(22-212, | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF |

[0295]

| | | |
|---|---|---|
| | T95A-T105A) | MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW<br>ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 53 | IL2-T23A-CD25(22-212)-PG | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSPG |
| 54 | IL2-CD25(22-187) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGE |
| 55 | IL2-T23A-C145S-CD25(22-187) | AP**A**SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**S**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGE |
| 56 | IL2-CD25(22-240, C213S) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATMET<br>SIFTTEYQ |
| 57 | Del-A21-IL2-CD(22-212) | PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATE<br>LKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM<br>CEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPH<br>ATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQC<br>TSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 58 | IL2-T23A-L2-CD25(22-212) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGSSGGAGGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 59 | IL2-T23A-L3-CD25(22-212) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITF**C**QSIISTLTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEL<br>CDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS |

[0296]

| | | |
|---|---|---|
| | | SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGH CREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 60 | IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQ CTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 61 | IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQ CTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 62 | IL2-T23A - C145S-CD25(22-187)-N89Q | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 63 | IL2-T23A - C145S-CD25(22-187)-N70Q | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 64 | IL2-C145S-CD25(22-187)-N89Q | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPW ENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 65 | IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE |
| 66 | IL2-T23A - C145S-CD25(22-187) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP |

[0297]

| | | |
|---|---|---|
| | | QLICTGE |
| 67 | Fc1.1-7링커-IL2-CD25(22-212)<br><br>Fc<br>동종이량체를 생성함 | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE<br>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK<br>CKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF<br>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV<br>FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSGGSGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLD<br>LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN<br>LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF<br>CQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC<br>KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK<br>ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC<br>VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS<br>PEGRPESETS |
| 68 | IL2-CD25(22-212)-Fc1.1<br><br>Fc<br>동종이량체를 생성함 | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVF<br>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP<br>REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKG<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS<br>LSPG |
| 69 | IL2(V111K)-CD25(22-212) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN**K**IVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 70 | IL2(D40T)-CD25(22-212) | APTSSSTKKTQLQLEHLLL**T**LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT<br>ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF<br>MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIP<br>HATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQ<br>CTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE<br>NEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP<br>QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 202 | IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYM<br>PKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL<br>ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSG<br>GGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLY<br>MLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRQTTKQVAPQPEEQKERKATEM<br>QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQ<br>GYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE |
| 203 | Fc-(IL2(V91K)CD25)2 2가 | DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE<br>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK<br>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF<br>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV<br>FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSGGSGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLD<br>LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN |

[0298]

| | | |
|---|---|---|
| | | LAQSKNFHLRPRDLISNINKIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF<br>CQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCEC<br>KRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK<br>ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQC<br>VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS<br>PEGRPESETS |

[0299]

[0300] 달리 나타내지 않는 한 IL2는 성숙한 것이다 (IL2(21-153)). 달리 나타내지 않는 한 IL2와 CD25 사이의 링커는 (G3S)3이다.

[0301] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질은 서열식별번호: 13 내지 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 202 내지 서열식별번호: 204 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0302] 본 개시내용의 IL2-IL2Rα 융합 단백질은 하나 이상의 하기 특성/활성을 가질 수 있다: (1) 저용량 IL2 기반 요법에서 조절 T 세포 (Treg)의 활성 증가 및/또는 면역 관용 증가; (2) 보다 높은 용량 요법에서의 면역 반응 및 기억 증가; (3) 재조합 IL2와 비교하여 IL2 이용률 증가; 및/또는(4) 생체내 IL2R 보유 림프구의 지속적인 IL2 자극 증가.

[0303] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 IL2 (서열식별번호: 2) 또는 서열식별번호: 204 (말단절단 없이 12량체 링커를 갖는 wt IL2-CD25 서열)로 이루어지는 폴리펩티드의 약동학적 특성과 비교하여 증가된 반감기, 증가된 $C_{max}$, 증가된 AUC, 증가된 $C_{min}$, 감소된 클리어런스, 개선된 생체이용률, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 약동학적 특성을 포함한다.

[0304] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 IL2 (서열식별번호: 2) 또는 서열식별번호: 204 (말단절단 없이 12량체 링커를 갖는 wt IL2-CD25 서열)과 비교하여 연장된 반감기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 연장된 반감기는 IL2 (서열식별번호: 2) 또는 서열식별번호: 204 (임의의 말단절단 없이 12량체 링커를 갖는 wt IL2-CD25 서열)로 이루어진 폴리펩티드의 반감기와 비교하여 적어도 약 1.5배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 21배 또는 적어도 약 22배이다.

[0305] 일부 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질로부터 발생하는 Treg의 증가된 활성은 예를 들어 (1) CD4+ T 세포 구획에서 Treg의 증가된 제시 및 수; (2) IL2-의존성 CD25의 상향조절; (3) 증식성 마커 Ki67의 발현에 의해 평가된 바와 같은 증가된 증식; (4) IL2-의존성 최종 분화된 KIrg1 + Treg 하위세트의 증가된 분율을 포함하는 다양한 방식으로 검정될 수 있다. Treg에 대한 이러한 효과는 예를 들어 비장 및/또는 염증발생 췌장에서 볼 수 있다.

[0306] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 T 이펙터/기억 반응의 증가를 통한 면역, 및 면역관용성 및 면역 억제성 Treg를 증가시키고, 추가 실시양태에서, 이는 (1) 천연 또는 재조합 IL2에 비해 더 낮은 유효 수준의 IL2 활성에서 이러한 반응을 가져옴으로써 개선된 약동학을 나타내고/거나; (2) 천연 또는 재조합 IL2보다 더 지속적인 생물학적 반응을 나타낸다.

[0307] 구체적인 실시양태에서, 융합 단백질은 천연 또는 재조합 IL2에 비해 개선된 활성을 갖는다. 예를 들어, IL2/IL-2Rα 융합 단백질의 효과는 천연 또는 재조합 IL2에 비해 약 2배, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 100배 150배, 200배 이상 더 낮은 수준 IL-2 활성에서 면역관용성 Treg를 증가시킬 수 있다. 다른 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질은 Treg의 지속적인 증대 및 관련 특성을 유도하는 데 있어서 천연 또는 재조합 IL2보다 더 효과적이다.

[0308] 다양한 유기체로부터의 다양한 IL2 및 IL2Rα 단편 및 변이체를 사용하여 본원에 제공된 IL2/IL2Rα 세포외 도메인 융합 단백질을 생성할 수 있다. 상기 성분은 본원의 다른 곳에서 보다 상세하게 논의된다. 비-제한적인 프로세싱되지 않은 또는 성숙한 IL2/IL2Rα 세포외 도메인 융합 단백질의 예는 서열식별번호: 서열식별번호: 13 내지 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 202 내지 서열식별번호: 204에 제시된다.

[0309] 용어 "분비 신호 서열"은 보다 큰 폴리펩티드의 성분으로서 보다 큰 폴리펩티드가 합성되는 세포의 분비 경로를 통과하도록 지시하는 폴리펩티드 ("분비 펩티드")를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 나타낸다. 보다 큰 폴리펩티드는 일반적으로 분비 경로를 통한 수송 동안 분비 펩티드를 제거하기 위해 절단된다. 본원에 사용된 "성숙" 형태의 융합 단백질 또는 폴리펩티드는 분비 펩티드가 제거된 폴리펩티드의 프로세싱된 형태를 포함한다. 본원에 사용된 "프로세싱되지 않은" 형태의 융합 단백질은 분비 펩티드 서열을 보유한다.

[0310] 또한, IL2/IL-Ra EC 도메인 융합 단백질의 성숙 및 프로세싱되지 않은 형태의 생물학적 활성 단편 및 변이체 및 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 이러한 기능적 폴리펩티드 단편은 서열식별번호: 서열식별번호: 13 내지 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 202 내지 서열식별번호: 204 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 연속적인 아미노산을 포함할 수 있다. 대안적으로, 기능적 폴리펩티드 변이체는 서열식별번호: 서열식별번호: 13 내지 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 202 내지 서열식별번호: 204에 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.

[0311] IL2/IL-Ra 세포외 도메인 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 활성 변이체 및 단편이 추가로 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 13 내지 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 202 내지 서열식별번호: 204에 제시된 폴리펩티드를 코딩하는 적어도 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1100, 1200, 1300, 1500, 1800, 2000개의 연속적인 뉴클레오티드를 포함할 수 있고, 기능적 IL2/IL-Ra 세포외 도메인 융합 단백질을 계속 코딩할 수 있다.

[0312] IL2/IL2Rα 융합 단백질의 성분이 임의의 순서로 발견될 수 있다는 것이 추가로 인식된다. 한 실시양태에서, IL2 폴리펩티드는 N-말단에 존재하고, IL2Rα의 세포외 도메인은 융합 단백질의 C-말단에 존재한다.

[0313] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 이량체를 형성한다. 다른 실시양태에서, 융합 단백질은 단량체이다. 또한, 일부 실시양태에서, 이량체는 2개의 단량체를 포함하고, 단량체는 공유 결합을 통해 서로 회합된다. 일부 실시양태에서, 이량체는 2개의 단량체를 포함하고, 단량체는 비-공유 결합을 통해 회합된다.

[0314] 본 개시내용의 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 IL2 (서열식별번호: 2) 또는 서열식별번호: 204 (말단절단이 없는 12량체 링커가 있는 wt IL2-CD25 서열)로 이루어진 폴리펩티드보다 더 안정하다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 (i) 참조 단백질과 비교하여 증가된 열역학적 안정성; (ii) 참조 단백질과 비교하여 증가된 TM; (iii) 참조 단백질과 비교하여 분해에 대한 증가된 저항성; (iv) 참조 단백질과 비교하여 변형에 대한 증가된 저항성; (v) 참조 단백질과 비교하여 증가된 생체내 안정성; 및 (vi) 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 특성을 가지며, 여기서 참조 단백질은 (i) 인터류킨-2 (IL2) 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; (b) 인터류킨-2 수용체 알파 (IL2Rα) 폴리펩티드의 세포외 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하고; 융합 단백질과 비교하여 적어도 1개 더 많은 글리코실화를 갖는다.

[0315] 본원에 개시된 융합 단백질의 임의의 글리코실화 부위는 다른 메카니즘에 의해 제거될 수 있다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 효소적으로 또는 화학적으로 탈글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 알칼리, 히드라진분해, 펩티드-N-글리코시다제 F (PNGase F), 엔도-β-N- 아세틸글루코사미니다제 H (엔도 H), O-글리코시다제 또는 그의 임의의 조합에 의해 탈글리코실화된다.

[0316] 일부 실시양태에서, 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 융합 단백질을 알칼리로 처리함으로써 달성된다. 일부 실시양태에서, 글리칸은 알칼리 보로히드라이드 처리에 의해 글리코실화 폴리펩티드로부터 제거된다. 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질의 글리코실화 부위는 알칼리 금속 탄산염, 예컨대 탄산나트륨 및 탄산칼륨을 사용하여 제거될 수 있다. 일부 실시양태에서, 알칼리가 β-제거 처리에 사용된다.

[0317] 일부 실시양태에서, 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 히드라진분해에 의한 융합 단백질의 화학적 처리에 의해 달성된다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질로부터 융합 단백질을 히드라진분해로 처리함으로써 글리코실화가 방출되고, 방출된 당 쇄는 2-아미노피리딘으로의 형광 표지화된다. 문헌 [Hase et al. J. Biochem., 95, 197 (1984)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 히드라진분해는 옥스포드 글리코시스템즈(Oxford Glycosystems) (글리코프렙 1000)에 의해 공급된 기기를 사용하여 수행된다.

[0318] 또 다른 실시양태에서, 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 융합 단백질을 트리플루오로메탄술폰산 (TFMS)으로 처리함으로써 달성된다.

[0319] 일부 실시양태에서, 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 융합 단백질을 효소로 처리함으로써 달성된다. 일부 실시양태에서, 효소는 글리코시다제이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 펩티드-N-글리코시다제 F (PNGase F)를 사용하여 달성된다. PNGase F의 농도는 다양할 수 있고, 실험적으로 결정될 것이다. 일부 실시양태에서, 글리코시다제는 PNGase F이다. PNGase F는 상업적으로 입수가능한 효소이다 (예를 들어, 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs), 매사추세츠주 입스위치, Cat. #P0704 또는 #P0710). 일부 실시양태에서, PNGase F는 융합 단백질이다. 예를 들어, PNGase F는 키틴 결합 도메인 (CBD) 또는 PNGase F-SNAP 융합 단백질로 태그부착된 PNGase F일 수 있다. 일부 실시양태에서, 글리코시다제는 동결건조된다. 일부 실시양태에서, 글리코시다제는 동결건조된 PNGase F이다. 일부 실시양태에서, 글리코시다제는 실질적으로 동물-유래 시약을 함유하지 않는다.

[0320] 일부 실시양태에서, 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 융합 단백질을 엔도-β-N-아세틸글루코사미니다제 H (엔도 H)로 처리함으로써 달성된다. 엔도-H는 스트렙토미세스 플리카투스 및 몇몇 다른 스트렙토미세스 종에 의해 분비되는 글리코히드롤라제이다 (Tarentino et al., 1976). 이는 올리고사카라이드의 N-아세틸 글루코사민 코어의 β-1, 4-글리코시드 결합을 절단하고, 당단백질의 아스파라긴 잔기에 부착된 1개의 N-아세틸키토비오스를 남긴다 (Trimble et al., 1978; Muramatsu 1971). 에스. 플리카투스의 엔도 H 유전자는 939 bp이고 (진뱅크 수탁 AAA26738.1), 이는 28.9-kDa 단백질을 코딩한다. 에스. 플리카투스로부터의 엔도 H는 최근 피키아 파스토리스에서 발현되었고, 피. 파스토리스 생산된 엔도 H의 탈글리코실화 활성은 공동-발효 및 발효 후 처리 둘 다를 통해 시험관내에서 입증되었다 (Wang et al., 2015).

[0321] 일부 실시양태에서, 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 융합 단백질을 O-글리코시다제로 처리함으로써 달성된다 (뉴 잉글랜드 바이오랩스, 매사추세츠주 입스위치). 엔도-알파-N-아세틸갈락토사미니다제로

도 불리는 O-글리코시드는 당단백질로부터 코어 1 및 코어 3 O-연결된 디사카라이드의 제거를 촉매한다. 일부 실시양태에서, 이는 당단백질로부터 비치환된 Ser- 및 Thr- 연결된 것을 방출한다.

[0322] 융합 단백질의 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 IL2/IL2Rα 융합 단백질이 세포 배양 (예를 들어, 생물반응기)에서 생산된 후, IL2/L2Rα 융합 단백질이 세포 배양에서 생산되는 동안, 융합 단백질이 수거된 후, 및/또는 융합 단백질이 정제되는 동안 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 융합 단백질이 발현되는 세포 배양 동안 1개 이상의 제거제를 첨가함으로써 달성될 수 있다. 다른 실시양태에서, 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 글리코실화를 제거하거나 감소된 글리코실화를 갖는 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이 또는 스트렙토미세스 종)로서 특정한 세포 유형을 선택함으로써 달성될 수 있다. 특정 실시양태에서, 1개 이상의 글리코실화 부위의 제거는 융합 단백질을 코딩하는 유전자를 1개 이상의 글리코실화를 제거하는 효소를 코딩하는 유전자와 공동-발현시킴으로써 달성된다.

[0323] 하기 표 4는 다양한 IL-2 아미노산 서열을 열거한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질은 표 4에 열거된 바와 같이 서열식별번호: 101 내지 서열식별번호: 115 중 어느 하나를 포함한다.

[0324] 표 4:

| SEQ ID NO: | 구축물 | 서열 |
|---|---|---|
| 101 | IL2(21-153) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT |
| 102 | IL2(21-153)(C145S) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT |
| 103 | IL2(21-153)(C145A) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT |
| 104 | IL2(21-153)(C145V) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFVQSIISTLT |
| 105 | IL2(21-153)(T23A) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT |
| 106 | IL2(21-153)(T23A+C145S) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT |
| 107 | IL2(21-153)(T23A+C145A) | APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT |
| 108 | 천연SigPep-IL2(1-153) | MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGI NNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLT |
| 109 | M-IL2(C145S) | MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT |
| 110 | M-IL2(C145A) | MAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT |
| 111 | Del-A21-IL2 | PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPK KATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT |
| 112 | Del-A21-IL2(C145S) | PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPK KATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT |
| 113 | Del-A21-IL2(C145A) | PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPK KATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT |
| 114 | IL2(V111K) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINKIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT |
| 115 | IL2(D40T) | APTSSSTKKTQLQLEHLLLTLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT |

[0325]

[0326] 하기 표 5는 다양한 링커 아미노산 서열을 열거한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 표 5에 열거된 바와 같이 서열식별번호: 116 내지 서열식별번호: 127 중 어느 하나로부터 선택된 다중 연쇄된 서열을 포함한다.

[0327] 표 5:

| SEQ ID NO: | 구축물 | 서열 |
|---|---|---|
| 116 | L1-(G3S)3 | GGGSGGGSGGGS |
| 117 | L2-G2S2 | GGSSGGAGGGGS |
| 118 | L3-(G3S)5 | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGS |
| 119 | L4-(G2S)3 | GGSGGSGGS |
| 120 | L5-(G2S)5 | GGSGGSGGSGGSGGS |
| 121 | L6-GGEEE | GGEEEGGEEEGS |
| 122 | L7-<br>12량체_강직 | ESPEPETPEDES |
| 123 | L8-<br>22량체_나선 | GRGGEEKKKEKEKEEQEERETK |
| 124 | L9-G | G |
| 125 | L10-GG | GG |
| 126 | L11-S | S |
| 127 | L12-GS | GS |

[0328]

[0329] 하기 표 6은 다양한 CD25 아미노산 서열을 열거한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 표 6에 열거된 바와 같이 서열식별번호: 128 내지 서열식별번호: 169 중 어느 하나를 포함한다.

[0330] 표 6:

| SEQ ID NO: | 구축물 | 서열 |
|---|---|---|
| 128 | CD25(22-240) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATME TSIFTTEYQ |
| 129 | CD25(22-212) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 130 | CD25(22-187) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGE |
| 131 | CD25(22-240)(C213S) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSSLVTTTDFQIQTEMAATME TSIFTTEYQ |
| 132 | CD25(22-192)-GGC | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQGGC |
| 133 | CD25(22-213) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC |
| 134 | CD25(22-187)(N70C) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGCSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGE |
| 135 | CD25(22-187)(N89C) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRCTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGE |
| 136 | CD25(22-187)-C | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEC |
| 137 | CD25(22-187)-G | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEG |
| 138 | CD25(22-212)-PP | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSPP |
| 139 | CD25(22-212)(T106A | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHCR |

[0331]

| | | |
|---|---|---|
| | ) | EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 140 | CD25(22-212)(T95A) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 141 | CD25(22-212)(T95A+T106A) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVAPQPEEQKERKATEMQSPMQPVDQASLPGHC REPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETS |
| 142 | CD25(22-212)-PG | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSPG |
| 143 | CD25(22-187)(N70Q+N89Q) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHS SWDNQCQCTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGE |
| 144 | CD25(22-187)(N89Q) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRQTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGE |
| 145 | CD25(22-187)(N70Q) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGQSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGE |
| 146 | CD25(22-211) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESET |
| 147 | CD25(22-210) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESE |
| 148 | CD25(22-209) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPES |
| 149 | CD25(22-208) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPE |
| 150 | CD25(22-207) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRP |
| 151 | CD25(22-206) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGR |
| 152 | CD25(22-205) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEG |
| 153 | CD25(22- | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS |

[0332]

| | | |
|---|---|---|
| | 204) | SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPE |
| 154 | CD25(22-203) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASP |
| 155 | CD25(22-202) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS |
| 156 | CD25(22-201) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQA |
| 157 | CD25(22-200) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQ |
| 158 | CD25(22-199) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEKP |
| 159 | CD25(22-198) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEEK |
| 160 | CD25(22-197) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGEE |
| 161 | CD25(22-196) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPGE |
| 162 | CD25(22-195) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFPG |
| 163 | CD25(22-194) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQFP |
| 164 | CD25(22-193) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQF |
| 165 | CD25(22-192) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETSQ |
| 166 | CD25(22-191) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMETS |

[0333]

| | | |
|---|---|---|
| 167 | CD25(22-190) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEMET |
| 168 | CD25(22-189) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEME |
| 169 | CD25(22-188) | ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHS SWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCR EPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRW TQPQLICTGEM |

[0334]

[0335] 하기 표 7은 다양한 링커 아미노산 서열을 열거한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질은 표 7에 열거된 바와 같이 서열식별번호: 170 내지 서열식별번호: 186 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 서열이 존재하지 않는다 (즉, 표 7에 열거된 바와 같은 "TL0").

[0336] 표 7:

| SEQ ID NO: | 구축물 | 서열 |
|---|---|---|
| | TL0 | - |
| 170 | TL1 | G |
| 171 | TL2 | GG |
| 172 | TL3 | GS |
| 173 | TL4 | GGS |
| 174 | TL5 | GGGS |
| 175 | TL6 | GGSGG |
| 176 | TL7 | GGGSGG |
| 177 | TL8 | GGSGGSG |
| 178 | TL9 | GGSGGGSG |
| 179 | TL10 | GGGSGGGSG |
| 180 | TL11 | GGGGSGGGGS |
| 181 | TL12 | GGGGSGGGGSG |
| 182 | TL13 | EPKSS |
| 183 | TL14 | PKSS |
| 184 | TL15 | KSS |
| 185 | TL16 | SS |
| 186 | TL17 | S |

[0337]

[0338] 하기 표 8은 다양한 인핸서 아미노산 서열을 열거한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질은 표 8에 열거된 바와 같이 서열식별번호: 187 내지 서열식별번호: 201 중 어느 하나를 포함한다.

[0339] 표 8:

| SEQ ID NO: | 구축물 | 서열 |
|---|---|---|
| 187 | IgG1-Fc | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 188 | IgG1.1-Fc | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 189 | IgG1.3-Fc | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 190 | IgG1-Fc(P238K) | DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 191 | IgG4-Fc | ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGK |
| 192 | IgG4.1-F c | ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGK |
| 193 | IgG1.3-Fc-노브 | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 194 | IgG1.3-Fc-홀 | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 195 | IgG1-Fc(P238K)-노브 | DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 196 | IgG1-Fc(P238K)-홀 | DKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS |

[0340]

| | | |
|---|---|---|
| | | DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 197 | IgG1.1-Fc(AZ1) | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 198 | IgG1.1-Fc(AZ2) | DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSREEMTKNQVSLLCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 199 | HSA | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKF GERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDR ADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCC AAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH EKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLS EKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL |
| 200 | HSA(C34S) | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKF GERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDR ADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCC AAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH EKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLS EKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL |
| 201 | HSA(C35A) | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAK TCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQK FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADF VESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYT KKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTL SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETC FAEEGKKLVAASQAALGL |

[0341]

[0342] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 표 4로부터 선택된 IL-2 서열 (즉, 서열식별번호: 101 내지 서열식별번호: 115 중 하나) 및 표 6으로부터의 CD25 서열 (즉, 서열식별번호: 128 내지 서열식별번호: 169 중 하나)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 또한 표 5로부터 선택된 서열 또는 다중 연쇄된 서열 (즉, 서열식별번호: 116 내지 서열식별번호: 127 중 하나 이상)을 포함한다.

[0343] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 상기 표 4로부터 선택된 IL-2 서열 (즉, 서열식별번호: 101 내지 서열식별번호: 115 중 하나) 및 표 6으로부터의 CD25 서열 (즉, 서열식별번호: 128 내지 서열식별번호: 169 중 하나), 표 5로부터 선택된 서열 또는 다중 연쇄된 서열 (즉, 서열식별번호: 116 내지 서열식별번호: 127 중 하나 이상), 및 표 7로부터 서열 또는 다중 연쇄된 서열을 포함하는 임의적인 링커 (즉, 서열식별번호: 170 내지 서열식별번호: 186 중 하나 이상)를 포함한다.

[0344] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은, 상기 표 4로부터 선택된 IL-2 서열 (즉, 서열식별번호: 101 내지 서열식별번호: 115 중 하나) 및 표 6으로부터의 CD25 서열 (즉, 서열식별번호: 128 내지 서열식별번호: 169 중 하나), 표 5로부터 선택된 서열 또는 다중 연쇄된 서열, 및 표 8로부터의 서열 또는 다중 연쇄된 서열을 포함하는 임의적인 링커 (즉, 서열식별번호: 187 내지 서열식별번호: 201 중 하나)를 포함한다.

[0345] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 순서대로, 표 8로부터의 인핸서 서열 (즉, 서열식별번호: 187 내지 서열식별번호: 201 중 하나), 표 7로부터 선택된 서열 또는 다중 연쇄된 서열 (즉, 서열식별번호: 170 내지 서열식별번호: 186 중 하나 이상), 표 4로부터 선택된 IL-2 서열 (즉, 서열식별번호: 101 내지 서열식별번호: 115 중 하나), 및 표 6으로부터의 CD25 서열 (즉, 서열식별번호: 128 내지 서열식별번호: 169 중 하나)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 표 7로부터 선택된 서열 또는 다중 연쇄된 서열 (즉, 서열식별번호: 170 내지 서열식별번호: 186 중 하나 이상)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 표 5

로부터 선택된 서열 또는 다중 연쇄된 서열 (즉, 서열식별번호: 116 내지 서열식별번호: 127 중 하나 이상)을 포함한다.

[0346] 7.4 폴리뉴클레오티드

[0347] 특정 측면에서, IL2 활성을 갖는 본원에 기재된 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드, 예를 들어, DNA 또는 RNA, 뿐만 아니라 이러한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터, 예를 들어, 숙주 세포, 예를 들어, 포유동물 세포에서의 그의 효율적인 발현을 위한 발현 벡터가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 1 내지 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 202 내지 서열식별번호: 204의 폴리펩티드 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열이 본원에 제공된다.

[0348] 본원에 사용된 "단리된" 폴리뉴클레오티드 또는 핵산 분자는 핵산 분자의 천연 공급원에 (예를 들어, 마우스 또는 인간에) 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된 것이다. 또한, "단리된" 핵산 분자, 예컨대 cDNA 분자는, 재조합 기술에 의해 생성된 경우에 다른 세포 물질 또는 배양 배지가 실질적으로 없을 수 있거나, 또는 화학적으로 합성된 경우에 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다. 예를 들어, 용어 "실질적으로 없는"은 약 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5%, 또는 0.1% 미만 (특히 약 10% 미만)의 다른 물질, 예를 들어, 세포 물질, 배양 배지, 다른 핵산 분자, 화학적 전구체 및/또는 다른 화학물질을 갖는 폴리뉴클레오티드 또는 핵산 분자의 제제를 포함한다. 구체적 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질을 코딩하는 핵산 분자(들)는 단리 또는 정제된다.

[0349] 폴리뉴클레오티드, 및 결정된 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 수득될 수 있다. 본원에 기재된 융합 단백질, 예를 들어, 표 3에 기재된 융합 단백질, 및 이들 융합 단백질의 변형된 버전을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 관련 기술분야에 널리 공지된 방법을 사용하여 결정될 수 있고, 즉, 특정한 아미노산을 코딩하는 것으로 공지된 뉴클레오티드 코돈이 융합 단백질을 코딩하는 핵산을 생성하는 방식으로 조립된다. 융합 단백질을 코딩하는 이러한 폴리뉴클레오티드는 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오티드로부터 조립될 수 있고 (예를 들어, 문헌 [Kutmeier G et al., (1994), BioTechniques 17: 242-6)]에 기재된 바와 같이), 이는 간략하게, 융합 단백질을 코딩하는 서열의 부분을 함유하는 중첩 올리고뉴클레오티드의 합성, 상기 올리고뉴클레오티드의 어닐링 및 라이게이션, 및 이어서 PCR에 의한 라이게이션된 올리고뉴클레오티드의 증폭을 수반한다.

[0350] 대안적으로, 본원에 기재된 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법 (예를 들어, PCR 및 다른 분자 클로닝 방법)을 사용하여 적합한 공급원 (예를 들어, 하이브리도마)으로부터의 핵산으로부터 생성될 수 있다. 예를 들어, 공지된 서열의 3' 및 5' 말단에 혼성화가능한 합성 프라이머를 사용한 PCR 증폭은 관심 융합 단백질을 생산하는 하이브리도마 세포로부터 수득한 게놈 DNA를 사용하여 수행될 수 있다. 이러한 PCR 증폭 방법은 예를 들어, IL2, 링커 서열, 또는 IL2-Rα를 코딩하는 서열을 포함하는 핵산을 수득하는 데 사용될 수 있다. 증폭된 핵산은 숙주 세포에서의 발현을 위한 벡터, 및 예를 들어 융합 단백질을 생성하기 위한 추가의 클로닝을 위한 벡터로 클로닝될 수 있다.

[0351] 특정한 융합 단백질을 코딩하는 핵산을 함유하는 클론은 이용가능하지 않지만 융합 단백질 분자의 서열은 공지되어 있는 경우, 융합 단백질을 코딩하는 핵산은, 서열의 3' 및 5' 말단과 혼성화가능한 합성 프라이머를 사용한 PCR 증폭에 의해, 또는 예를 들어 융합 단백질을 코딩하는 cDNA 라이브러리로부터 cDNA 클론을 확인하는 특정한 유전자 서열에 특이적인 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용한 클로닝에 의해 화학적으로 합성되거나 또는 적합한 공급원 (예를 들어, cDNA 라이브러리, 또는 관심 단백질을 발현하는 임의의 조직 또는 세포, 예컨대 본원에 기재된 융합 단백질을 발현하기 위해 선택된 하이브리도마 세포로부터 단리된 핵산, 바람직하게는 폴리 A+ RNA 또는 그로부터 생성된 cDNA 라이브러리)으로부터 수득될 수 있다. 이어서, PCR에 의해 생성된 증폭된 핵산을 관련 기술 분야에 널리 공지된 임의의 방법을 사용하여 복제가능한 클로닝 벡터 내로 클로닝할 수 있다.

[0352] 본원에 개시된 DNA 코딩 융합 단백질은 통상적인 과정을 사용하여 (예를 들어, 본원에 개시된 융합 단백질을 코딩하는 유전자와 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리 및 서열분석될 수 있다. 하이브리도마 세포가 이러한 DNA의 공급원으로 기능할 수 있다. 일단 단리하였으면, DNA를 발현 벡터 내로 넣은 다음, 이를 달리 이뮤노글로불린 단백질을 생산하지 않는 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이 세포, 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 (예를 들어, CHO GS 시스템™ (론자(Lonza)으로부터의 CHO 세포), 또는 골수종 세포 내로 형질감염시켜, 재조합 숙주 세포에서 융합 단백질의 합성을 수득한다.

[0353] IL2/IL2Rα 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 융합 단백질의 번역을 돕는 추가의 요소를 포함할 수

있음이 추가로 인식된다. 이러한 서열은 예를 들어, 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 5' 말단에 부착된 코작(Kozak) 서열을 포함한다. 코작 컨센서스 서열은 번역 과정의 개시에서 역할을 수행하고 컨센서스 (gee)gccRccAUGG (서열식별번호: 92)를 갖는 진핵 mRNA 상에 발생하는 서열이며; 여기서, (1) 소문자는 위치에서 가장 통상적인 염기를 나타내고 (염기가 그럼에도 불구하고 변할 수 있음); (2) 대문자는 고도로 보존된 염기를 나타내고, 즉, 'AUGG' 서열은 변하지 않거나, 변경이 존재하는 경우에도 매우 드물고, 예외적으로, IUPAC 모호성 부호 'R'는 퓨린 (아데닌 또는 구아닌)이 이 위치에서 보통 관찰됨을 나타내고; (3) 괄호 안의 서열 ((gee))은 불확실한 의미를 갖는다.

[0354] 하나의 비제한적 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질은 서열식별번호: 92에 제시된 바와 같은 IL2 리더에 최적화된 코작 서열 (gccaccATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGT) 또는 그의 기능적 변이체 또는 단편을 포함한다. 코작 서열의 기능적 변이체 또는 단편은 리더가 결여된 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 연속적인 뉴클레오티드 또는 서열식별번호: 92 또는 서열식별번호: 99에 제시된 서열 (gccaccATGG)을 포함할 수 있다. 대안적으로, 기능적 변이체는 코작 서열 또는 서열식별번호: 92 또는 서열식별번호: 99에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함할 수 있다.

[0355] 7.5 세포 및 벡터

[0356] 특정 측면에서, 본원에 기재된 융합 단백질을 (예를 들어, 재조합적으로) 발현하는 세포 (예를 들어, 숙주 세포) 및 본원에 기재된 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터가 본원에 제공된다. 숙주 세포에서의 재조합 발현을 위한 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 (예를 들어, 발현 벡터)가 본원에 제공된다.

[0357] 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 핵산을 포함한다.

[0358] 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵 세포이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포, 곤충 세포, 효모 세포, 트랜스제닉 포유동물 세포 및 식물 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 원핵 세포이다. 일부 실시양태에서, 원핵 세포는 박테리아 세포이다.

[0359] 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포이다. 이러한 포유동물 숙주 세포는 CHO, VERO, BHK, HeLa, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0 (임의의 이뮤노글로불린 쇄를 내인성으로 생산하지 않는 뮤린 골수종 세포주), CRL7030, COS (예를 들어, COS1 또는 COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 및 HsS78Bst 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0360] 본원에 사용된 발현 벡터는 적절한 숙주 세포 내로 도입되는 경우에, 삽입된 코딩 서열의 전사 및 번역에 필요한 요소, 또는 RNA 바이러스 벡터의 경우에, 복제 및 번역에 필요한 요소를 함유하는 임의의 핵산 구축물을 지칭한다. 발현 벡터는 플라스미드, 파지미드, 바이러스, 및 이들의 유도체를 포함할 수 있다.

[0361] 본원에 사용된 유전자 발현 제어 서열은 작동가능하게 연결된 코딩 핵산의 효율적인 전사 및 번역을 용이하게 하는 임의의 조절성 뉴클레오티드 서열, 예컨대 프로모터 서열 또는 프로모터-인핸서 조합이다. 유전자 발현 제어 서열은 예를 들어, 포유동물 또는 바이러스 프로모터, 예컨대 구성적 또는 유도성 프로모터일 수 있다. 구성적 포유동물 프로모터는 하기 유전자에 대한 프로모터: 하이포크산틴 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HPRT), 아데노신 데아미나제, 피루베이트 키나제, 베타-액틴 프로모터, 및 다른 구성적 프로모터를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 진핵 세포에서 구성적으로 기능하는 예시적인 바이러스 프로모터는 예를 들어 시토메갈로바이러스 (CMV), 원숭이 바이러스 (예를 들어, SV40), 유두종 바이러스, 아데노바이러스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 라우스 육종 바이러스, 시토메갈로바이러스, 몰로니 백혈병 바이러스의 긴 말단 반복체 (LTR) 및 다른 레트로바이러스 유래의 프로모터, 및 단순 포진 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터를 포함한다. 다른 구성적 프로모터는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 본 개시내용의 유전자 발현 서열로서 유용한 프로모터는 또한 유도성 프로모터를 포함한다. 유도성 프로모터는 유도제의 존재 하에 발현된다. 예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터는 특정 금속 이온의 존재 하에 전사 및 번역이 촉진되도록 유도된다. 다른 유도성 프로모터가 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0362] 본 개시내용의 목적을 위해, 수많은 발현 벡터 시스템이 사용될 수 있다. 이들 발현 벡터는 전형적으로 숙주 유기체 내에서 에피솜으로서 또는 숙주 염색체 DNA의 필수 부분으로서 복제가능하다. 발현 벡터는 프로모터

(예를 들어, 자연-연관 또는 이종 프로모터), 인핸서, 신호 서열, 스플라이스 신호, 인핸서 요소, 및 전사 종결 서열을 포함하나 이에 제한되지는 않는 발현 제어 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 발현 제어 서열은 진핵 숙주 세포를 형질전환 또는 형질감염시킬 수 있는 벡터 내의 진핵 프로모터 시스템이다. 발현 벡터는 또한 동물 바이러스, 예컨대 소 유두종 바이러스, 폴리오마 바이러스, 아데노바이러스, 백시니아 바이러스, 바큘로바이러스, 레트로바이러스 (RSV, MMTV 또는 MOMLV), 시토메갈로바이러스 (CMV) 또는 SV40 바이러스로부터 유래된 DNA 요소를 이용할 수 있다. 다른 발현 벡터는 내부 리보솜 결합 부위를 갖는 폴리시스트론 시스템의 사용을 수반한다.

[0363] 통상적으로, 발현 벡터는 목적하는 DNA 서열로 형질전환된 세포의 검출을 허용하도록 선택 마커 (예를 들어, 암피실린 내성, 히그로마이신 내성, 테트라시클린 내성 또는 네오마이신 내성)를 함유한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,704,362 (이타쿠라(Itakura) 등) 참조). DNA를 그 염색체 내로 통합한 세포는 형질감염된 숙주 세포의 선택을 허용하는 1종 이상의 마커를 도입함으로써 선택될 수 있다. 마커는 영양요구성 숙주에 원영양성, 살생물제 내성 (예를 들어, 항생제) 또는 중금속, 예컨대 구리 내성을 제공할 수 있다. 선택 마커 유전자는 발현시킬 DNA 서열에 직접 연결되거나, 또는 동시 형질전환에 의해 동일한 세포 내로 도입될 수 있다.

[0364] 본 개시내용의 방법에 사용되는 융합 단백질의 최적화된 발현에 유용한 벡터의 예는 네오스플라(NEOSPLA) (미국 특허 번호 6,159,730)이다. 상기 벡터는 시토메갈로바이러스 프로모터/인핸서, 마우스 베타 글로빈 주요 프로모터, SV40 복제 기점, 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 서열, 네오마이신 포스포트랜스퍼라제 엑손 1 및 엑손 2, 디히드로폴레이트 리덕타제 유전자 및 리더 서열을 함유한다. 벡터 시스템은 또한 미국 특허 번호 5,736,137 및 5,658,570에 교시되어 있다. 상기 시스템은 높은 발현 수준, 예를 들어, > 30pg/세포/일을 제공한다. 다른 예시적인 벡터 시스템은 예를 들어, 미국 특허 번호 6,413,777에 개시되어 있다.

[0365] 다른 실시양태에서, 본 개시내용의 폴리펩티드는 폴리시스트론 구축물을 사용하여 발현된다. 이들 발현 시스템에서, 다중 관심 유전자 산물, 예컨대 다량체 결합 단백질의 다중 폴리펩티드가 단일 폴리시스트론 구축물로부터 생산될 수 있다. 이들 시스템은 진핵 숙주 세포에서 비교적 높은 수준의 폴리펩티드를 제공하기 위해 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)를 유리하게 사용한다. 상용성 IRES 서열은 미국 특허 번호 6,193,980에 개시되어 있다.

[0366] 보다 일반적으로, 폴리펩티드를 코딩하는 벡터 또는 DNA 서열이 제조되면, 발현 벡터는 적절한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 즉, 숙주 세포는 형질전환될 수 있다. 숙주 세포 내로의 플라스미드의 도입은 상기 논의된 바와 같이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 다양한 기술에 의해 달성될 수 있다. 형질전환된 세포를 융합 단백질의 생산에 적절한 조건 하에 성장시키고, 융합 단백질 합성에 대해 검정한다. 예시적인 검정 기술은 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA), 방사선면역검정 (RIA), 또는 형광-활성화 세포 분류기 분석 (FACS), 면역조직화학 등을 포함한다.

[0367] 7.6 제약 조성물

[0368] 본원에 개시된 다양한 IL2/IL2Rα 융합 단백질 (또한 "활성 화합물"으로서 본원에 지칭됨)은 투여에 적합한 제약 조성물 내로 혼입될 수 있다. 이러한 조성물은 전형적으로 융합 단백질 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 담체"는 제약 투여에 상용성인 임의의 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함하는 것으로 의도된다. 제약 활성 물질에 대한 이러한 매질 및 작용제의 사용은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 상용성이 아닌 경우를 제외하고, 조성물에서 그의 사용이 고려된다. 보충 활성 화합물이 또한 조성물 내로 혼입될 수 있다.

[0369] 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질 및 (b) 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 개시된다.

[0370] 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 포함하는 조성물 및 (b) 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 개시된다.

[0371] 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 핵산 및 (b) 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 개시된다.

[0372] 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 벡터 및 (b) 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 개시된다.

[0373] 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 숙주 세포 및 (b) 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 개시된다.

[0374] 본 개시내용의 제약 조성물은 그의 의도된 투여 경로와 상용가능하도록 제제화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어, 정맥내, 피내, 피하, 경구 (예를 들어, 흡입), 경피 (국소) 및 경점막을 포함한다. 또한, 치료 유효량의 제약 조성물을 치료가 필요한 영역에 국부로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 이것은 예를 들어, 수술 동안 국부 또는 국소 주입 또는 관류, 국소 적용, 주사, 카테터, 좌제 또는 임플란트 (예를 들어, 막, 예컨대 실라스틱 막 또는 섬유를 포함하는 다공성, 비-다공성 또는 젤라틴성 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., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein 및 Fidler (eds.), Liss, N.Y., pp. 353-65, 1989] 참조).

[0375] 또 다른 실시양태에서, 치료 유효량의 제약 조성물은 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. Neural. 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 시스템이 또한 사용될 수 있다.

[0376] 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 덱스트린을 비롯한 다른 탄수화물; 킬레이트화제 예컨대 EDTA; 당 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제 예컨대 트윈 (TWEEN)™, 플루로닉스(PLURONICS)™ 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.

[0377] 비경구 제제에 사용된 제약상 허용되는 담체는 수성 비히클, 비수성 비히클, 항미생물제, 등장화제, 완충제, 항산화제, 국부 마취제, 현탁화제 및 분산제, 유화제, 격리제 또는 킬레이트화제 및 다른 제약상 허용되는 물질을 포함한다. 수성 비히클의 예는 염화나트륨 주사, 링거 주사, 등장성 덱스트로스 주사, 멸균수 주사, 덱스트로스 및 락테이트화 링거 주사를 포함한다. 비수성 비경구 비히클은 식물성 기원의 고정유, 목화씨 오일, 옥수수 오일, 참깨 오일 및 땅콩 오일을 포함한다. 정박테리아 또는 정진균 농도의 항미생물제가 다중-용량 용기 내에 포장된 비경구 제제에 첨가될 수 있으며, 이는 페놀 또는 크레졸, 수은제, 벤질 알콜, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-히드록시벤조산 에스테르, 티메로살, 벤즈알코늄 클로라이드 및 벤제토늄 클로라이드를 포함한다. 등장화제는 염화나트륨 및 덱스트로스를 포함한다. 완충제는 포스페이트 및 시트레이트를 포함한다. 항산화제는 중황산나트륨을 포함한다. 국부 마취제는 프로카인 히드로클로라이드를 포함한다. 현탁화제 및 분산제는 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 유화제는 폴리소르베이트 80 (트윈® 80)을 포함한다. 금속 이온의 격리제 또는 킬레이트화제는 EDTA를 포함한다. 제약 담체는 또한 수혼화성 비히클을 위한 에틸 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜; 및 pH 조정을 위한 수산화나트륨, 염산, 시트르산 또는 락트산을 포함한다.

[0378] 비경구, 피내, 또는 피하 적용에 사용되는 용액 또는 현탁액은 하기 성분을 포함할 수 있다: 멸균 희석제 예컨대 주사용수, 염수 용액, 고정 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매; 항박테리아제 예컨대 벤질 알콜 또는 메틸 파라벤; 항산화제 예컨대 아스코르브산 또는 중아황산나트륨; 킬레이트화제 예컨대 에틸렌디아민테트라아세트산; 완충제 예컨대 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트 및 장성 조정제 예컨대 염화나트륨 또는 덱스트로스. pH는 산 또는 염기, 예컨대 염산 또는 수산화나트륨에 의해 조절될 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 시린지, 또는 유리 또는 플라스틱으로 제조된 다중 용량 바이알에 밀봉될 수 있다.

[0379] 주사가능한 용도에 적합한 제약 조성물은 멸균 수용액 (수용성인 경우) 또는 분산액, 및 멸균 주사가능한 용액

또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여를 위해, 적합한 담체는 생리 염수, 정박테리아수, 크레모포르(Cremophor) ELS (바스프(BASF), 뉴저지주 파시파니), 또는 포스페이트 완충 염수 (PBS)를 포함한다. 모든 경우에서 조성물은 멸균되어야 하고, 용이하게 주사가능한 범위의 유체이어야 한다. 이는 제조 및 저장 조건 하에 안정해야 하고, 미생물, 예컨대 박테리아 및 진균의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 예를 들어, 코팅, 예컨대 레시틴을 사용하고, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기를 유지하고, 계면활성제를 사용함으로써, 적절한 유동성을 유지할 수 있다. 미생물 작용의 방지는 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 다수의 경우에서, 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 염화나트륨을 조성물 중에 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사가능한 조성물의 지속 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물 중에 포함시킴으로써 유도될 수 있다.

[0380] 멸균 주사가능한 용액은 활성 화합물을 필요한 양으로 적절한 용매 중에 상기 열거된 성분 중 1종 또는 그의 조합과 함께 혼입시키고, 필요에 따라, 이어서 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 활성 화합물을, 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것으로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼입시킴으로써 분산액을 제조한다. 멸균 주사가능 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 진공 건조 및 동결 건조이고, 이는 활성 성분 + 그의 이전에 멸균 여과된 용액으로부터 임의의 추가의 목적하는 성분의 분말을 생성한다.

[0381] 흡입에 의한 투여를 위해, 화합물은 적합한 추진제, 예를 들어 이산화탄소와 같은 기체를 함유하는 가압 용기 또는 분배기, 또는 네뷸라이저로부터 에어로졸 스프레이의 형태로 전달된다. 전신 투여는 또한 경점막 또는 경피 수단에 의할 수 있다.

[0382] 경점막 또는 경피 투여의 경우, 투과될 장벽에 적절한 침투제가 제제에 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 경점막 투여의 경우, 세제, 담즙 염, 및 푸시드산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비강 스프레이 또는 좌제의 사용을 통해 달성될 수 있다. 경피 투여의 경우, 활성 화합물은 일반적으로 관련 기술분야에 공지된 바와 같은 연고, 살브, 겔, 또는 크림 내로 제제화된다. 화합물은 또한 좌제 (예를 들어, 통상적인 좌제 베이스, 예컨대 코코아 버터 및 다른 글리세리드 함유) 또는 직장 전달을 위한 정체 관장제의 형태로 제조될 수 있다.

[0383] 한 실시양태에서, 활성 화합물은, 예컨대 임플란트 및 마이크로캡슐화 전달 시스템을 포함하는 제어 방출 제제와 같이, 신체로부터의 빠른 제거에 대해 화합물을 보호할 담체와 함께 제조된다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제제의 제조 방법은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 물질은 또한 알자 코포레이션(Alza Corporation) 및 노바 파마슈티칼스, 인크.(Nova Pharmaceuticals, Inc.)로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 또한 리포솜 현탁액이 제약상 허용되는 담체로서 사용될 수 있다. 이들은, 예를 들어, 미국 특허 번호 4,522,811에 기재된 바와 같이, 관련 기술 분야의 기술자에게 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0384] 경구 또는 비경구 조성물을 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위한 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 투여 단위 형태는 대상체를 치료하기 위한 단일 용량으로서 적합한 물리적 이산 단위를 지칭하며, 각각의 단위는 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 필요한 제약 담체와 함께 함유한다. 본 개시내용의 투여 단위 형태에 대한 상세사항은 활성 화합물의 고유한 특징 및 달성될 특정한 치료 효과, 및 이러한 기능성 화합물을 개체의 치료를 위해 배합하는 분야에 고유한 제한사항에 의해 좌우되고, 이에 직접적으로 의존적이다. 제약 조성물은 투여를 위한 지침서와 함께 용기, 팩, 또는 분배기에 포함될 수 있다.

[0385] 이러한 기능을 조정하는 데 유용한 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 유효량은 치료되는 대상체, 질병의 중증도 및 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 투여 방식에 좌우될 것이다. 예시적인 용량은 성인당 약 104 내지 약 107 IU의 IL2의 활성, 성인당 약 104 내지 105 IU의 IL2의 활성, 성인당 약 105 내지 약 106 IU의 IL2의 활성, 성인당 약 106 내지 약 107 IU의 IL2의 활성을 포함한다. 다른 경우에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질의 치료 유효 용량은 약 105 IU의 IL2 활성± 100배이거나, 약 105 IU의 IL2 활성± 10배, 약 105 IU의 IL2 활성± 2배, 약 105 IU의 IL2 활성± 20배, 약 105 IU의 IL2 활성± 30배, 약 105 IU의 IL2 활성± 40배, 약 105 IU의 IL2 활성± 50배,

약 105 IU의 IL2 활성± 60배, 약 105 IU의 IL2 활성± 70배, 약 105 IU의 IL2 활성± 80배 또는 약 105 IU의 IL2 활성± 90배이다. 특정한 비제한적 실시양태에서, 인간 IL2 융합 단백질은 상기 투여량으로 투여된다.

[0386] 7.7 용도 및 방법

[0387] 7.7.1 본원에 개시된 조성물을 제조하는 방법

[0388] 상기 논의된 바와 같이, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 IL2, IL2Rα 또는 본원에 기재된 임의의 이종 모이어티 서열을 변형시킴으로써 새로운 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 생성하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 또 다른 측면에서, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 구조적 특색은 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 적어도 하나의 기능적 특성, 예컨대 인간 IL2Rα 및 시노몰구스 IL2Rα에 대한 결합을 보유하는 구조적으로 관련된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 생성하는 데 사용된다. 예를 들어, 본원에 기재된 IL2, IL2Rα 또는 임의의 이종 모이어티 서열 중 1종 이상은 상기 논의된 바와 같이, 공지된 프레임워크 영역 및/또는 다른 단백질과 재조합적으로 조합되어 본원에 기재된 추가의 재조합적으로-조작된 융합 단백질을 생성할 수 있다.

[0389] 일부 실시양태에서, IL2/IL2Rα 융합 단백질을 포함하는 숙주 세포를 적합한 조건 하에 배양하고 상기 융합 단백질을 회수하는 것을 포함하는, IL2/IL2Rα 융합 단백질을 생산하는 방법이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵 세포 또는 원핵 세포이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포, 곤충 세포, 진균 세포, 식물 세포, 트랜스제닉 포유동물 세포, 또는 박테리아 세포이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 CHO 세포, HEK 293 세포, NS0 세포, Per C6 세포, BHK 세포 및 COS 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 숙주 세포는 박테리아 세포이다. 특정한 실시양태에서, 박테리아 세포는 에스케리키아 콜라이이다.

[0390] 다른 유형의 변형은 이전 섹션에 기재된 것을 포함한다. 조작 방법을 위한 출발 물질은 본원에 제공된 IL2 또는 IL2Rα 서열 중 1종 이상이다. 조작된 융합 단백질을 생성하기 위해, 본원에 제공된 IL2 또는 IL2Rα 서열 중 1종 이상을 갖는 융합 단백질을 실제로 제조할 (즉, 단백질로서 발현시킬) 필요는 없다. 오히려, 서열(들) 내에 함유된 정보를 출발 물질로서 사용하여 원래 서열(들)로부터 유래된 "제2 세대" 서열(들)을 생성한 다음, "제2 세대" 서열(들)을 단백질로서 제조 및 발현시킨다.

[0391] 따라서, (a) IL2 및 IL2Rα를 제공하는 단계; (b) IL2 및 IL2Rα 내의 적어도 1개의 아미노산 잔기를 변경시켜 적어도 1종의 변경된 융합 단백질 서열을 생성하는 단계; 및 (c) 변경된 융합 단백질 서열을 단백질로서 발현시키는 단계를 포함하는, 융합 단백질을 제조하는 방법이 본원에 제공된다.

[0392] 또한, (a) IL2 및 IL2Rα를 제공하는 단계; (b) IL2 및 IL2Rα 내의 적어도 1개의 글리코실화를 변경시켜 적어도 1개의 변경된 글리코실화 부위를 생성하는 단계; 및 (c) 변경된 융합 단백질 서열을 단백질로서 발현시키는 단계를 포함하는, 융합 단백질을 제조하는 방법이 본원에 제공된다.

[0393] 변경된 항체는 상기 (1) 내지 (10)으로서 제시된 기능적 특성 중 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상 또는 모두를 나타낼 수 있다. 변경된 항체의 기능적 특성은 관련 기술분야에서 이용가능한 표준 검정을 사용하여 평가될 수 있다.

[0394] 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 조작하는 방법의 일부 실시양태에서, 돌연변이는 IL2/IL2Rα 융합 단백질 코딩 서열의 전부 또는 일부를 따라 무작위로 또는 선택적으로 도입될 수 있고, 생성된 변형된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 본원에 기재된 바와 같은 결합 활성 및/또는 다른 기능적 특성에 대해 스크리닝될 수 있다. 돌연변이 방법은 관련 기술분야에 기재되어 있다. 예를 들어, 쇼트(Short)의 PCT 공개 WO 02/092780은 포화 돌연변이유발, 합성 라이게이션 어셈블리, 또는 그의 조합을 사용하여 돌연변이를 생성하고 스크리닝하는 방법을 기재한다. 대안적으로, 라자르(Lazar) 등의 PCT 공개 WO 03/074679는 단백질의 생리화학적 특성을 최적화하기 위해 컴퓨터 스크리닝 방법을 사용하는 방법을 기재한다.

[0395] 조성물은 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 개시된다. 발현 카세트는 일반적으로 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결된 프로모터 및 전사 및 번역 종결 영역을 포함할 것이다.

[0396] 용어 "폴리뉴클레오티드"의 사용은 본 개시내용을 DNA를 포함하는 폴리뉴클레오티드로 제한하도록 의도되지 않는다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 폴리뉴클레오티드가 리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드와 데옥시리보뉴클레오티드의 조합물을 포함할 수 있음을 인식할 것이다. 이러한 데옥시리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레

오티드는 자연 발생 분자 및 합성 유사체 둘 다를 포함한다.

[0397] 1개 초과의 프로세싱 또는 절단 부위를 포함하는 구축물에서, 이러한 부위는 동일하거나 상이할 수 있는 것으로 이해될 것이다.

[0398] "단리된" 또는 "정제된" 폴리뉴클레오티드 또는 단백질, 또는 그의 생물학적 활성 부분은 그의 자연 발생 환경에서 발견되는 폴리뉴클레오티드 또는 단백질에 정상적으로 동반되거나 또는 그와 상호작용하는 성분을 실질적으로 또는 본질적으로 함유하지 않는다. 따라서, 단리되거나 정제된 폴리뉴클레오티드 또는 단백질은 재조합 기술에 의해 생산될 때 다른 세포 물질 또는 배양 배지를 실질적으로 함유하지 않거나 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 다른 화학 물질을 실질적으로 함유하지 않는다. 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)을 함유하지 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.

[0399] 세포 물질이 실질적으로 없는 단백질은 약 30%, 20%, 10%, 5% 또는 1% (건조 중량) 미만의 오염 단백질을 갖는 단백질 제제를 포함한다. 본 개시내용의 단백질 또는 그의 생물학적 활성 부분이 재조합적으로 생산되는 경우에, 최적 배양 배지는 약 30%, 20%, 10%, 5% 또는 1% (건조 중량) 미만의 화학적 전구체 또는 비-관심 단백질 화학물질을 나타낸다.

[0400] 관련 기술 분야의 기술 내의 통상적인 분자 생물학, 미생물학 및 재조합 DNA 기술이 본원에서 사용될 수 있다. 이러한 기술은 문헌에 상세하게 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. Gaited. 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.

[0401] 프로모터에 작동가능하게 연결된 상기 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 또한 본원에 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 언급할 때 용어 "작동가능하게 연결된"은 발현되는 뉴클레오티드 서열 앞에 적절한 개시 신호 (예를 들어, ATG)를 갖는 것과 발현 제어 서열의 제어 하에서의 서열의 발현 및 서열에 의해 코딩된 목적하는 생성물의 생산을 허용하도록 정확한 리딩 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, 파지 또는 코스미드와 같은 레플리콘이다. 프로모터는 박테리아, 효모, 곤충 또는 포유동물 프로모터일 수 있거나 또는 이와 동일하다. 추가로, 벡터는 플라스미드, 코스미드, 효모 인공 염색체 (YAC), 박테리오파지 또는 진핵 바이러스 DNA일 수 있다. 단백질 발현에 유용한 것으로 관련 기술 분야에 공지된 다른 수많은 벡터 백본이 사용될 수 있다. 이러한 벡터는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 아데노바이러스, 원숭이 바이러스 40 (SV40), 시토메갈로바이러스 (CMV), 마우스 유방 종양 바이러스 (MMTV), 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스, DNA 전달 시스템, 즉 리포솜 및 발현 플라스미드 전달 시스템. 추가로, 한 부류의 벡터는 소 유두종 바이러스, 폴리오마 바이러스, 바큘로바이러스, 레트로바이러스 또는 셈리키 포레스트 바이러스와 같은 바이러스 유래의 DNA 요소를 포함한다. 이러한 벡터는 상업적으로 입수되거나 또는 관련 기술 분야에 공지된 방법에 의해 기재된 서열로부터 어셈블리될 수 있다.

[0402] 적합한 숙주 세포의 벡터를 포함하는 폴리펩티드의 생산을 위한 숙주 벡터 시스템이 본원에 제공된다. 적합한 숙주 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포, 예를 들어 박테리아 세포 (그람 양성 세포 포함), 효모 세포, 진균 세포, 곤충 세포 및 동물 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 마우스 섬유모세포 NIH 3T3, CHO 세포, HeLa 세포, Ltk 세포 등을 포함하나 이에 제한되지는 않은 수많은 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 사용

될 수 있다.

[0403] 매우 다양한 숙주/발현 벡터 조합이 본원에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 발현하는 데 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 플라스미드 col E1, pCR1, pBR322, pMB9 및 이들의 유도체, RP4와 같은 플라스미드; 파지 DNAS, 예를 들어 파지 A의 수많은 유도체, 예를 들어 NM989 및 다른 파지 DNA, 예를 들어 M13 및 사상 단일 가닥 파지 DNA; 효모 플라스미드, 예컨대 2!1 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.

[0404] 매우 다양한 발현 제어 서열 (작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열의 발현을 제어하는 서열) 중 임의의 서열을 이들 벡터에 사용하여 본원에 제공된 폴리뉴클레오티드 서열을 발현시킬 수 있다. 이러한 유용한 발현 제어 서열은, 예를 들어 SV40, CMV, 백시니아, 폴리오마 또는 아데노바이러스의 초기 및 후기 프로모터, lac 시스템, trp 시스템, TAC 시스템, TRC 시스템, LTR 시스템, 파지 A의 주요 오퍼레이터 및 프로모터 영역, fd 코트 단백질의 제어 영역, 3-포스포글리세레이트 키나제 또는 다른 당분해 효소에 대한 프로모터, 산 포스파타제 (예를 들어, Pho5)의 프로모터, 효모 a-교배 인자의 프로모터, 및 원핵 또는 진핵 세포 및 이들의 바이러스의 유전자 발현을 제어하는 것으로 공지된 다른 서열, 및 그의 다양한 조합을 포함한다.

[0405] 모든 벡터, 발현 제어 서열 및 숙주가 본원에 제공된 폴리뉴클레오티드 서열을 발현하기 위해 동등하게 잘 기능하는 것은 아니라는 것을 이해할 것이다. 모든 숙주가 동일한 발현 시스템으로 동등하게 잘 기능하지도 않을 것이다. 그러나, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용의 범위를 벗어나지 않으면서 목적하는 발현을 달성하기 위한 과도한 실험 없이 적절한 벡터, 발현 제어 서열 및 숙주를 선택할 수 있을 것이다. 예를 들어, 벡터를 선택하는 데 있어서, 벡터가 숙주 내에서 기능하여야만 하기 때문에 숙주가 고려되어야만 한다. 벡터의 카피수, 그 카피수를 제어하는 능력, 및 벡터에 의해 코딩되는 임의의 다른 단백질, 예컨대 항생제 마커의 발현이 또한 고려될 것이다.

[0406] 발현 제어 서열을 선택하는 데 있어서, 다양한 인자가 통상적으로 고려될 것이다. 이들 인자는 예를 들어 시스템의 상대적인 강도, 그의 제어성, 및 특히 잠재적인 2차 구조와 관련하여 발현되는 특정한 뉴클레오티드 서열 또는 유전자와의 그의 상용성을 포함한다. 적합한 단세포 숙주는 그의 선택된 벡터와의 상용성, 그의 분비 특성, 단백질을 정확하게 폴딩하는 그의 능력, 그의 발효 요건, 뿐만 아니라 발현되는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩되는 생성물의 숙주에 대한 독성 및 발현 산물의 정제 용이성을 고려하여 선택될 것이다.

[0407] 발현 카세트를 제조할 때, 폴리뉴클레오티드 서열을 적절한 배향으로, 적절한 경우 적절한 리딩 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 다른 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. 이러한 목적을 위해, 시험관내 돌연변이유발, 프라이머 복구, 제한, 어닐링, 재치환, 예를 들어 전이 및 전환이 수반될 수 있다.

[0408] 폴리펩티드의 생산을 허용하는 적합한 조건 하에 숙주 세포에서 본원에 개시된 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 발현시키고 그렇게 생산된 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함하는, 폴리펩티드를 생산하는 방법이 추가로 제공된다.

[0409] 7.7.2 치료 용도 및 방법

[0410] 본원에 기재된 융합 단백질 및 방법은, 예를 들어, 예컨대 IL2Rα (예를 들어, 신호전달)를 억제 (또는 길항작용)하는 것에 의한 면역 반응의 증진, 또는 IL2의 검출을 수반하는, 수많은 시험관내 및 생체내 유용성을 갖는다. 예를 들어, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 시험관내 또는 생체외에서 배양액 내의 세포에 투여되거나, 또는 예를 들어 생체내에서 인간 대상체에 투여되어, 다양한 질환에서 면역을 증진시킬 수 있다. 따라서, 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하여 상기 대상체에서 면역 반응이 변형되도록 하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 반응은 증진되거나, 자극되거나 또는 상향조절된다.

[0411] 본 방법에 적합한 대상체는 면역 반응의 증진이 바람직할 인간 환자를 포함한다. 방법은 면역 반응 (예를

들어, T 세포 매개된 면역 반응, 예를 들어 항원 특이적 T 세포 반응)을 증대시킴으로써 치료될 수 있는 장애를 갖는 인간 환자를 치료하는 데 특히 적합하다. 일부 실시양태에서, 방법은 생체내 암의 치료에 특히 적합하다. 면역의 항원-특이적 증진을 달성하기 위해, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 관심 항원과 함께 투여될 수 있거나 또는 항원이 치료될 대상체 (예를 들어, 종양-보유 또는 바이러스-보유 대상체)에 이미 존재할 수 있다. 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질이 또 다른 작용제와 함께 투여되는 경우에, 상기 둘은 개별적으로 또는 동시에 투여될 수 있다.

[0412] 또한, 샘플 및 대조군 샘플을 인간 IL2 또는 IL2Rα에 특이적으로 결합하는 융합 단백질 또는 모노클로날 항체, 예를 들어 인간 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 부분과, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 인간 IL2Rα 사이에 복합체의 형성을 가능하게 하는 조건 하에 접촉시키는 것을 포함하는, 샘플에서 인간 IL2 또는 인간 IL2Rα의 존재를 검출하거나 또는 인간 IL2 항원의 양을 측정하는 방법이 포괄된다. 이어서, 복합체의 형성이 검출되며, 여기서 대조군 샘플과 비교하여 샘플 사이의 복합체 형성에서의 차이는 샘플 중 인간 IL2 또는 IL2Rα의 존재를 나타낸다. 더욱이, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 면역친화성 정제를 통해 인간 IL2 또는 IL2Rα를 정제하는 데 사용될 수 있다.

[0413] 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 항체가 T 세포 반응, 예를 들어 항원-특이적 T 세포 반응을, 예컨대 IL2 또는 IL2Rα의 음성 효과를 억제하는 것에 의해 자극 또는 공동-자극하는 능력을 고려하여, 항원-특이적 T 세포 반응, 예를 들어 항종양 T 세포 반응을 자극, 증진 또는 상향조절하기 위해 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 시험관내 및 생체내 사용하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, CD3 자극이 또한 제공되며 (예를 들어, 막 CD3을 발현하는 세포와의 공동인큐베이션에 의함), 이 자극은 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질에 의한 자극과 동시에, 그 전에 또는 그 후에 제공될 수 있다. 예를 들어, 항원-특이적 T 세포를 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질, 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시켜, 항원-특이적 T 세포 반응이 자극되도록 하는 것을 포함하는, 항원-특이적 T 세포 반응을 자극하는 방법이 본원에 제공된다.

[0414] 항원-특이적 T 세포 반응의 임의의 적합한 지시자가 항원-특이적 T 세포 반응을 측정하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 적합한 지시자의 비제한적 예는 항체의 존재 하의 증가된 T 세포 증식 및/또는 항체의 존재 하의 증가된 시토카인 생산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항원-특이적 T 세포에 의해 인터류킨-2 및/또는 인터페론-γ 생산이 자극된다.

[0415] 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질에 의해 증진 또는 공동-자극될 수 있는 T 세포는 $CD4^+$ T 세포 및 $CD8^+$ T 세포를 포함한다. T 세포는 Teff 세포, 예를 들어 $CD4^+$ Teff 세포, $CD8^+$ Teff 세포, T헬퍼 (Th) 세포 (예를 들어, Th1 세포) 및 T 세포독성 (Tc) 세포일 수 있다.

[0416] 추가로, 대상체에게 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하여 대상체에서 면역 반응 (예를 들어, 항원-특이적 T 세포 반응)이 자극되도록 하는 것을 포함하는, 대상체에서 면역 반응 (예를 들어, 항원-특이적 T 세포 반응)을 자극하는 방법이 포괄된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 종양-보유 대상체이고, 종양에 대한 면역 반응이 자극된다. 종양은 고형 종양 또는 액상 종양, 예를 들어 혈액 악성종양일 수 있다. 일부 실시양태에서, 종양은 면역원성 종양이다. 일부 실시양태에서, 종양은 비-면역원성이다. 일부 실시양태에서, 종양은 PD-L1 양성이다. 일부 실시양태에서, 종양은 PD-L1 음성이다. 대상체는 또한 바이러스-보유 대상체일 수 있고, 바이러스에 대한 면역 반응이 자극된다.

[0417] 대상체에게 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하여 대상체에서 종양의 성장이 억제되도록 하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법이 추가로 제공된다. 대상체에게 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하여 대상체에서 바이러스 감염이 치료되도록 하는 것을 포함하는, 대상체에서 바이러스 감염을 치료하는 방법이 또한 제공된다.

[0418] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 보조 요법으로서 대상체에게 제공된다. 암을 갖는 대상체를 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질로 치료하는 것은 현행 표준 관리에 비해 연장된 생존, 예를 들어 장기간 지속적인 반응; 적어도 3개월, 6개월, 9개월, 1, 2, 3, 4, 5, 10년 또는 그 초과의 장기간 생존, 또는 적어도 3개월, 6개월, 9개월, 1, 2, 3, 4, 5 또는 10년 또는 그 초과의 무재발 생존으로 이어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 암을 갖는 대상체를 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질로 치료하는 것은 암의 재발을 방지하거나 또는 암의 재발을, 예를 들어 3개월, 6개월, 9개월, 1, 2, 3, 4, 5 또는 10년 또는 그 초과만큼 지연시킨다. IL2/IL2Rα 융합 단백질 치료는 1차, 2차 또는 3차 치료로서 사용될 수 있다.

[0419] 암을 갖는 대상체를 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질로 치료하는 것은, 예를 들어 안정 질환, 부분 반응,

증가된 전체 생존, 증가된 무질환 생존 또는 증진된 무진행 생존을 발생시킬 수 있다.

[0420] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 유의하게 독성이 아니다. 예를 들어, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은, 예를 들어 임상 시험에서 결정 시 인간의 기관에 대해, 예를 들어 간, 신장, 뇌, 폐 및 심장 중 하나 이상에 대해 유의하게 독성이 아니다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 바람직하지 않은 면역 반응, 예를 들어 자가면역 또는 염증을 유의하게 촉발시키지 않는다.

[0421] 일부 실시양태에서, 대상체를 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질로 치료하는 것은 대상체의 면역계가 이후 대상체 자신을 공격하거나 (예를 들어, 자가면역 반응) 또는 예를 들어 아나필락시스를 발생시키는 정도로 면역계의 과다자극을 발생시키지 않는다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 아나필락시스를 유발하지 않는다.

[0422] 일부 실시양태에서, 대상체를 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질로 치료하는 것은 유의한 염증 반응, 예를 들어 면역-매개 폐장염, 면역-매개 결장염, 면역-매개 간염, 면역-매개 신염 또는 신장 기능장애, 면역-매개 뇌하수체염, 면역-매개 갑상선기능저하증 및 갑상선기능항진증, 또는 다른 면역-매개 유해 반응을 유발하지 않는다. 일부 실시양태에서, 대상체를 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질로 치료하는 것은 유의한 심장 장애, 예를 들어 심실성 부정맥; 안장애, 예를 들어 홍채모양체염; 주입-관련 반응; 증가된 아밀라제, 증가된 리파제; 신경계 장애, 예를 들어 어지럼증, 말초 및 감각 신경병증; 피부 및 피하 조직 장애, 예를 들어 발진, 소양증, 박탈성 피부염, 다형성 홍반, 백반증 또는 건선; 호흡기, 흉부 및 종격 장애, 예를 들어 기침; 피로; 오심; 식욕 감소; 변비; 관절통; 또는 설사를 유발하지 않는다.

[0423] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 또 다른 암 요법, 예컨대 면역계를 자극하는 화합물 (예를 들어, 면역-종양학 작용제), 예를 들어 본원에 기재된 화합물 또는 본원에 기재된 표적을 조정하는 화합물과 조합되어 상승작용적 항종양 효과를 제공한다.

[0424] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 국소, 표피 점막, 비강내, 경구, 질, 직장, 설하, 국소, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 또는 흉골내 경로를 통해 투여된다.

[0425] 대상체에서 면역 반응을 증가시키기 위한 다양한 방법이 제공된다. 이러한 방법은 면역 반응의 증가를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하는 것을 포함한다. 따라서, 구체적 실시양태에서, 보다 높은 용량의 IL2의 일시적 적용은 부스팅된 면역 이펙터 및 기억 반응에 사용된다.

[0426] 대상체에서 면역 반응을 감소시키기 위한 다양한 방법이 제공된다. 이러한 방법은 면역 반응의 감소를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하는 것을 포함한다. 원치 않는 면역 반응을 억제하기 위해 Treg의 억제력을 활용하는 데 많은 관심이 있다. 마우스 및 인간의 데이터는 저용량의 IL2를 사용하여 IL2R 신호전달을 증진시키는 것이 Treg을 선택적으로 부스팅하고 면역 관용성 메카니즘을 증진시킨다는 것을 보여준다. 본원에 제공된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 Treg을 보다 잠재적으로 증진시키는 IL2의 신규하고 개선된 형태를 나타낸다. 따라서, IL2/IL2Rα 융합 단백질은 자가면역 질환, 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부 반응 및 자가 반응성을 억제하는 것이 목표인 다른 상태를 갖는 환자에게 투여될 수 있다.

[0427] 본원에 기재된 이들 및 다른 방법은 하기에 추가로 상세하게 논의된다.

[0428] 7.7.2.1 암

[0429] 일부 실시양태에서, 암을 치료하는 방법이 본원에 개시된다. IL2/IL2Rα 융합 단백질에 의한 IL2Rα의 억제는 암을 갖는 환자에서 암성 세포에 대한 면역 반응을 증진시킬 수 있다. 암을 갖는 대상체에게 본원에 기재된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하여 대상체가 치료되도록 하는, 예를 들어 암성 종양의 성장이 억제 또는 감소되고/거나 종양이 퇴행하고/거나 연장된 생존이 달성되도록 하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. IL2/IL2Rα 융합 단백질을 단독으로 사용하여 암성 종양의 성장을 억제할 수 있다. 대안적으로, IL2/IL2Rα 융합 단백질을 또 다른 작용제, 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 또 다른 면역원성 작용제, 표준 암 치료, 또는 또 다른 항체와 함께 사용할 수 있다.

[0430] 따라서, 대상체에게 치료 유효량의 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서, 예를 들어, 종양 세포의 성장을 억제함으로써, 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 본 개시내용의 항체를 사용하여 성장이 억제될 수 있는 암은 전형적으로 면역요법에 대해 반응성인 암 및 전형적으로 면역요법에 대해 반응성이 아닌 암을 포함한다. 암은 고형 종양 또는 혈액 악성종양 (액상 종양)을 갖는 암일 수 있다.

일부 실시양태에서, 암은 방광암, 유방암, 자궁암, 자궁내막 암종, 난소암, 결장직장암, 결장암, 두경부암, 폐암, 위암, 배세포암, 골암, 편평 세포암, 피부암, 중추 신경계의 신생물, 림프종, 백혈병, 육종, 바이러스-관련 암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 위장암, 호지킨 또는 비-호지킨 림프종, 췌장암, 교모세포종, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 골수종, 타액선 암종, 신장암, 기저 세포 암종, 흑색종, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 고환암, 식도암 또는 두경부암 및 그의 임의의 조합이다.

[0431] 치료를 위한 암의 다른 비제한적 예는 편평 세포 암종, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 편평 비소세포 폐암(NSCLC), 비편평 NSCLC, 신경교종, 위장암, 신암 (예를 들어, 투명 세포 암종), 난소암, 간암, 결장직장암, 자궁내막암, 신장암 (예를 들어, 신세포 암종 (RCC)), 전립선암 (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 갑상선암, 신경모세포종, 췌장암, 교모세포종 (다형성 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장 암종, 및 두경부암 (또는 암종), 위암, 배세포 종양, 소아 육종, 부비동비강 자연 킬러, 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종, 예컨대 피부 또는 안내 악성 흑색종), 골암, 피부암, 자궁암, 항문부암, 고환암, 난관의 암종, 자궁내막의 암종, 자궁경부의 암종, 질의 암종, 외음부의 암종, 식도의 암, 소장의 암, 내분비계암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 음경암, 소아기 고형 종양, 요관의 암, 신우의 암종, 중추 신경계 (CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척수축 종양, 뇌암, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피양암, 편평 세포암, T-세포 림프종, 환경적으로 유도된 암 (석면에 의해 유도된 것 포함), 바이러스-관련 암 또는 바이러스 기원의 암 (예를 들어, 인간 유두종 바이러스 (HPV-관련 또는 -기원 종양)), 및 2종의 주요 혈액 세포 계통, 즉 골수 세포주 (과립구, 적혈구, 혈소판, 대식세포 및 비만 세포를 생산함) 또는 림프성 세포주 (B, T, NK 및 형질 세포를 생산함)로부터 유래된 혈액 악성종양, 예컨대 모든 유형의 백혈병, 림프종, 및 골수종, 예를 들어, 급성, 만성, 림프구성 및/또는 골수성 백혈병, 예컨대 급성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 만성 골수성 백혈병 (CML), 미분화 AML (MO), 골수모구성 백혈병 (M1), 골수모구성 백혈병 (M2; 세포 성숙 동반), 전골수구성 백혈병 (M3 또는 M3 변이체 [M3V]), 골수단핵구성 백혈병 (M4 또는 호산구증가증을 동반한 M4 변이체 [M4E]), 단핵구성 백혈병 (M5), 적백혈병 (M6), 거핵모구성 백혈병 (M7), 고립성 과립구성 육종, 및 녹색종; 림프종, 예컨대 호지킨 림프종 (HL), 비-호지킨 림프종 (NHL), B 세포 혈액 악성종양, 예를 들어, B-세포 림프종, T-세포 림프종, 림프형질세포양 림프종, 단핵구성 B-세포 림프종, 점막-연관 림프성 조직 (MALT) 림프종, 역형성 (예를 들어, Ki 1+) 대세포 림프종, 성인 T-세포 림프종/백혈병, 외투 세포 림프종, 혈관 면역모세포성 T-세포 림프종, 혈관중심성 림프종, 장 T-세포 림프종, 원발성 종격 B-세포 림프종, 전구체 T-림프모구성 림프종, T-림프모구성; 및 림프종/백혈병 (T-Lbly/T-ALL), 말초 T-세포 림프종, 림프모구성 림프종, 이식후 림프증식성 장애, 진성 조직구성 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종, B 세포 림프종, 림프모구성 림프종 (LBL), 림프 계통의 조혈 종양, 급성 림프모구성 백혈병, 미만성 대 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 여포성 림프종, 미만성 조직구성 림프종 (DHL), 면역모세포성 대세포 림프종, 전구체 B-림프모구성 림프종, 피부 T-세포 림프종 (CTLC) (또한 균상 식육종 또는 세자리 증후군으로 불림), 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 동반한 림프형질세포양 림프종 (LPL); 골수종, 예컨대 IgG 골수종, 경쇄 골수종, 비분비성 골수종, 무증상 골수종 (또한 무통성 골수종으로 불림), 고립 형질세포종, 및 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발상 세포 림프종; 골수 계통의 조혈 종양, 중간엽 기원의 종양 (섬유육종 및 횡문근육종 포함); 정상피종, 기형암종, 중추 및 말초 신경의 종양 (성상세포종, 슈반세포종 포함); 중간엽 기원의 종양 (섬유육종, 횡문근육종, 및 골육종 포함); 및 다른 종양, 예를 들어 흑색종, 색소성 건피증, 각화극세포종, 정상피종, 갑상선 여포암 및 기형암종, 림프 계통의 조혈 종양, 예를 들어 T-세포 및 B-세포 종양 (T-세포 장애, 예컨대 T-전림프구성 백혈병 (T-PLL) (소세포 및 대뇌모양의 세포 유형 포함)을 포함하나 이에 제한되지는 않음); T-세포 유형의 거대 과립 림프구 백혈병 (LGL); a/d T-NHL 간비장 림프종; 말초/흉선후 T 세포 림프종 (다형성 및 면역모세포성 하위유형); 혈관중심성 (비강) T-세포 림프종; 두경부의 암, 신암, 직장암, 갑상선암; 급성 골수성 림프종, 뿐만 아니라 상기 암들의 임의의 조합을 포함한다. 본원에 기재된 방법은 또한 전이성 암, 절제불가능한, 불응성 암 (예를 들어, 이전 면역요법, 예를 들어 차단 CTLA-4 또는 PD-1 항체에 의한 것에 불응성인 암), 및/또는 재발성 암의 치료를 위해 사용될 수 있다.

[0432] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 선행 치료, 예를 들어 면역-종양학 또는 면역요법 약물에 의한 선행 치료에 대해 불충분한 반응을 나타냈거나 또는 진행된 암을 갖는 환자, 또는 본질적으로 불응성 또는 저항성 (예를 들어, PD-1 경로 길항제에 대해 불응성)이거나 또는 저항성 또는 불응성 상태가 후천적인, 불응성 또는 저항성인 암을 갖는 환자에게 투여된다. 예를 들어, 제1 요법에 대해 반응성이 아니거나 충분히 반응성이 아닌 대상체 또는 치료, 예를 들어 항-PD-1 치료 후에 질환 진행이 관찰되는 대상체는 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 단독 또는 또 다른 요법과의 (예를 들어, 항-PD-1 요법과의) 조합의 투여에 의해 치료될 수 있다.

[0433] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 면역-종양학 작용제, 예를 들어 PD-1 경로 길항제를 이전에 받지 (즉, 그에 의해 치료되지) 않은 환자에게 투여된다.

[0434] 암을 갖는 대상체를 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질로 치료하는 방법은 IL2 또는 IL2Rα를 발현하는 암 세포를 갖는 대상체에게 치료 유효량의 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 환자에서 IL2 또는 IL2Rα의 수준을 결정하는 단계를 포함하고, 대상체가 IL2 또는 IL2Rα에 대해 양성이면, 대상체는 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 사용한 치료에 반응할 가능성이 있는 것인, 대상체가 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질에 의한 치료에 반응할 것인지 여부를 예측하는 방법이 본원에 제공된다.

[0435] 일부 실시양태에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법은 먼저 대상체가 PD-L1 또는 PD-1 양성인지, 예를 들어 PD-L1 또는 PD-1을 발현하는 종양 세포 또는 TIL을 갖는지 여부를 결정하고, 대상체가 PD-L1 또는 PD-1 양성 암 또는 TIL 세포를 갖는다면, 대상체에게 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)를 투여하는 것을 포함한다. 암을 갖는 대상체를 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)로 치료하는 방법은 PD-L1 또는 PD-1을 발현하는 암 세포 또는 TIL 세포를 갖는 대상체에게 치료 유효량의 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또한 환자의 암 또는 TIL 세포에서 PD-L1 또는 PD-1의 수준을 결정하는 것을 포함하고, 대상체의 암 또는 TIL 세포가 PD-L1 또는 PD-1 양성이면, 대상체는 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)에 의한 치료에 반응할 가능성이 있는 것인, 대상체가 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)에 의한 치료에 반응할 것인지 여부를 예측하는 방법이 본원에 제공된다.

[0436] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 표준 관리 치료와 함께 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 유지 요법, 예를 들어, 종양의 발생 또는 재발을 방지하도록 의도되는 요법으로서 투여된다.

[0437] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 또 다른 치료, 예를 들어, 방사선, 수술 또는 화학요법과 함께 투여된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 미세전이가 존재할 수 있는 위험이 있을 때 및/또는 재발의 위험을 감소시키기 위해 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 사용하는 보조 요법이 투여된다.

[0438] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 단독요법으로서, 또는 유일한 면역 자극 요법으로서 투여된다. IL2Rα에 대한 항체는 또한 면역원성 작용제, 예컨대 암성 세포, 정제된 종양 항원 (재조합 단백질, 펩티드, 및 탄수화물 분자 포함), 세포, 및 면역 자극 시토카인을 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포 (He et al.,(2004) J. Immunol. 173:4919-28)와 조합될 수 있다. 사용될 수 있는 종양 백신의 비제한적 예는 흑색종 항원의 펩티드, 예컨대 gp100, MAGE 항원, Trp-2, MART1 및/또는 티로시나제의 펩티드, 또는 시토카인 GM-CSF를 발현하도록 형질감염된 종양 세포를 포함한다 (하기에 추가로 논의됨).

[0439] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 백신접종 프로토콜과 조합된다. 종양에 대한 백신접종을 위한 많은 실험적 전략이 고안되었다 (문헌 [Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738] 참조; 또한 문헌 [Restifo, N. 및 Sznol, M., Cancer Vaccines, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita et al. (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, Fifth Edition] 참조). 이들 전략 중 하나에서, 백신은 자가 또는 동종 종양 세포를 사용하여 제조된다. 이들 세포성 백신은 종양 세포가 GM-CSF를 발현하도록 형질도입될 때 가장 유효한 것으로 밝혀졌다. GM-CSF는 종양 백신접종을 위한 항원 제시의 강력한 활성화제인 것으로 밝혀졌다 (Dranoff et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 90: 3539-43).

[0440] 다양한 종양에서의 유전자 발현 및 대규모 유전자 발현 패턴에 관한 연구는 소위 종양 특이적 항원의 정의를 도출하였다 (Rosenberg, S A (1999) Immunity 10: 281-7). 다수의 경우에서, 이들 종양 특이적 항원은 종양 및 종양이 발생한 세포에서 발현되는 분화 항원, 예를 들어 멜라닌세포 항원 gp100, MAGE 항원, 및 Trp-2이다. 보다 중요하게는, 이들 항원 중 다수는 숙주에서 발견되는 종양 특이적 T 세포의 표적인 것으로 볼 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 이들 단백질에 대한 면역 반응을 생성시키기 위해 종양에서 발현되는 재조합 단백질 및/또는 펩티드의 수집물과 함께 사용될 수 있다. 이들 단백질은 자기 항원으로서 면역계에 의해 정상적으로 인식되고, 따라서 이들에 대해 관용성이다. 종양 항원은 염색체의 텔로미어의 합성에 필요하고 인간 암의 85% 초과에서, 그리고 제한된 수의 체성 조직에서만 발현되는 단백질 텔로머라제

를 포함할 수 있다 (Kim et al. (1994) Science 266: 2011-2013). 종양 항원은 또한 단백질 서열을 변경시키거나 또는 2개의 비관련 서열 사이의 융합 단백질 (즉, 필라델피아 염색체 내의 bcr-abl) 또는 B 세포 종양으로부터의 이디오타입을 생성하는 체세포 돌연변이 때문에 암 세포에서 발현된 "신생-항원"일 수 있다.

[0441] 다른 종양 백신은 인간 암과 관련된 바이러스, 예컨대 인간 유두종 바이러스 (HPV), 간염 바이러스 (HBV 및 HCV) 및 카포시 헤르페스 육종 바이러스 (KHSV) 유래의 단백질을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 융합 단백질과 함께 사용될 수 있는 또 다른 형태의 종양 특이적 항원은 종양 조직 자체로부터 단리된 정제된 열 쇼크 단백질 (HSP)이다. 이들 열 쇼크 단백질은 종양 세포 유래의 단백질의 단편을 함유하고, 이들 HSP는 종양 면역을 도출하기 위해 항원 제시 세포에 전달하는 데 고도로 효율적이다 (Suot & Srivastava (1995) Science 269: 1585-1588; Tamura et al. (1997) Science 278: 117-120).

[0442] 수지상 세포 (DC)는 항원-특이적 반응을 프라이밍하는 데 사용될 수 있는 강력한 항원 제시 세포이다. DC는 생체외 생산되고, 다양한 단백질 및 펩티드 항원뿐만 아니라 종양 세포 추출물로 로딩될 수 있다 (Nestle et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332). DC는 또한, 이들 종양 항원을 또한 발현하는 유전적 수단에 의해 형질도입될 수 있다. DC는 또한 면역화 목적을 위해 종양 세포에 직접 융합되었다 (Kugler et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336). 백신접종의 방법으로서, DC 면역화는 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 효과적으로 조합되어 보다 강력한 항종양 반응을 활성화시킬 수 있다.

[0443] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 사용한 암의 치료 방법은 표준 암 치료 (예를 들어, 수술, 방사선 및 화학요법)와 조합된다. 이러한 조합의 예는 흑색종의 치료를 위한 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 조합된 항-TIM3 항체이다. 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 및 화학요법의 조합 사용을 뒷받침하는 과학적 근거는, 대부분의 화학요법 화합물의 세포독성 작용의 결과인 세포 사멸이 항원 제시 경로에서 종양 항원의 수준을 증가시켜야 한다는 것이다. 세포 사멸을 통해 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 상승작용을 생성할 수 있는 다른 조합 요법은 방사선, 수술 및 호르몬 박탈이다. 각각의 이들 프로토콜은 숙주에서 종양 항원의 공급원을 생성한다. 혈관신생 억제제가 또한 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 조합될 수 있다. 혈관신생의 억제는 숙주 항원 제시 경로 내로 종양 항원을 공급할 수 있는 종양 세포 사멸로 이어진다.

[0444] 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 또한, Fcα 또는 Fcγ 수용체-발현 이펙터 세포를 종양 세포로 표적화하는 이중특이적 항체와 조합되어 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,922,845 및 5,837,243 참조). 이중특이적 항체가 2종의 별개의 항원을 표적화하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어 항-Fc 수용체/항종양 항원 (예를 들어, Her-2/neu) 이중특이적 항체는 대식세포를 종양 부위로 표적화하는 데 사용되었다. 이 표적화는 종양 특이적 반응을 보다 효과적으로 활성화시킬 수 있다. 대안적으로, 종양 항원 및 수지상 세포 특이적 세포 표면 마커에 결합하는 이중특이적 항체를 사용함으로써 항원이 DC에 직접적으로 전달될 수 있다.

[0445] 종양은 매우 다양한 메카니즘에 의해 숙주 면역 감시를 피한다. 이들 메카니즘 중 다수는, 종양에 의해 발현되고 면역억제성인 단백질의 불활성화에 의해 극복될 수 있다. 이들은 특히 TGF-β (Kehrl et al. (1986) J. Exp. Med. 163: 1037-1050), IL-10 (Howard & O'Garra (1992) Immunology Today 13: 198-200), 및 Fas 리간드 (Hahne et al. (1996) Science 274: 1363-1365)를 포함한다. 각각의 이들 개체에 대한 항체는 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 조합되어 사용되어 면역억제제의 효과를 상쇄시키고 숙주에 의한 종양 면역 반응을 유리하게 할 수 있다.

[0446] 숙주 면역 반응성을 활성화시키는 다른 항체를 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 조합하여 사용할 수 있다. 이들은 DC 기능 및 항원 제시를 활성화시키는 수지상 세포의 표면 상의 분자를 포함한다. 항-CD40 항체는 T 세포 헬퍼 활성을 효과적으로 대체할 수 있고 (Ridge et al. (1998) Nature 393: 474-478), 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 함께 사용될 수 있다. T 세포 공동자극 분자, 예컨대 CTLA-4 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,811,097), OX-40 (Weinberg et al. (2000) Immunol 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero et al. (1997) Nature Medicine 3: 682-685 (1997)), 및 ICOS (Hutloff et al. (1999) Nature 397: 262-266)에 대한 활성화 항체가 또한 증가된 수준의 T 세포 활성화를 제공할 수 있다. PD1 또는 PD-L1의 억제제가 또한 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 함께 사용될 수 있다. 다른 조합이 본원의 다른 곳에 제공된다.

[0447] 골수 이식은 현재 조혈계 기원의 다양한 종양을 치료하는 데 사용되고 있다. 이식편 대 숙주 질환은 이러한 치료의 결과이지만, 이식편 대 종양 반응으로부터 치료 이익이 수득될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 공여자 생착된 종양 특이적 T 세포의 유효성을 증가시키는 데 사용된다.

[0448] 또한 항원 특이적 T 세포의 생체외 활성화 및 확장, 및 종양에 대한 항원-특이적 T 세포를 자극하기 위한 이들 세포의 수용자 내로의 입양 전달을 수반하는 여러 실험적 치료 프로토콜이 존재한다 (Greenberg & Riddell (1999) Science 285: 546-51). 이들 방법은 또한 감염원 예컨대 CMV에 대한 T 세포 반응을 활성화시키는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질의 존재 하의 생체외 활성화는 입양 전달된 T 세포의 빈도 및 활성을 증가시킬 수 있다.

[0449] 7.7.2.2 염증성 질환 또는 자가면역 질환

[0450] 일부 실시양태에서, 염증성 질환 또는 자가면역 질환인 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에서 상기 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 개시된다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에게 치료 유효량의 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하는 것을 포함한다.

[0451] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 선행 치료에 대해 부적절한 반응을 나타냈거나 또는 진행된 염증성 질환 또는 자가면역 질환을 갖는 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 염증성 질환 또는 자가면역 질환을 위한 치료를 이전에 받은 (즉, 치료받은) 적이 없는 환자에게 투여된다.

[0452] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 염증성 질환 또는 자가면역 질환에 대한 표준 관리 치료와 함께 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 염증성 질환 또는 자가면역 질환, 예를 들어, 염증의 발생 또는 재발을 방지하도록 의도된 요법에 대한 유지 요법으로서 투여된다.

[0453] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 염증성 질환 또는 자가면역 질환의 치료를 위한 단독요법으로서, 또는 염증성 질환 또는 자가면역 질환의 치료를 위한 단독 면역 자극 요법으로서 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 염증성 질환 또는 자가면역 질환의 치료를 위한 백신접종 프로토콜과 조합된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 염증성 질환 또는 자가면역 질환의 치료에 사용되는 항체와 조합된다.

[0454] 일부 실시양태에서, 염증성 질환 또는 자가면역 질환은 제1형 당뇨병, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 복강 질환, 전신 홍반성 루푸스, 루푸스 신염, 피부 루푸스, 소아 특발성 관절염, 크론병, 궤양성 결장염 또는 전신 경화증, 이식편 대 숙주 질환, 건선, 원형 탈모증, HCV-유도된 혈관염, 쇼그렌 증후군, 천포창, 강직성 척추염, 베체트병, 베게너 육아종증, 다카야스병, 자가면역 간염, 경화성 담관염, 고우게로틴-쇼그렌 및 대식세포 활성화 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0455] 7.7.2.3 감염성 질환

[0456] 본원에 기재된 방법은 또한 특정한 독소 또는 병원체에 노출된 환자를 치료하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에게 감염성 질환인 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 치료 유효량의 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하여 감염성 질환을 치료하는 것을 포함한다.

[0457] 상기 논의된 바와 같은 종양에 대한 그의 적용과 유사하게, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 사용한 치료를 포함하는 방법은 병원체, 독소 및 자가-항원에 대한 면역 반응을 자극하기 위해 단독으로, 또는 백신과 조합하여 아주반트로서 사용된다. 상기 치료 접근법이 특히 유용할 수 있는 병원체의 예는 현재 효과적인 백신이 없는 병원체, 또는 통상적인 백신이 그에 대해 완전히 효과적이지는 못한 병원체를 포함한다. 이들은 HIV, 간염 (A형, B형, & C형), 인플루엔자, 헤르페스, 지아르디아, 말라리아, 리슈마니아, 스타필로코쿠스 아우레우스 (*Staphylococcus aureus*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0458] 본원에 기재된 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 바이러스의 일부 예는 HIV, 간염 (A형, B형, 또는 C형), 헤르페스 바이러스 (예를 들어, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II, 및 CMV, 엡스타인 바르 바이러스), 아데노바이러스, 인플루엔자 바이러스, 플라비바이러스, 에코바이러스, 리노바이러스, 콕사키 바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 볼거리 바이러스, 로타바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 파르보바이러스, 백시니아 바이러스, HTLV 바이러스, 뎅기 바이러스, 유두종바이러스, 연속종 바이러스, 폴리오바이러스, 광견병 바이러스, JC 바이러스 및 아르보바이러스성 뇌염 바이러스를 포함한다.

[0459] 본원에 기재된 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 박테리아의 일부 예는 클라미디아, 리케치아 박테리아, 미코박테리움, 스타필로코쿠스, 스트렙토코쿠스, 뉴모노코쿠스, 메닝고코쿠스 및 고노코쿠스, 클레브시

엘라, 프로테우스, 세라티아, 슈도모나스, 레지오넬라, 디프테리아, 살모넬라, 바실루스, 콜레라, 파상풍, 보툴리눔독소증, 탄저병, 흑사병, 렙토스피라증, 및 라임병 박테리아를 포함한다.

[0460] 본원에 기재된 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 진균의 일부 예는 칸디다 (알비칸스, 크루세이, 글라브라타, 트로피칼리스 등), 크립토코쿠스 네오포르만스, 아스페르길루스 (푸미가투스, 니거 등), 뮤코랄레스 속 (뮤코르, 압시디아, 리조푸스), 스포로트릭스 쉔크키이, 블라스토미세스 더마티티디스, 파라콕시디오이데스 브라실리엔시스, 콕시디오이데스 임미티스 및 히스토플라스마 캅술라툼을 포함한다.

[0461] 본원에 기재된 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 기생충의 일부 예는 엔트아메바 히스톨리티카, 발란티디움 콜라이, 네글레리아 포울렐리, 아칸트아메바 종, 지아르디아 람블리아, 크립토스포리디움 종, 뉴모시스티스 카리니이, 플라스모디움 비박스, 바베시아 미크로티, 트리파노소마 브루세이, 트리파노소마 크루지, 리슈마니아 도노바니, 톡소플라스마 곤디이 및 니포스트롱길루스 브라실리엔시스를 포함한다.

[0462] 상기 모든 방법에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 사용한 치료는 다른 형태의 면역요법, 예를 들어 본원에 기재된 것, 예컨대 시토카인 치료 (예를 들어, 인터페론, GM-CSF, G-CSF, IL2), 또는 종양 항원의 증진된 제시를 제공하는 이중특이적 항체 요법과 조합될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak (1994) Structure 2: 1121-1123] 참조).

[0463] 7.7.2.4 백신

[0464] 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 IL2/IL2Rα 융합 단백질과 관심 항원 (예를 들어, 백신)과의 공-투여에 의해 항원-특이적 면역 반응을 자극하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 대상체에서 항원에 대한 면역 반응이 증진되도록, 대상체에게 (i) 항원; 및 (ii) 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 항원에 대한 면역 반응을 증진시키는 방법이 제공된다. 항원은 예를 들어, 종양 항원, 바이러스 항원, 박테리아 항원 또는 병원체로부터의 항원일 수 있다. 이러한 항원의 비제한적인 예는 상기 섹션에서 논의된 것, 예컨대 상기 논의된 종양 항원 (또는 종양 백신), 또는 바이러스, 박테리아 또는 상기 기재된 다른 병원체로부터의 항원을 포함한다.

[0465] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질이 결합하는 에피토프를 포함하는 펩티드 또는 융합 단백질은 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질 대신에 또는 그에 추가로 백신으로서 사용된다.

[0466] 본원에 기재된 항체 조성물 (예를 들어, 인간 모노클로날 항체, 다중특이적 및 이중특이적 분자 및 면역접합체)의 적합한 생체내 및 시험관내 투여 경로는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고 통상의 기술자에 의해 선택될 수 있다. 예를 들어, 항체 조성물은 주사에 의해 (예를 들어, 정맥내 또는 피하) 투여될 수 있다. 사용되는 분자의 적합한 투여량은 대상체의 연령 및 체중 및 항체 조성물의 농도 및/또는 제제에 좌우될 것이다.

[0467] 7.7.2.5 제2 작용제와의 공-투여

[0468] 앞서 기재된 바와 같이, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 1종 이상의 다른 치료제, 예를 들어 세포독성제, 방사성독성제 또는 면역억제제와 공-투여될 수 있다. 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 작용제에 연결될 수 있거나 (면역-복합체로서), 또는 작용제와 개별적으로 투여될 수 있다. 후자의 경우에 (개별 투여), 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 작용제 이전, 이후 또는 그와 동시에 투여될 수 있거나, 또는 다른 공지된 요법, 예를 들어 항암 요법, 예를 들어 방사선조사와 공동-투여될 수 있다. 이러한 치료제는 특히 단독으로는 환자에게 독성 또는 준독성인 수준에서만 효과적인 항신생물제, 예컨대 독소루비신 (아드리아마이신), 시스플라틴 블레오마이신 술페이트, 카르무스틴, 클로람부실, 다카르바진 및 시클로포스파미드 히드록시우레아를 포함한다. 시스플라틴은 100 mg/ml 용량으로 4주마다 1회 정맥내로 투여되고, 아드리아마이신은 60-75 mg/ml 용량으로 21일마다 1회 정맥내로 투여된다. 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 화학요법제와 공-투여하는 것은 인간 종양 세포에 세포독성 효과를 일으키는 상이한 메카니즘들을 통해 작용하는 2 종의 항암제를 제공한다. 이러한 공-투여는 항체에 비반응성이 되게 하는 종양 세포의 항원성의 변화, 또는 약물에 대한 내성의 발생으로 인한 문제를 해결할 수 있다.

[0469] 본원에는 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질이 면역 반응을 자극하여 대상체에서 면역 반응을 추가로 증진, 자극 또는 상향조절하는 데 효과적인, 1종 이상의 추가의 작용제 (제2 치료제), 예를 들어 소분자 약물, 항체 또는 그의 항원 결합 부분과 공-투여하는 조합 요법의 방법이 제공된다.

[0470] 일반적으로, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 면역 세포, 예컨대 T 세포 상의 (i) 자극 (예를 들어, 공동-자극) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 효능제 및/또는 (ii) 억제 신호 또는 분자 (예를 들어, 수용

체 또는 리간드)의 길항제와 조합될 수 있고, 이는 둘 다 면역 반응, 예컨대 항원-특이적 T 세포 반응의 증폭을 발생시킨다. 일부 측면에서, 면역-종양학 작용제는 세포, 예를 들어 T 세포 활성화를 억제하는 것 또는 선천성 면역에 수반되는 것, 예를 들어 NK 세포 상의 (i) 자극 (공동-자극 포함) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 효능제 또는 (ii) 억제 (공동-억제 포함) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 길항제이고, 여기서 면역-종양학 작용제는 선천성 면역을 증진시킨다. 이러한 면역-종양학 작용제는 종종 면역 체크포인트 조절제, 예를 들어 면역 체크포인트 억제제 또는 면역 체크포인트 자극제로 지칭된다.

[0471] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 이뮤노글로불린 슈퍼 패밀리 (IgSF)의 구성원인 자극 또는 억제 분자를 표적화하는 작용제와 함께 투여된다. 예를 들어, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 면역 반응을 증가시키기 위해 IgSF 패밀리의 구성원을 표적화하는 작용제와 함께 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA), 및 B7-H6을 포함하는 막-결합된 리간드의 B7 패밀리의 구성원을 표적화하는 (또는 이에 특이적으로 결합하는) 작용제 또는 B7 패밀리 구성원에 특이적으로 결합하는 공동-자극 또는 공동-억제 수용체 또는 리간드와 함께 투여될 수 있다.

[0472] 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 또한 분자 (리간드 또는 수용체)의 TNF 및 TNFR 패밀리의 구성원, 예컨대 CD40 및 CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137, TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn 14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LTpR, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDA1, EDA2, TNFR1, 림프독소 a/TNFp, TNFR2, TNFa, LTpR, 림프독소 a 1β2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, 및 NGFR을 표적화하는 작용제와 함께 투여될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Tansey (2009) *Drug Discovery Today* 00:1] 참조).

[0473] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 IL2/IL2Rα 융합 단백질은 항-PD-1 항체를 포함하는 작용제와 함께 투여된다. 항-PD-1 항체는 PD-1에 결합하고 PD-1과 PD-L1의 상호작용을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 니볼루맙을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 펨브롤리주맙을 포함한다.

[0474] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-PD-L1 항체를 포함한다. 항-PD-L1 항체는 PD-L1에 결합하고 PD-1과 PD-L1의 상호작용을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 아테졸리주맙을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 두르발루맙을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 아벨루맙을 포함한다.

[0475] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 항-CTLA-4 항체는 CTLA-4에 결합하고 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 항-CTLA-4 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 트레멜리무맙을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 이필리무맙을 포함한다.

[0476] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-LAG3 항체를 포함한다. 항-LAG3 항체는 LAG-3에 결합하고 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-LAG3 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 항-LAG3 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 25F7을 포함한다.

[0477] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-CD137 항체를 포함한다. 항-CD137 항체는 CD137에 결합하고 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 항-CD137 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 우렐루맙을 포함한다.

[0478] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-KIR 항체를 포함한다. 항-KIR 항체는 KIR에 결합하고 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-KIR 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 항-KIR 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 리릴루맙을 포함한다.

[0479] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-GITR 항체를 포함한다. 항-GITR 항체는 GITR에 결합하고 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-GITR 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 항-GITR 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 MK4166을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 TRX518을 포함한다.

[0480] 다른 실시양태에서, 제2 요법은 항-TIM3 항체를 투여하는 것을 포함한다. 항-TIM3 항체는 TIM3에 결합하고 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-TIM3 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의

의 항-TIM3 항체이다.

[0481] 특정 실시양태에서, 제2 요법은 화학요법제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 화학요법제는 프로테아솜 억제제, 면역조정 약물 (IMiD), Bet 억제제 및 그의 임의의 조합으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 보르테조밉, 익사조밉, 카르필조밉, 오프로조밉 및 마리조밉으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 보르테조밉을 포함한다.

[0482] 일부 실시양태에서, 제2 요법은 방사선요법을 포함한다. 관련 기술분야에 공지된 임의의 방사선요법이 제2 요법으로서 사용될 수 있다.

[0483] 일부 실시양태에서, 제2 요법은 선천성 면역 세포를 활성화하는 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 선천성 면역 세포를 활성화하는 작용제는 NLRP3 효능제를 포함한다. 일부 실시양태에서, NLRP3 효능제는 요산일나트륨 1수화물 (MSU) 및/또는 백신 보조제 명반을 포함한다. 일부 실시양태에서, 선천성 면역 세포를 활성화하는 작용제는 톨 유사 수용체 7 (TLR7) 효능제이다. 일부 실시양태에서, TLR7 효능제는 이미퀴모드 (R837), GS-9620 (문헌 [Tsai et al., J. Virology doi:10.1128/JVI.02166-16 (Feb. 8, 2017)] 참조), ORN R-2336 (밀테닐 바이오텍(Miltenyl Biotec)) 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0484] 일부 실시양태에서, 제2 요법은 자연 킬러 (NK) 세포, $CD8^+$ T 세포 또는 둘 다의 생존을 증진시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다.

[0485] 특정 실시양태에서, 제2 요법은 독소루비신 (아드리아마이신®), 시스플라틴, 카르보플라틴, 블레오마이신 술페이트, 카르무스틴, 클로람부실 (류케란®), 시클로포스파미드 (시톡산(CYTOXAN)®; 네오사르(NEOSAR)®), 레날리도미드 (레블리미드(REVLIMID)®), 보르테조밉 (벨케이드(VELCADE)®), 덱사메타손, 미톡산트론, 에토포시드, 시타라빈, 벤다무스틴 (트레안다(TREANDA)®), 리툭시맙 (리툭산(RITUXAN)®), 이포스파미드, 빈크리스틴 (온코빈(ONCOVIN)®), 플루다라빈 (플루다라(FLUDARA)®), 탈리도미드 (탈로미드(THALOMID)®), 알렘투주맙 (캄파트(CAMPATH)®), 오파투무맙 (아르제라(ARZERRA)®), 에베롤리무스 (아피니토르(AFINITOR)®, ZORTRESS®), 카르필조밉 (키프롤리스(KYPROLIS)™)과 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 작용제를 투여하는 것을 포함한다.

[0486] 상기 단백질 중 하나를 조정하고, 암을 치료하기 위해, 본원에 개시된 융합 단백질에 조합할 수 있는 예시적인 작용제는 하기를 포함한다: 예르보이(YERVOY)® (이필리무맙) 또는 트레멜리무맙 (CTLA-4에 대한 것), 갈릭시맙 (B7.1에 대한 것), BMS-936558 (PD-1에 대한 것), MK-3475 (PD-1에 대한 것), 아테졸리주맙 (테센트릭(TECENTRIQ)®), AMP224 (B7DC에 대한 것), BMS-936559 (B7-H1에 대한 것), MPDL3280A (B7-H1에 대한 것), MEDI-570 (ICOS에 대한 것), AMG557 (B7H2에 대한 것), MGA271 (B7H3에 대한 것), IMP321 (LAG-3에 대한 것), BMS-663513 (CD137에 대한 것), PF-05082566 (CD137에 대한 것), CDX-1127 (CD27에 대한 것), 항-OX40 (프로비던스 헬스 서비시즈), huMAbOX40L (OX40L에 대한 것), 아타시셉트 (TACI에 대한 것), CP-870893 (CD40에 대한 것), 루카투무맙 (CD40에 대한 것), 다세투주맙 (CD40에 대한 것), 무로모납-CD3 (CD3에 대한 것), 항-GITR 항체 MK4166, TRX518, Medi1873, INBRX-110, LK2-145, GWN-323, GITRL-Fc, 또는 그의 임의의 조합.

[0487] 질환 또는 장애의 치료를 위해 융합 단백질과 조합될 수 있는 다른 분자는 NK 세포 상의 억제 수용체의 길항제 또는 NK 세포 상의 활성화 수용체의 효능제를 포함한다. 예를 들어, 본원에 개시된 융합 단백질은 KIR의 길항제 (예를 들어, 리릴루맙)와 조합될 수 있다.

[0488] T 세포 활성화는 또한 가용성 시토카인에 의해 조절되고, 본원에 개시된 융합 단백질은 T 세포 활성화를 억제하는 시토카인의 길항제 또는 T 세포 활성화를 자극하는 시토카인의 효능제와 함께, 예를 들어 암을 갖는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0489] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 면역 반응을 자극하기 위해, 예를 들어 증식성 질환, 예컨대 암을 치료하기 위해, (i) T 세포 활성화를 억제하는 IgSF 패밀리 또는 B7 패밀리 또는 TNF 패밀리의 단백질의 길항제 (또는 억제제 또는 차단제) 또는 T 세포 활성화를 억제하는 시토카인 (예를 들어, IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF; "면역억제 시토카인")의 길항제 및/또는 (ii) T 세포 활성화를 자극하는 IgSF 패밀리, B7 패밀리 또는 TNF 패밀리의 자극 수용체의, 또는 시토카인의 효능제와 조합되어 사용될 수 있다.

[0490] 조합 요법을 위한 다른 작용제는 CSF-1R 길항제, 예컨대 RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) 또는 FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357)을 포함한 CSF-1R 길항제 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 대식세포 또는 단핵구를 억제 또는 고갈시키는 작용제를

포함한다.

[0491] 본 개시내용의 융합 단백질은 또한 TGF-β 신호전달을 억제하는 작용제와 함께 투여될 수 있다.

[0492] 본원에 개시된 융합 단백질과 조합될 수 있는 추가의 작용제는 종양 항원 제시를 증진시키는 작용제, 예를 들어 수지상 세포 백신, GM-CSF 분비 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오티드 및 이미퀴모드, 또는 종양 세포의 면역원성을 증진시키는 요법 (예를 들어, 안트라시클린)을 포함한다.

[0493] 본원에 개시된 융합 단백질과 조합될 수 있는 또 다른 요법은 대사 효소, 예컨대 인돌아민 디옥시게나제 (IDO), 디옥시게나제, 아르기나제, 또는 산화질소 신테타제를 억제하는 요법이다.

[0494] 본원에 개시된 융합 단백질과 함께 사용될 수 있는 작용제의 또 다른 부류는 아데노신의 형성을 억제하는 작용제, 예를 들어 CD73 억제제, 또는 아데노신 A2A 수용체를 억제하는 작용제를 포함한다.

[0495] 질환 또는 장애, 예를 들어, 암을 치료하기 위해 본원에 기재된 융합 단백질과 조합될 수 있는 다른 요법은 T 세포 무반응 또는 소진을 역전/방지하는 요법 및 종양 부위에서 선천성 면역 활성화 및/또는 염증을 촉발하는 요법을 포함한다.

[0496] 질환 또는 장애, 예를 들어, 암을 치료하기 위해 본원에 기재된 융합 단백질에 결합될 수 있는 다른 요법은 IL-8을 차단하는 요법 예를 들어, HuMax-IL8을 사용하는 요법을 포함한다.

[0497] 본원에 기재된 융합 단백질은 1종 초과의 면역-종양학 작용제와 조합될 수 있고, 예를 들어 면역 경로의 다중 요소를 표적화하는 조합 접근법, 예컨대 하기 중 1종 이상과 조합될 수 있다: 종양 항원 제시를 증진시키는 요법 (예를 들어, 수지상 세포 백신, GM-CSF 분비 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오티드, 이미퀴모드); 예를 들어 CTLA-4 및/또는 PD1/PD-L1/PD-L2 경로의 억제 및/또는 Treg 또는 다른 면역 억제 세포의 고갈 또는 차단에 의해 음성 면역 조절을 억제하는 요법; 예를 들어 CD-137, OX-40, 및/또는 CD40 또는 GITR 경로를 자극하고/거나 T 세포 이펙터 기능을 자극하는 효능제로 양성 면역 조절을 자극하는 요법; 항종양 T 세포의 빈도를 전신으로 증가시키는 요법; 예를 들어 CD25의 길항제 (예를 들어, 다클리주맙)를 사용하거나 생체외 항-CD25 비드 고갈에 의해 Treg, 예컨대 종양에서의 Treg을 고갈 또는 억제하는 요법; 종양에서의 억제 골수 세포의 기능에 영향을 미치는 요법; 종양 세포의 면역원성을 증진시키는 요법 (예를 들어, 안트라시클린); 유전자 변형된 세포, 예를 들어 키메라 항원 수용체에 의해 변형된 세포 (CAR-T 요법)를 포함한 입양 T 세포 또는 NK 세포 전달; 대사 효소, 예컨대 인돌아민 디옥시게나제 (IDO), 디옥시게나제, 아르기나제 또는 산화질소 신테타제를 억제하는 요법; T 세포 무반응 또는 소진을 역전/방지하는 요법; 종양 부위에서 선천성 면역 활성화 및/또는 염증을 촉발하는 요법; 면역 자극 시토카인의 투여; 또는 면역 억제 시토카인의 차단.

[0498] 본원에 개시된 융합 단백질은 양성 공동자극 수용체를 라이게이션하는 효능작용제, 억제 수용체를 통한 신호전달을 감쇠시키는 차단제, 길항제, 및 항종양 T 세포의 빈도를 전신으로 증가시키는 1종 이상의 작용제, 종양 미세환경 내에서의 별개의 면역 억제 경로를 극복하는 (예를 들어, 억제 수용체 결속 (예를 들어, PD-L1/PD-1 상호작용)을 차단하거나, Treg을 고갈 또는 억제하거나 (예를 들어, 항-CD25 모노클로날 항체 (예를 들어, 다클리주맙)를 사용하거나 생체외 항-CD25 비드 고갈에 의함), 대사 효소, 예컨대 IDO를 억제하거나, 또는 T 세포 무반응 또는 소진을 역전/방지하는) 작용제, 및 종양 부위에서 선천성 면역 활성화 및/또는 염증을 촉발하는 작용제 중 1종 이상과 함께 사용될 수 있다.

[0499] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질은 대상체가 BRAF V600 돌연변이 양성이면 BRAF 억제제와 함께 대상체에게 투여된다.

[0500] 예를 들어, 본원에 기재된 본 개시내용의 융합 단백질 및 조합 요법은 추가의 치료, 예컨대 조사 및/또는 화학요법, 예를 들어 캄프토테신 (CPT-11), 5-플루오로우라실 (5-FU), 시스플라틴, 독소루비신, 이리노테칸, 파클리탁셀, 겜시타빈, 시스플라틴, 파클리탁셀, 카르보플라틴-파클리탁셀 (탁솔), 독소루비신, 또는 캄프토테신 + apo21/TRAIL (6X 콤보))을 사용하는 것, 1종 이상의 프로테아솜 억제제 (예를 들어, 보르테조밉 또는 MG132), 1종 이상의 Bcl-2 억제제 (예를 들어, BH3I-2' (bcl-xl 억제제), 인돌아민 디옥시게나제-1 억제제 (예를 들어, INCB24360, 인독시모드, NLG-919, 또는 F001287), AT-101 (R-(-)-고시폴 유도체), ABT-263 (소분자), GX-15-070 (오바토클락스), 또는 MCL-1 (골수성 백혈병 세포 분화 단백질-1) 길항제), iAP (아폽토시스 단백질의 억제제) 길항제 (예를 들어, smac7, smac4, 소분자 smac 모방체, 합성 smac 펩티드 (문헌 [Fulda et al., Nat Med 2002;8:808-15] 참조), ISIS23722 (LY2181308), 또는 AEG-35156 (GEM-640)), HDAC (히스톤 데아세틸라제) 억제제, 항-CD20 항체 (예를 들어, 리툭시맙), 혈관신생 억제제 (예를 들어, 베바시주맙), VEGF 및 VEGFR을 표적화하는 항혈관신생제 (예를 들어, 아바스틴), 합성 트리테르페노이드 (문헌 [Hyer et al., Cancer Research

2005;65:4799-808] 참조), c-FLIP (세포성 FLICE-억제 단백질) 조정제 (예를 들어, PPARγ (퍼옥시솜 증식자-활성화 수용체 γ)의 천연 및 합성 리간드, 5809354 또는 5569100), 키나제 억제제 (예를 들어, 소라페닙), 트라스투주맙, 세툭시맙, 템시롤리무스, mTOR 억제제 예컨대 라파마이신 및 템시롤리무스, 보르테조밉, JAK2 억제제, HSP90 억제제, PI3K-AKT 억제제, 레날리도미드, GSK3β 억제제, IAP 억제제 및/또는 유전자독성 약물과 조합되어 (예를 들어, 동시에 또는 개별적으로) 사용될 수 있다.

[0501] 본 개시내용의 융합 단백질 및 본원에 개시된 조합 요법은 추가로 1종 이상의 항증식 세포독성제와 조합되어 사용될 수 있다. 항증식 세포독성제로서 사용될 수 있는 화합물의 부류는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다:

[0502] 알킬화제 (질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠을 비제한적으로 포함함): 우라실 머스타드, 클로르메틴, 시클로포스파미드 (시톡산(CYTOXAN)®) 포스파미드, 멜팔란, 클로람부실, 피포브로만, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포르아민, 부술판, 카르무스틴, 로무스틴, 스트렙토조신, 다카르바진 및 테모졸로미드.

[0503] 항대사물 (폴산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체와 아데노신 데아미나제 억제제를 비제한적으로 포함함): 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 시타라빈, 6-메르캅토퓨린, 6-티오구아닌, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴 및 겜시타빈.

[0504] 본 개시내용의 융합 단백질과 조합하는 데 적합한 항증식제, 관련 기술분야에 공지된 다른 마이크로투불린 안정화제 이외에, 비제한적으로, 탁산, 파클리탁셀 (파클리탁셀은 탁솔(TAXOL™)로서 상업적으로 입수가능함), 도세탁셀, 디스코데르몰리드 (DDM), 딕티오스타틴 (DCT), 펠로루시드 A, 에포틸론, 에포틸론 A, 에포틸론 B, 에포틸론 C, 에포틸론 D, 에포틸론 E, 에포틸론 F, 푸라노에포틸론 D, 데스옥시에포틸론 B1, [17]-데히드로데스옥시에포틸론 B, [18]데히드로데스옥시에포틸론 B, C12,13-시클로프로필-에포틸론 A, C6-C8 가교된 에포틸론 A, 트랜스-9,10-데히드로에포틸론 D, 시스-9,10-데히드로에포틸론 D, 16-데스메틸에포틸론 B, 에포틸론 BIO, 디스코데로몰리드, 파투필론 (EPO-906), KOS-862, KOS-1584, ZK-EPO, ABJ-789, XAA296A (디스코데르몰리드), TZT-1027 (소블리도틴), ILX-651 (타시도틴 히드로클로라이드), 할리콘드린 B, 에리불린 메실레이트 (E-7389), 헤미아스텔린 (HTI-286), E-7974, 크립토피신, LY-355703, 메이탄시노이드 면역접합체 (DM-1), MKC-1, ABT-751, T1-38067, T-900607, SB-715992 (이스피네시브), SB-743921, MK-0731, STA-5312, 엘레우테로빈, 17베타-아세톡시-2-에톡시-6-옥소-B-호모-에스트라-1,3,5(10)-트리엔-3-올, 시클로스트렙틴, 이소라울리말리드, 라울리말리드, 4-epi-7-데히드록시-14,16-디데메틸-(+)-디스코데르몰리드, 및 크립토틸론 1.

[0505] 본 개시내용의 융합 단백질을 사용한 치료와 함께 또는 그 전에, 이상 증식성 세포를 정지기로 만드는 것이 바람직한 경우에, 호르몬 및 스테로이드 (합성 유사체 포함), 예컨대 17a-에티닐에스트라디올, 디에틸스틸베스트롤, 테스토스테론, 프레드니손, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스토락톤, 메게스트롤아세테이트, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론아세테이트, 류프롤리드, 플루타미드, 토레미펜, 졸라덱스(ZOLADEX)®가 또한 환자에게 투여될 수 있다. 본원에 기재된 방법 또는 조성물을 사용하는 경우에, 임상 세팅에서 종양 성장 또는 전이를 조정하는 데 사용된 다른 작용제, 예컨대 항모방제가 또한 원하는 만큼 투여될 수 있다.

[0506] 일부 실시양태에서, 본원에 논의된 본 개시내용의 융합 단백질 및 제2 작용제의 조합은 제약상 허용되는 담체 중 단일 조성물로서 공동으로 투여될 수 있거나, 또는 제약상 허용되는 담체 중 본 개시내용의 융합 단백질 및 제2 작용제를 갖는 개별 조성물로서 공동으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질 및 제2 작용제의 조합은 순차적으로 투여될 수 있다. 2종의 작용제의 투여는, 예를 들어 30분, 60분, 90분, 120분, 3시간, 6시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 3일, 5일, 7일, 또는 1주 이상 이격된 시간에 시작될 수 있거나, 또는 제2 작용제의 투여는 제1 작용제가 투여되고, 예를 들어 30분, 60분, 90분, 120분, 3시간, 6시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 3일, 5일, 7일, 또는 1주 이상 후에 시작될 수 있다.

[0507] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질 및/또는 제2 작용제와 조합될 수 있는 항신생물성 항체는 리툭산® (리툭시맙), 헤르셉틴® (트라스투주맙), 벡사르® (토시투모맙), 제발린® (이브리투모맙), 캄파트® (알렘투주맙), 림포사이드® (에프라투주맙), 아바스틴® (베바시주맙)및 타르세바® (에를로티닙) 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 융합 단백질과의 조합 요법을 위해 유용한 제2 항체는 항체 약물 접합체일 수 있다.

[0508] 일부 실시양태에서, 단독 또는 또 다른 작용제와 조합된 본 개시내용의 융합 단백질은 조혈계 기원의 다양한 종양을 치료하기 위해 골수 이식과 공동으로 또는 순차적으로 사용된다.

[0509] 대상체에게 본 개시내용의 융합 단백질을 제2 작용제와 함께 또는 그 없이 투여하는 것을 포함하는, 면역자극제를 사용한 과다증식성 질환 (예를 들어, 암)의 치료와 연관된 유해 사건을 변경하는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법은 비-흡수성 스테로이드를 환자에게 투여함으로써, 면역자극성 치료 항체-유도된 결장염 또는 설사의 발생률을 감소시키는 방법을 제공한다. 본원에 사용된 "비-흡수성 스테로이드"는 광범위한 1차 통과 대사를 나타내어, 간에서의 대사 후 스테로이드의 생체이용률이 낮도록, 즉 약 20% 미만이도록 하는 글루코코르티코이드이다. 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 비-흡수성 스테로이드는 부데소니드이다. 부데소니드는 국부-작용 글루코코르티코스테로이드이며, 이는 경구 투여 후 주로 간에 의해 광범위하게 대사된다. 엔토코르트 이씨(ENTOCORT EC)® (아스트라-제네카(Astra-Zeneca))는 회장으로 및 결장 전체로의 약물 전달을 최적화하기 위해 개발된 부데소니드의 pH- 및 시간-의존적 경구 제제다. 엔토코르트 이씨®는 회장 및/또는 상행 결장에 관련된 경증 내지 중등도 크론병의 치료에 대해 미국에서 승인받았다. 일부 실시양태에서, 비-흡수성 스테로이드와 함께 사용되는 본 개시내용의 융합 단백질은 추가로 살리실레이트와 조합될 수 있다. 살리실레이트는 5-ASA 작용제, 예컨대 예를 들어: 술파살라진 (아줄피딘(AZULFIDINE)®, 파마시아 & 업존(Pharmacia & UpJohn)); 올살라진 (디펜툼(DIPENTUM)®, 파마시아 & 업존); 발살라지드 (콜라잘(COLAZAL)®, 살릭스 파마슈티칼스, 인크.(Salix Pharmaceuticals, Inc.)); 및 메살라민 (아사콜(ASACOL)®, 프록터 & 갬블 파마슈티칼스(Procter & Gamble Pharmaceuticals); 펜타사(PENTASA)®, 샤이어 유에스(Shire US); 카나사(CANASA)®, 액스칸 스캔디팜, 인크.(Axcan Scandipharm, Inc.); 로와사(ROWASA)®, 솔베이(Solvay))를 포함한다.

[0510] 7.8 키트

[0511] 본원에 사용된 키트는 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같이, 면역 반응을 조정하는 데 사용하기 위한 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 포함한다. 본원에 사용된 용어 "키트" 및 "시스템"은, 구체적 실시양태에서 하나 이상의 다른 유형의 요소 또는 성분 (예를 들어, 다른 유형의 생화학적 시약, 용기, 패키지, 예컨대 상업적 판매를 위해 의도된 포장, 사용 지침서 등)과 조합된 적어도 1종 이상의 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 지칭하는 것으로 의도된다.

[0512] 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질, 본원에 기재된 바와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 포함하는 조성물, 본원에 기재된 바와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 코딩하는 핵산, 벡터, 및/또는 숙주 세포 중 1종 이상; 및 (b) 이를 필요로 하는 대상체에게 융합 단백질을 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트가 개시된다. 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질 및 (b) 이를 필요로 하는 대상체에게 융합 단백질을 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트가 개시된다. 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 포함하는 조성물 및 (b) 이를 필요로 하는 대상체에게 조성물을 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트가 개시된다. 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 IL2/IL2Rα 융합 단백질을 코딩하는 핵산 및 (b) 이를 필요로 하는 대상체에게 핵산을 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트가 개시된다. 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 벡터 및 (b) 이를 필요로 하는 대상체에게 벡터를 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트가 개시된다. 일부 실시양태에서, (a) 본원에 기재된 바와 같은 숙주 세포 및 (b) 이를 필요로 하는 대상체에게 숙주 세포를 투여하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트가 개시된다.

[0513] 구체적 실시양태에서, 본원에 기재된 제약 조성물의 성분 중 1종 이상, 예컨대 본원에 제공된 1종 이상의 융합 단백질로 충전된 1개 이상의 용기를 포함하는 제약 팩 또는 키트가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 키트는 본원에 기재된 제약 조성물 및 본원에 기재된 것들과 같은 임의의 예방제 또는 치료제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 키트는 T 세포 미토겐, 예컨대, 예를 들어, 피토헤마글루티닌 (PHA) 및/또는 포르볼 미리스테이트 아세테이트 (PMA) 또는 TCR 복합체 자극 항체, 예컨대 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체를 함유할 수 있다. 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매의 기관에 의한 승인을 반영하는, 제약 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 관할하는 정부 기관에 의해 규정된 형태의 통지서가 이러한 용기(들)에 임의로 회합될 수 있다.

[0514] 또한 본원은 상기 방법에서 사용될 수 있는 키트를 제공한다. 한 실시양태에서, 키트는 1개 이상의 용기 내에 본원에 기재된 융합 단백질, 바람직하게는 정제된 융합 단백질을 포함한다. 구체적 실시양태에서, 본원에 기재된 키트는 실질적으로 단리된 융합 단백질을 대조군으로서 함유한다. 또 다른 구체적 실시양태에서, 본원에 기재된 키트는 IL2 및/또는 IL2-Rα 항원과 반응하지 않는 대조군 항체 또는 융합 단백질을 추가로 포함한다. 또 다른 구체적 실시양태에서, 본원에 기재된 키트는 IL2 및/또는 IL2-Rα 항원에 대한 융합 단백질의 결합을 검출

하기 위한 1종 이상의 요소를 함유한다 (예를 들어, 융합 단백질은 검출가능한 기질 예컨대 형광 화합물, 효소 기질, 방사성 화합물 또는 발광 화합물, 또는 검출가능한 기질과 접합할 수 있는 1차 항체를 인식하는 2차 항체와 접합할 수 있다). 구체적 실시양태에서, 본원에 제공된 키트는 재조합적으로 생산된 또는 화학적으로 합성된 융합 단백질을 포함할 수 있다. 키트에 제공된 바와 같은 본원에 개시된 융합 단백질에 대한 항원은 또한 고체 지지체에 부착될 수 있다. 보다 구체적인 실시양태에서, 상기 기재된 키트의 검출 수단은 융합 단백질의 항원이 부착되어 있는 고체 지지체를 포함한다. 그러한 키트는 또한 비-부착되고 리포터-표지된 항-인간 항체 또는 항-마우스/래트 항체를 포함할 수 있다. 이러한 실시양태에서, 융합 단백질의 항원에의 결합은 상기 리포터-표지된 항체의 결합에 의해 검출될 수 있다.

[0515] 본 개시내용의 실시는 달리 나타내지 않는 한, 관련 기술분야의 통상의 기술 내인 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 트랜스제닉 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이다. 이러한 기술은 문헌에 상세하게 설명되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., ed. (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook et al., ed. (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) DNA Cloning, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis; Mullis et al. 미국 특허 번호 4,683,195; Hames 및 Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; Hames 및 Higgins, eds. (1984) Transcription And Translation; Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986); Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller 및 Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu et al., eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155; Mayer 및 Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London); Weir 및 Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); Crooks, Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications, 2nd Ed. CRC Press (2007) 및 in Ausubel et al. (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)]을 참조한다.

[0516] 상기 인용된 모든 참고문헌, 뿐만 아니라 본원에 인용된 모든 참고문헌 및 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 진뱅크 번호 및/또는 유니프롯 번호)은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0517] 하기 실시예는 예시로서 및 비제한적으로 제공된다.

[0518] 8. 실시예:

[0519] 실시예 1. IL2-CD25 융합 단백질은 안정한 동질의 동종-이량체를 형성한다

[0520] 융합 단백질의 크기 및 올리고머 상태를 인라인 다각도 광 산란 검출기 (SEC-MALS)에 커플링된 크기 배제 크로마토그래피에 의해 연구하였다. 샘플은 스톡 단백질 샘플 30 μg을 주입함으로써 제조하였다. 등용매 분리는 탈기기, 등용매 펌프, 주입기를 구비한 냉각된 샘플 홀더, UV/vis 검출기 및 칼럼 오븐으로 이루어진 프로미넌스 시마즈(Prominence Shimadzu) UFLC 시스템에 연결된 지이 헬스케어(GE Healthcare) 슈퍼덱스 200 인크리즈 10/300 GL 칼럼 (10 mm X 300 mm)에서, 40 mM 트리스, 200 mM NaCl (pH 7.5)를 함유하는 완충제 중에 0.02% Na 아지드를 첨가하고 0.1 um 여과하고 0.75 mL/분의 유량으로 실행하면서 수행하였다. 샘플은 시마즈 오토샘플러를 사용하여 칼럼 상에 주입하고 데이터는 직렬로 연결된 3개의 온라인 검출기: 시마즈 SPD-20 듀얼 파장 UV/vis 분광광도계 세트 (280 nm에서의 수집용), 이어서 와이어트 테크놀로지스 미니-다운(Wyatt Technologies mini-Dawn) TREOS 3 각도 레이저 광 산란 검출기 및 이어서 와이어트 옵티랩(Wyatt Optilab) T-rEX 간섭측정 굴절계로부터 얻었다. 데이터는 아스트라 6 (와이어트)및 랩솔루션즈 라이트(LabSolutions Lite) (시마즈) 소프트웨어를 사용하여 수집하고 분석하였다.

[0521] 도 1의 데이터는 분석용 크기 배제 크로마토그래피로부터의 전형적 절대 질량 대 용리 시간을 보여준다. 도 1에서 분석된 샘플은 His 태그 (GGHHHHHH (서열식별번호: 100)에 융합된 IL2-CD25(22-212) (서열식별번호: 16)에 대한 것이며, 이는 폴리펩티드 쇄에 대해 37,812 (환원됨)의 이론적 분자 질량을 갖는다. 데이터는 IL2-CD25(22-212)가 93 kDa의 측정된 절대 질량을 갖는 용리 프로파일에 걸쳐 동질의 종을 형성하는 것을 나타낸다. 용리 피크는 단량체 종의 증거도 주요 피크보다 고급 올리고머 종의 증거도 없음을 보여준다. 93 kDa의 질량값은 분자가 동종이량체를 형성하고 또한 글리코실화 (IL2 및 CD25 상의 기지의 N- 및 O-연결된 글리코실화 부

위로부터 약 18 질량%)되어 있다는 것을 나타낸다.

[0522] 실시예 2: IL2-CD25 융합 단백질은 sCD25 및 sIL2Rβ/IL2Rɣ 이종수용체에 감쇠된 관찰된 친화도로 동등하게 결합한다.

[0523] 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 연구를 비아코어 T100 및/또는 T200 기기 (지이 헬스케어) 상에서 25℃에서 수행하였다. 융합 단백질 분석물의 결합은 포스페이트 완충 염수 (PBS-T) (pH 7.1) 중에서, His 절단 (hCD25) 및 스트렙타비딘, SA 센서 칩 상에 포획된 저밀도 (~300RU)의 biot-hCD25-BioP-TVMV-His 또는 단백질 A 고정된 CM5 센서칩 표면을 통해 포획된 hCD122(27-241)-hFc-D/hCD132(23-263)-hFc-K 이종이량체 Fc 융합체 (hIL2-Rb/g)로 이루어진 표면 상에서 표준 에틸(디메틸아미노프로필) 카르보디이미드/N-히드록시숙신이미드 (NHS) 화학을 사용하여 에탄올아민 차단 하에 시험하였다. 단백질 분석물을 적정 시리즈로 주입하고 기준선으로 돌아가는 재생은 저 pH 완충제의 2 X 8s 주입에 의해 수행하였다. 데이터는 비아코어 T-200 평가 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0524] 도 2는 IL2-CD25 융합 단백질 (서열식별번호: 16)의 인간 sCD25에 대한 원형 결합을 보여준다. 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정시 4.2 마이크로몰의 관찰된 겉보기 평형 해리 상수는 단리된 IL2의 sCD25에 대한 친화도보다 대략 150배 더 약하다 (Liparoto, S.F., Myszka, D.G., Wu, Z., Goldstein, B., Laue, T.M., 및 Ciardelli, T.L. (2002) Biochemistry 41, 2543-51.).

[0525] 표 9: IL2-CD25 융합 단백질 (서열식별번호: 16)의 인간 sCD25에 대한 결합의 약동학.

[0526]

| ka (1/Ms) | kd (1/s) | KD (M) |
|---|---|---|
| 1.29E+4 | 0.054 | 4.2E-6 |

[0527] 하기 표 10은 짧은 버전 및 긴 버전의 IL2-CD25의 인간 sCD25 및 sIL2Rβ/IL2Rɣ 이종이량체에 대한 원형 결합 관찰된 평형 $K_D$ 값을 나타낸다. 다양한 IL2-CD25 융합 단백질에 대해 관찰된 겉보기 평형 해리 상수는 IL2와 비교하여 현저하게 감쇠된다. sCD25에 대한 결합은 IL2와 비교하여 IL2-CD25 융합체의 경우 대략 100배 더 약하다. 마찬가지로 IL2-CD25 융합체의 결합은 IL2보다 베타-감마 이종이량체에 대해 약 150배 더 약하다.

[0528] 표 10: 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정시 IL2 및 IL2-CD25 구축물의 sCD25 또는 sIL2Rβ/IL2Rɣ 이종이량체에 대한 결합의 관찰된 평형 $K_D$ 값.

| 수용체 | sCD25에 대한 $K_D$, μM | sIL2Rβ/IL2Rγ 이종이량체에 대한 $K_D$, μM |
|---|---|---|
| IL2 | 0.025 | 0.0004 |
| IL2-CD25(22-187) | 1.6 | 0.054 |
| IL2-CD25(22-212) | 2.3 | 0.065 |
| IL2-CV-CD25(22-240) | 2.1 | 0.063 |
| IL2-CD25(22-240) | 2.4 | 0.044 |
| Fc1.1-7링커-IL2-CD25(22-212) 2가 SEQ ID NO: 67 | 5.6 | N.D. |
| IL2-CD25(22-212)-Fc1.1 SEQ ID NO: 68 | 2.5 | 0.1 |
| IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A (SEQ ID NO: 202) | 1.9 | N.D. |
| Fc-(IL2(V91K)CD25)2 2가 SEQ ID NO: 203 | 3.0 | |
| HSA-(G4S)3- IL2-CD25(22-187) SEQ ID NO: 19 | 4.0 | 0.03 |
| IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA SEQ ID NO: 20 | 2.1 | 0.03 |
| 인간 Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G SEQ ID NO: 26 | 3.0 | 0.15 |
| IL2(C145S)-CD25(22-187)- HuFc1.1(f)-AZ1 SEQ ID NO: 27 | 2.0 | 0.15 |
| IL2(V111K)-CD25 SEQ ID NO: 69 | 1.9 | |
| IL2(D40T)-CD25 SEQ ID NO: 70 | 2.8 | |

[0529]

[0530] 실시예 3: IL2-CD25의 말단절단된 버전은 응집에 대한 안정성을 개선시켰다: 가속 안정성 시험

[0531] 융합 단백질의 안정성을 pH 범위 4-8의 완충제 중에서 40℃에서 인큐베이션하여 시험하였다. 융합 단백질을 약 15mg/ml로 농축하고, 하기 완충제로 4℃에서 투석하였다: 1) 20mM 아세테이트, 250mM 수크로스, pH 4, 2) 20mM 시트레이트, 250mM 수크로스, pH 5, 3) 20mM 히스티딘, 250mM 수크로스, pH 6, 4) 20mM 포스페이트, 250mM 수크로스, pH 7 및 5) 20mM 트리스, 250mM 수크로스, pH 8.4 (실온). 투석으로부터 회수한 후에, 융합 단백질의 농도는 투석 완충제로 희석하여 10mg/ml로 정규화하고, 인큐베이터에 넣고, 40℃에서 4주 동안 모니터링하였으며, 여기서 인큐베이션 직전 (t0), 40℃ 인큐베이션 1주후 (1w) 및 4주후 (4w)에 분취물을 채취하였다. 각각의 시점은 100mM 인산나트륨, 150mM 염화나트륨 함유 완충제, pH7.3 (0.2μm 여과함) 중에서 애질런트 1260 HPLC 시스템에 연결된 쇼덱스 KW403-4F 칼럼상에서의 크기 배제 크로마토그래피에 의해 0.30 mL/분의 유량으로 실행하여 분석하였다.

[0532] 표 11 및 12에 제시된 바와 같이, IL2-CD25의 말단절단된 버전은 더 긴 버전보다 가속 안정성 연구 후에 훨씬 양호한 고분자량 및 저분자량 프로파일을 나타낸다. pH 값 4, 5, 6 및 7의 경우 특히 그렇다. 샘플을 4주 동안 다양한 pH 조건 및 40 섭씨 온도에서 유지하였다. 각각의 구축물의 고분자량 및 저분자량 분획의 퍼센트로 나타내어진 결과는 긴 구축물과 비교하여 짧은 구축물의 매우 개선된 안정성을 보여준다. 각각의 구축물의 주요 피크 분획의 퍼센트로 나타내어진 결과는 긴 구축물과 비교하여 짧은 구축물의 매우 개선된 안정성을 보여준다.

[0533] 표 11: IL2-CD25 융합 단백질의 가속 안정성 프로파일.

| | IL2-CD25(22-187) | | IL2-CD25(22-212) | | IL2-C145V-CD25(22-240) | | IL2-CD25(22-240) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| pH | HMW (%) | LMW (%) | HMW (%) | LMW (%) | HMW (%) | LMW (%) | HMW (%) | LMW (%) |
| 4 | 2.3 | 6.3 | 5.3 | 3.4 | 19.4 | 5.7 | 13.0 | 13.4 |
| 5 | 1.9 | 3.9 | 1.8 | 1.9 | 12.5 | 0.3 | 14.3 | 2.6 |
| 6 | 1.3 | 2.2 | 1.9 | 1.2 | 13.3 | 0.0 | 15.9 | 0.0 |
| 7 | 5.1 | 3.8 | 2.6 | 2.5 | 9.4 | 2.3 | 10.5 | 2.5 |
| 8 | 5.5 | 4.2 | 2.6 | 2.7 | 6.2 | 2.3 | 7.8 | 2.7 |

[0534]

[0535] 여기서 IL2-CD25 융합 단백질은 용이한 정제를 위해 His 태그 (GGHHHHHH, 서열식별번호: 100)를 함유한다.

[0536] 표 12: IL2-CD25 융합 단백질의 가속 안정성 프로파일.

| pH | IL2-CD25(22-187) | IL2-CD25(22-212) | IL2-C145V-CD25(22-240) | IL2-CD25(22-240) |
|---|---|---|---|---|
| 4 | 91.4 | 91.3 | 74.9 | 73.6 |
| 5 | 94.2 | 96.4 | 87.2 | 83.1 |
| 6 | 96.6 | 97.0 | 86.7 | 84.1 |
| 7 | 91.1 | 94.9 | 88.3 | 87.0 |
| 8 | 90.3 | 94.7 | 91.6 | 89.5 |

[0537]

[0538] 실시예 4: 비-인간 동물의 약동학적 연구

[0539] 약동학적 연구: 모든 동물 프로토콜은 센트랄 뉴저지 동물 실험 윤리 위원회에 의해 승인받았고 동물은 가이드라인에 따라 수용하였다. 19-20 그램 중량의 암컷 Balb/C 마우스를 찰스-리버(Charles-River) (매사추세츠주 윌밍턴)로부터 구입하였다. 비-금식 Balb/C 마우스에게 꼬리-정맥을 통한 정맥내 (IV) 경로 또는 피하 (SC) 경로에 의해, 지정된 분자의 단일 0.5 mg/kg 용량을 투여하였다. 약동학적 연구에 사용된 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)은 His6-태그를 갖는다. 혈액은 하기의 투여후 시점에 꼬리 정맥에서 수집하였다: 5분 (IV 단독), 1h, 7h, 24h, 48h, 72h, 96h 및 168h. 원숭이 PK 연구를 위해, 수컷 시노몰구스 원숭이를 벅샤이어 코포레이션(Buckshire Corporation) (펜실베니아주 퍼카시)으로부터 입수하였다. 원숭이 (N=3, 평균 체중 7.8 kg)에게 hIL2-CD25 (22-212)의 단일 0.075 mg/kg 피하 용량을 투여하였다. 일련의 혈액 샘플은 투여후 5h, 24h, 48h, 72h, 96h, 168h, 192h 및 240h에 의식있고 의자에 앉힌 원숭이로부터 대퇴 동맥에서 수집하였다. 혈액 샘플을 응고되도록 하고, 4℃ (1500-2000 x g)에서 원심분리하여 혈청을 수득하였다. 추가의 분석까지 혈청 샘플을 -80℃에서 저장하였다.

[0540] 혈청 중 융합 단백질의 검출: 리간드 결합 검정을 사용하여 마우스 또는 원숭이 혈청 샘플 중 융합 단백질의 수준을 검출하였다. 간략하게, 96-웰 눈크 맥스디소르프(Nunc MaxdiSorp) 편평 바닥 플레이트 (써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific), 덴마크)를 포획 시약 (래트 항-인간 IL2 항체, 모노클로날 클론 : MQ1-17H12; 써모 피셔 사이언티픽, 캘리포니아주 샌디에고)으로 밤새 4℃에서 PBS 중에 2 μg/mL로 코팅하였다. 플레이트를 차단 완충제 (PBS 중 5% BSA)에 의해 차단하고, 25℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 표준물, QC 및 샘플을 검정 완충제 (1% BSA 및 0.05% 트윈 20 함유 PBS)로 20배 희석하고 세척된 플레이트에 이중으로 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이션했다. 세척된 플레이트를 검출 시약 (인간 CD25 비오티닐화 항체, 알앤디 시스템즈(R&D Systems), 미네소타주 미네아폴리스, 검정 완충제 중 250 ng/ml)과 함께 인큐베이션하고, 25℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 세척된 플레이트에 25℃에서 순차적으로, 45분 동안 검정 완충제 중 뉴트라비딘(NeutrAvidin)-HRP (써모 사이언티픽, 일리노이주 록포드) 100 ng/ml에 이어서 1분 동안 화학발광 기질 믹스(써모 사이언티픽, 일리노이주 록포드)를 첨가한 후에, 스펙트라맥스(SpectraMax) 플레이트 판독기로 발광 모드에서 판독하였다. 혈청 샘플 중 분석물의 농도는 소프트맥스 분석 프로그램 (몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices))의 로그-로그 선형 곡선 피트 알고리즘에 의해 생성된 표준 곡선을 이용하여 계산되었다.

[0541] 표 13: Balb/C 마우스에서 지정된 분자의 약동학적 파라미터.

| | 용량 | 경로 | CL | Vss | AUC (0-최종) | Cmax | Tmax | T1/2 | 생체이용율 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | mg/kg | | ml/h/kg | ml/kg | nM*h | nM | h | h | % |
| IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240) | 0.5 | IV | 1.3 | 46.3 | 8046.3 | NA | NA | 19.4 | NA |
| | 0.5 | SC | NA | NA | 3639.6 | 79 | 24 | 31 | 45% |
| IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) | 0.5 | IV | 4 | 94.2 | 3053.1 | NA | NA | 19.4 | NA |
| | 0.5 | SC | NA | NA | 2033.1 | 54.6 | 7 | 23 | 67% |
| IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187) | 0.5 | IV | 23.1 | 200.4 | 610.4 | NA | NA | 11.6 | NA |
| | 0.5 | SC | NA | NA | 261.3 | 13.2 | 7 | 10.9 | 43% |
| Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) | 0.5 | IV | 1.96 | 167.6 | 1442 | NA | NA | 66.6 | NA |
| | 0.5 | SC | NA | NA | 886.5 | 12.02 | 24 | 68.8 | 61% |
| IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1 | 0.5 | IV | 1.2 | 194.4 | 1771.3 | NA | NA | 120 | NA |
| | 0.5 | SC | NA | NA | 1478.6 | 16.2 | 24 | 61.3 | 83% |

[0542]

[0543] NA = 적용 불가능함, ND = 결정하지 않음.

[0544] 표 14: 시노몰구스 원숭이에서 hIL2-CD25 (22-212)의 약동학적 파라미터.

| | 용량 | 경로 | AUC (0-최종) | Cmax | Tmax | $T_{1/2}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | mg/kg | | nM*h | nM | h | 일 |
| IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) | 0.075 | SC | 1200 | 7.6 | 24 | 2.1 |

[0545]

[0546] 실시예 5: IL2-CD25 융합 단백질의 Kit225 세포에 대한 활성

[0547] 변형된 융합 단백질의 생물학적 활성은 T 세포주인 Kit225 (OKT3+, -T4+, -T8- 표현형을 갖는 T 세포 만성 림프구성 백혈병을 갖는 환자로부터의 IL2 의존성 인간 T 세포주)에서 내인성으로 발현되는 IL2R를 자극하는 능력을 측정하는 것에 의해 결정된다. 활성은 IL2R의 신호전달 캐스케이드에 감수성인 리포터 시스템을 사용하여 측정되었다. IFNγ 활성화 서열의 제어 하의 반딧불이 루시페라제 리포터 유전자 (IRF1-GAS-Luc)와 안정적으로 통합된 Kit225 인간 T 세포를 RPMI + 글루타맥스, 10% 열-불활성화 FBS, 20 ng/ml 재조합체 IL2 (인비트로젠 (Invitrogen) PHC0023), 1% Pen/Strep 및 0.7 mg/ml 제네티신을 함유하는 배지에서 성장시켰다. 검정 전날에, 성장 배지에 존재한 IL2를 제거하기 위해 리포터 세포를 세척하고 검정 배지 (페놀-레드-무함유 RPMI + L-글루타민, 10% 열-불활성화 FBS, 1% Pen/Strep) 중에 재현탁시키고, 이어서 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 검정 당일에, IL2 분자를 3배, 11-점 농도 응답 곡선을 위해 검정 완충제 중에 연속 희석하고, 다양한 농도의 IL2 분자를 컬처플레이트(CulturPlate)-384 검정 플레이트 (퍼킨 엘머(Perkin Elmer) cat. 번호 6007688)에 첨가한 다음, 70,000개 세포/웰을 첨가하였다. 이어서, 검정 플레이트를 37℃ $CO_2$ 인큐베이터에서 5시간 동안 인큐베이션하고, 이어서 20분 동안 실온으로 평형화시킨 후, 원-글로(ONE-GLO)™ 기질 (프로메가 E6120)을 첨가하였다. 플레이트를 밀봉하고, 발광 신호를 퍼킨 엘머 엔비전 상에서 측정하였다. IL2 용량 반응 발광 신호의 11개 점을 그래프패드 프리즘을 사용하여 플로팅하였다. EC50은 4-파라미터 로지스틱 회귀 모델을 사용하여 결정된 11-점 피팅 곡선으로부터 도출된 50% 활성화에 상응하는 시험 IL2 융합 단백질의 농도로 정의된다. 1차 세포에서 융합 단백질의 IL2R 신호전달에 대한 효력은 융합 단백질에 의한 인간 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 또는 전혈의 자극에 의해 결정되었다. pSTAT5의 티로신 인산화는 IL2R 신호전달의 즉각적 결과이고, 전혈 또는 PBMC의 다양한 세포 집단에서 유동 세포측정법에 의해 검출되었다. 혈액 샘플 또는 PBMC를 37℃에서

15분 동안 hIL2-CD25 융합 단백질의 연속 희석물로 처리하였다. 인큐베이션 후에, 세포를 고정하고, 혈액을 10분 동안 용해/고정 완충제 (BD 포스플로우(Phosflow))로 용해시켰다. 세포를 2회 세척하고, 이어서 30분 동안 얼음 상에서 빙냉 메탄올 중에 투과화하고, 2회 추가로 세척하였다. 샘플을 이어서, 인간 Fc 블록 (이바이오사이언스(ebioscience)으로 처리한 후, CD3, CD4, CD8, CD25, pSTAT5, Foxp3 및 CD56에 대해 표지된 항체로 염색하였다. 이어서, 모든 샘플을 유동 세포측정법에 의해 분석하였다.

[0548] 시험관내 세포 기반 검정에서, 융합 단백질은 wt IL2에 비해 유의하게 우측 이동한 (불량한 효력), IL2 수용체 활성화의 효력을 나타내었다. 이는 비-공유 이량체 형태의 융합 단백질의 감소된 겉보기 친화도와 일치한다. Fc 테일을 융합 단백질에 부가하면 20-30배만큼 더 불량한 효력으로의 추가 이동을 일으켰다. His-태그의 제거 또는 C 말단의 말단절단은 융합 단백질의 효력에 최소의 영향을 미쳤다. 유사한 상대 효력 결과가 전혈에서 수득되었다.

[0549] 표 15A: IL2-CD25 융합 단백질의 Kit225 세포에 대한 활성.

[0550]

| 융합 단백질 | $EC_{50}$ (ng/ml) | |
|---|---|---|
| IL2 WT | 0.41 | N=9 |
| hIL2-CD25 (22-240)-His | 138 | n=2 |
| hIL2-C145V-CD25 (22-240)-His | 166 | n=2 |
| hIL2-CD25(22-212)-His | 210 | n=2 |
| hIL2-CD25(22-212) | 139 | n=12 |
| hIL2-CD25(22-187)-His | 145 | n=2 |
| hIL2-CD25(22-187) | 49 | n=2 |
| Fc1.1-7링커-IL2-CD25(22-212 (2가) | 3414 | n=2 |
| hIL2-CD25(22-212)-Fc1.1 (2가) | 3413 | n=2 |

[0551] 표 15B: IL2-CD25 융합 단백질의 Kit225 세포에 대한 활성.

[0552]

| 단백질 | SEQ | 효력 | | | Ymax (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | EC50 ng/ml | STDEV | n | wt IL2 반응의 % |
| wt-hIL2 | | 0.42 | 0.23 | 9 | N/A |
| hIL2-CD25(22-212) | 16 | 139 | 112 | 12 | 103% |
| HSA-hIL2-CD25(22-187) | 19 | 972 | 856 | 4 | 104% |
| hIL2-CD25(22-187)-HSA | 20 | 205 | 78 | 4 | 95% |
| Fc-hIL2-CD25(22-187) | 26 | 327 | 90 | 3 | 91% |
| hIL2-CD25 (22-187)-Fc | 27 | 257 | 95 | 3 | 93% |
| Fc-(hIL2-CD25 (22-187))2 2가 | 67 | 737 | 264 | 4 | 97% |
| hIL2-CD25 (쿼드 비-글리코실화) | 202 | 39.4 | 3.1 | 3 | 85% |

[0553] 다른 세포 유형에 비해, hIL2-CD25 (22-212) (서열식별번호: 16)를 포함한 hIL2-CD25 단백질의 Treg에 대한 신호전달의 선택성은 PBMC 또는 전혈에 포함된 혼합된 세포 집단에서 15분 후에 모니터링된 STAT5의 인산화에 의해 측정될 수 있다 (각각 도 9a 및 9b). 새로 수득한 혈액 샘플을 37℃에서 15분 동안 hIL2-CD25 (22-212) (서열식별번호: 16)의 연속 희석물로 처리하였다. 인큐베이션 후에, 세포를 처리 (고정 및 투과화)하고, CD3, CD4, CD8, CD25, pSTAT5, Foxp3 및 CD56에 대한 표지된 항체로 염색하고, 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. Treg은 hIL2-CD25 (22-212) (서열식별번호: 16)에 의한 IL2R 자극에 매우 감수성이고, 90%의 Treg의 최대 효능이 pSTAT5의 상향조절에 의한 자극에 반응하고 7 +/- 11 ng/ml의 효력을 갖는다. Treg에 대해 관찰된 강건한 활성화와 달리, CD4 비-Treg (foxp3-), CD8 및 NK 세포는 hIL2-CD25 (22-212) (서열식별번호: 16)에 의해 덜 효과적으로 자극되었고; 모든 다른 세포 유형들에 있어서, 평균 최대 2700ng/ml의 농도에서도 이들 세포의 50% 미만이 pSTAT5를 상향 조절했다 (표 16). 전체적으로 다른 세포 유형에 비해 Treg에 대한 IL2R의 선택성은

hIL2-CD25 (22-212) (서열식별번호: 16)의 경우, rhIL2에 대비하여 유지되거나 증가된다. IL2-CD25를 갖는 Fc- 또는 HSA-융합 단백질은 보다 낮은 효력이긴 하지만 전혈에서 높은 Treg 선택성을 유지했다 (표 16).

[0554] 표 16: 인간 전혈에서 다양한 세포 유형의 자극 효력 및 효능. 데이터는 정상 공여자로부터 새로 채취한 혈액에 기초한 2-10명의 공여자의 평균이다. 최대 % pSTAT5 양성 세포는 Treg 효력보다 ~200-400x 더 높은 농도에서 결정되었다.

| | Treg | | CD4 foxp3-비-Treg | CD8 T 세포 | NK 세포 |
|---|---|---|---|---|---|
| % pSTAT5 양성 세포 | EC50 ng/ml | 최대치 @ 시험된 최고 농도 | 최대치 @ 시험된 최고 농도 | 최대치 @ 시험된 최고 농도 | 최대치 @ 시험된 최고 농도 |
| hIL2-CD25 (22-212) (SEQ 16) | 7.2 (± 10.4, n=10) | 90% (+/-8, n=10) | 48% (+/-14, n=10) @2.7μg/ml | 27% (+/-11, n=10) @2.7μg/ml | 22% (+/-19, n=8) @2.7μg/ml |
| Fc-(IL2-CD25)$_2$ (SEQ 67) 2가 | 88 (± 74, n=4) | 95% (+/-2, n=4) | 50% (n=3) @24μg/ml | 33% (n=3) @24μg/ml | 8% ( n=2) @24μg/ml |
| Fc-(IL2-CD25) (SEQ 26) 1가 | 25 (± 12, n=3) | 94% (+/-1, n=3) | 60% (n=3) @8.1μg/ml | 36% (n=3) @8.1μg/ml | 6% ( n=3) @8.1μg/ml |
| HSA-(G4S)3-IL2-CD25-FT (SEQ 19) | 83 (± 53, n=3) | 95% (+/-3, n=3) | 59% (n=2) @24μg/ml | 38% (n=2) @24μg/ml | 6% ( n=2) @24μg/ml |
| IL2-CD25 FT-GG-HSA (SEQ 20) | 43 (± 35, n=2) | 92% (+/-5, n=2) | 60% (n=2) @8.1μg/ml | 39% (n=2) @8.1g/ml | 10% (n=2) @8.1μg/ml |
| (IL2-CD25)-Fc (SEQ 27) 1가 | 11.4 (± 1.6, n=2) | 94% (+/-5, n=2) | 67% n=2 @8.1μg/ml | 49% n=2 @8.1μg/ml | 25% n=2 @8.1μg/ml |

[0555]

[0556] 실시예 6: 말단절단된 IL2-CD25 융합 단백질에 의해 백혈구를 증가시키는 생체내 활성

[0557] 생체내에서 백혈구를 증가시키는 융합 단백질의 능력을 인간화 면역계를 갖는 마우스에서 시험하였다. 16-20주령 암컷 NSG-huCD34 생착 마우스 (NOD.Cg-Prkdc$^{scid}$ IL2rg$^{tm1Wjl}$/SzJ, 인간 CD34+ 조혈 줄기 세포로 재구성)를 잭슨 래보러토리(Jackson Laboratory)로부터 구입하였다. 각각의 인간화 마우스를 생착 14주후 유동 세포측정법에 의해 말초 혈액 중 hCD45+ 세포 및 뮤린 CD45+ 세포 (mCD45+)의 존재에 대해 검사하였다. 적어도 25% 인간 CD45 생착을 갖는 마우스를 선별하였다. 생착된 인간 조혈 줄기 세포를 HIV, HBV, HCV 및 LCMV (림프구성 맥락수막염 바이러스)가 없는지 시험하였다. 동물에게 표준 설치류 사료 및 정제수를 자유롭게 제공하였고 사용전에 최소 1주 동안 순응시켰다. 동물을 사용하는 모든 절차는 BMS 동물 실험 윤리 위원회에 의해 검토되고 승인받았다. 3일마다, 16-20주령 NSG-huCD34 생착된 마우스에게 동물이 마취하에 있는 동안 피하를 통해 200 μl의 부피로 10 μg/마우스의 융합 단백질 huIL2-CD25(22-187), huIL2-CD25(22-212) 및 HuIL2-CD25(22-240) 또는 PBS를 피하투여하였다. 총 3가지 피하 용량을 제0일, 제3일 및 제6일에 투여하였다. 최종 용량 24시간후, 모든 처리군을 마취하고, 비장을 Treg, CD8 T 또는 NK 세포의 FACS 분석을 위해 HBSS 중에 수거하였다. 모든 3종의 융합 단백질은 비장 세포 수를 증가시키는 데 유사한 능력을 보였다.

[0558] 실시예 7: 인간 또는 마우스 혈청에서 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) 내 (G3S)3 펩티드 링커의 안정성

[0559] 시험관내 혈청 안정성 연구 및 생체내 원숭이 PK 연구에서 (G3S)3 링커의 안정성의 평가를 뒷받침하기 위해 액체 크로마토그래피 및 탠덤 질량 분광측정법 (LC-MS/MS)-기반 바이오분석 방법을 전개하였다. 래트 항-IL-2 항체를 사용하여 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) (즉, 서열식별번호: 16)를 포획한 후, 2개의 서명 펩티드, DLISNINVIVLELK (IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)의 IL-2 도메인 유래)와 EPPPWENEATER (IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)의 CD25 도메인 유래)의 피크 면적 비를 사용하여 IL-2와 CD25 사이의 링커 안정성을 평가하였다. 링커-절단 및 혈청 중 생성된 순환 절단 산물은 IL2/CD25 면적 비 >1의 체계적 증가를 가져올 것이다.

[0560] IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)의 링커-절단 용이성을 시험관내 시험하기 위해, 0.5 μM의 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)를 37℃에서 최대 72시간 동안 1.5 ml의 총 부피로 인간 혈청 (바이오리클레메이션 (Bioreclamation) Cat# HMSRM-M; Lot# BRH1332647) 또는 마우스 혈청 (바이오리클레메이션 Cat# MSESRM-BALB-M; Lot# MSE264349) 중에서 인큐베이션하였다. 샘플 (200 μL 혈청)을 0, 4, 24, 48 및 72시간에서 수집하고, LC-MS/MS에 의한 피크 면적비 분석시까지 -80℃에서 저장하였다. 원숭이에서 IL2(21-153)(G3S)3-CD25(22-

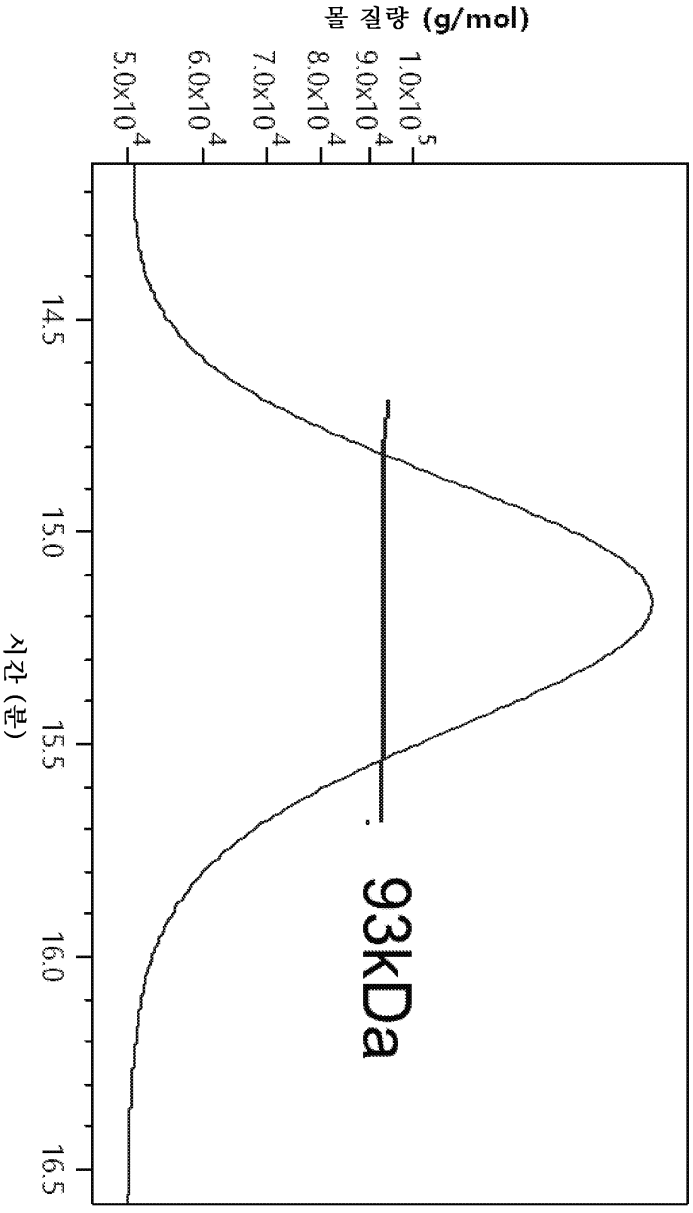
212)의 단일 용량 후 생체내 링커-절단으로 인한 순환 절단 산물의 존재를 확인하기 위해, 투여 5, 24, 48, 72, 96 및 168시간후에 수집된 혈청 샘플을 LC-MS/MS에 의해 피크 면적 비에 대해 분석하였다.

[0561] 도 10에 나타난 바와 같이, IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)의 IL2 및 CD25 도메인 내 서명 펩티드의 피크 면적비는 37℃에서 인간 또는 마우스 혈청 중 72시간의 시험관내 인큐베이션에 걸쳐 1에 근접하게 유지되었고, 따라서 이는 인간 혈청 및 마우스 혈청 둘 다에서 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) 내의 무시할만한 링커-절단을 보여준다.

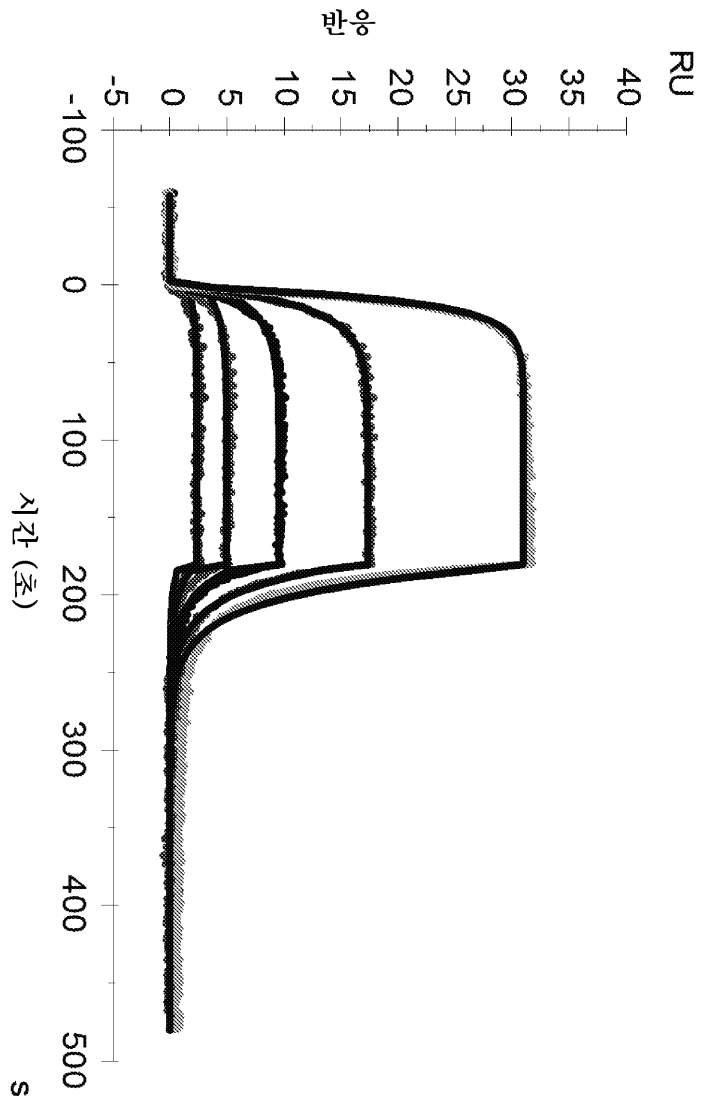
[0562] 또한 도 11에 나타난 바와 같이, 0.075 mg/kg IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)의 단일 피하 용량 후에 원숭이에서 수집된 혈청 샘플에서, 항-IL2를 사용한 면역-포획 후에 IL2 및 CD25 대용물 펩티드의 비는 1에 근접하게 유지되었다. 상기 데이터는 IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212) (즉, 서열식별번호: 16)가 투여된 원숭이의 혈청에서 링커-절단의 부재를 시사한다.

## 도면

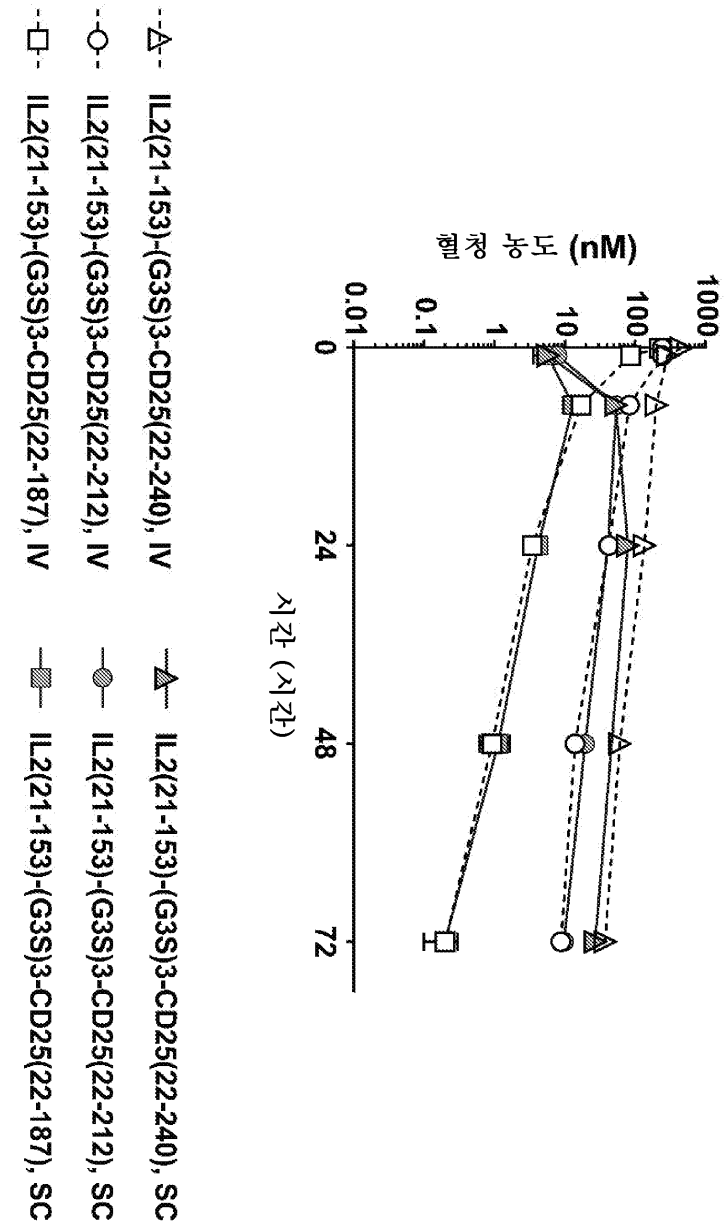
### 도면1



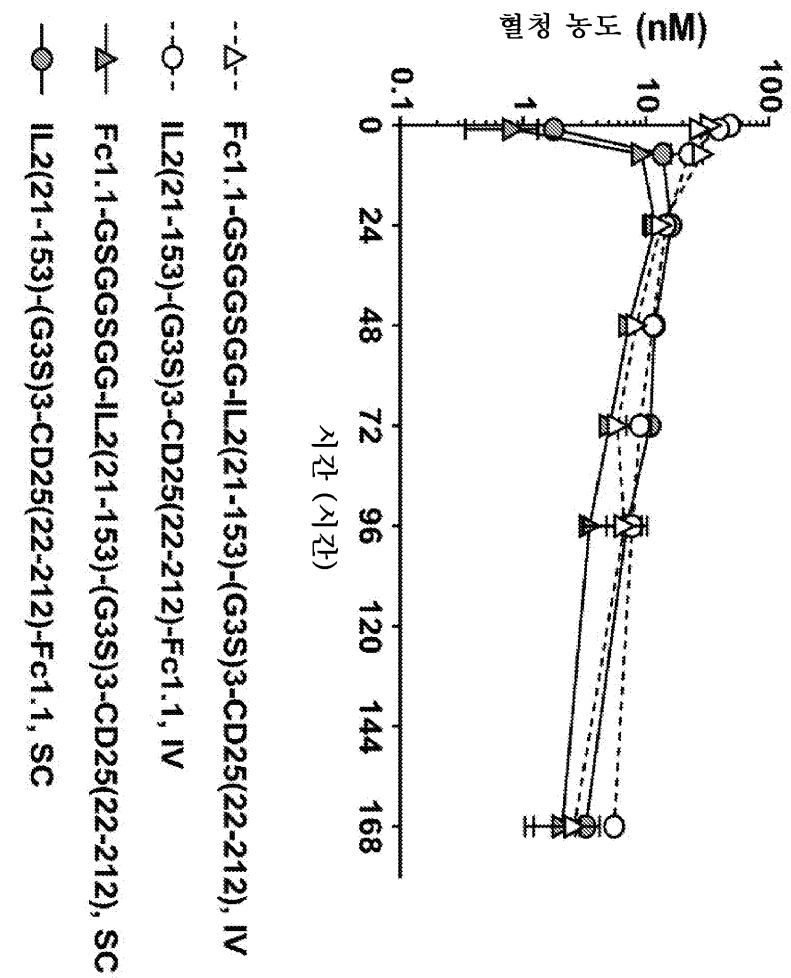
도면2



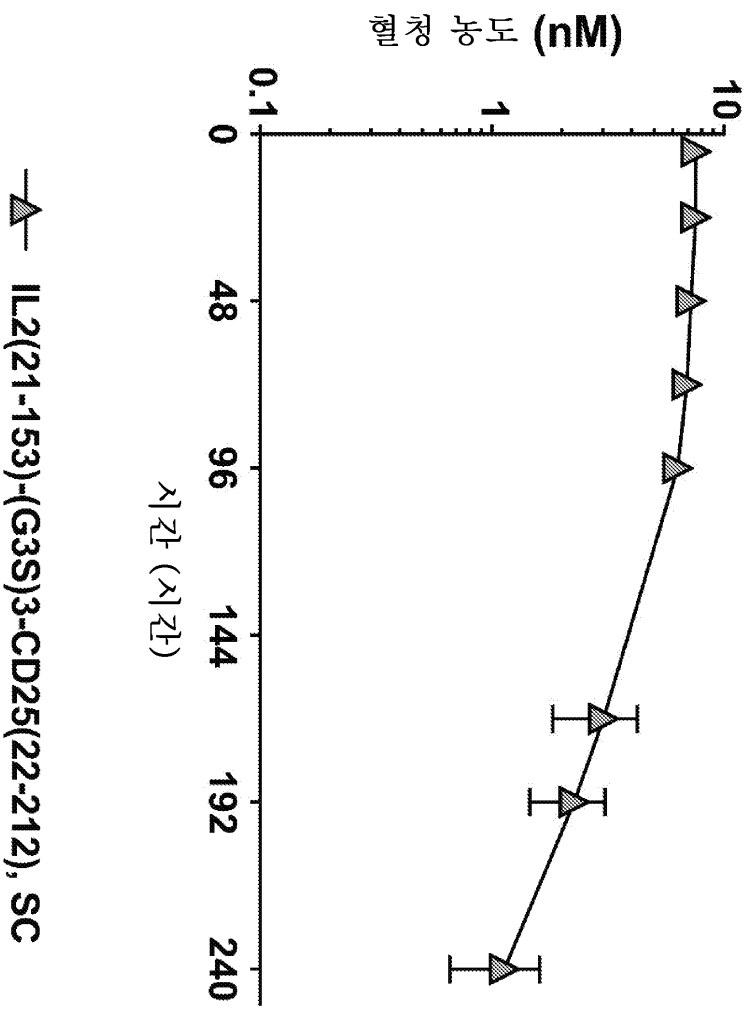
도면3


혈청 농도 (nM)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
24
48
72
시간 (시간)
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-187), SC

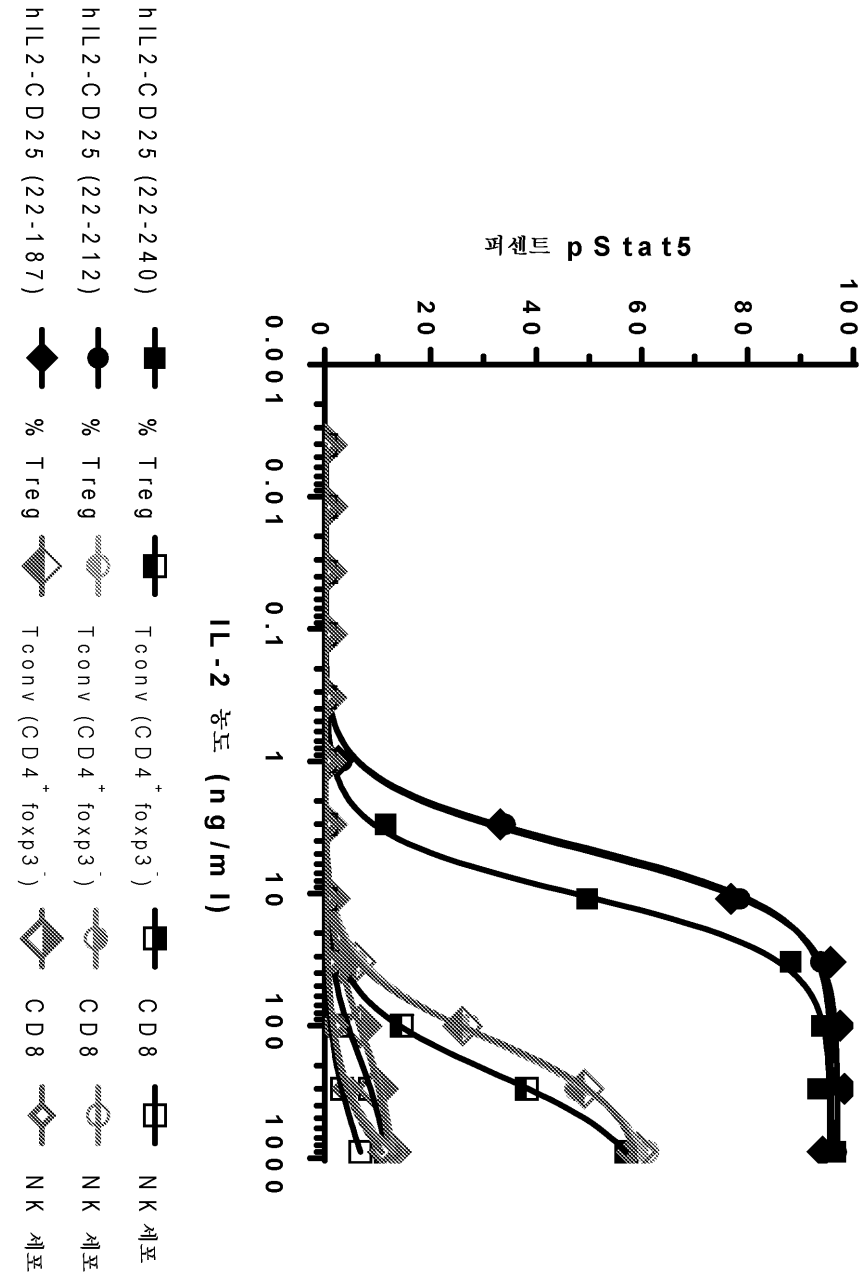
도면4


혈청 농도 (nM)
100
10
1
0.1
0
24
48
72
96
120
144
168
시간 (시간)
Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), IV
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1, IV
Fc1.1-GSGGSGG-IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212)-Fc1.1, SC

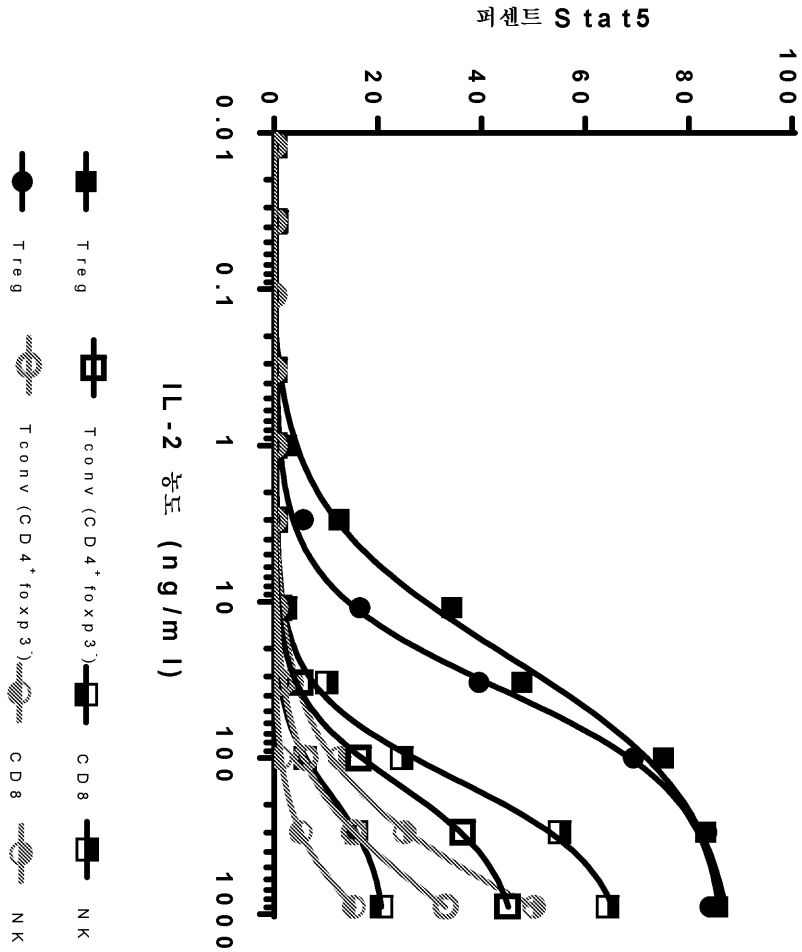
도면5


혈청 농도 (nM)
0.1
1
10
0
48
96
144
192
240
시간 (시간)
IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-212), SC

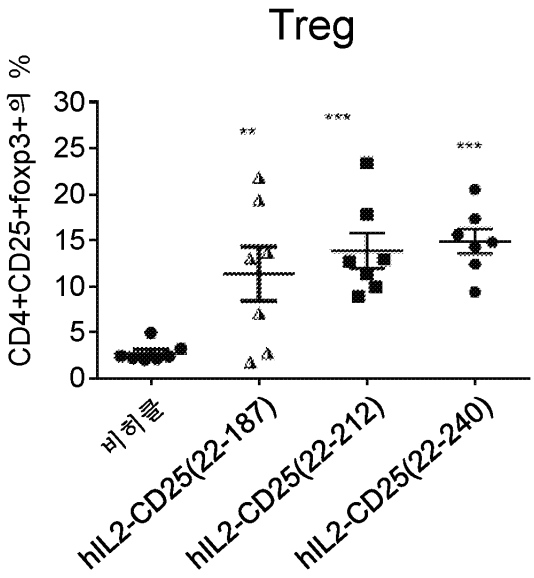
도면6


퍼센트 pStat5
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2 농도 (ng/ml)
hIL2-CD25 (22-240)
% Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK 세포
hIL2-CD25 (22-212)
% Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK 세포
hIL2-CD25 (22-187)
% Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
NK 세포

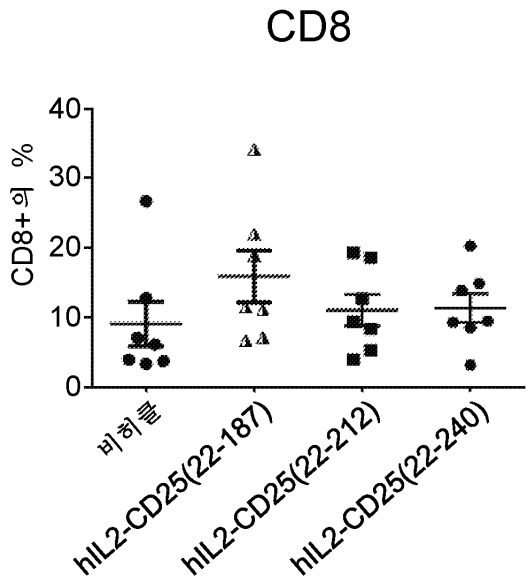
도면7


퍼센트 Stat5
0
20
40
60
80
100
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2 농도 (ng/ml)
Treg
Treg
Tconv (CD4+foxp3-)
Tconv (CD4+foxp3-)
CD8
CD8
NK
NK

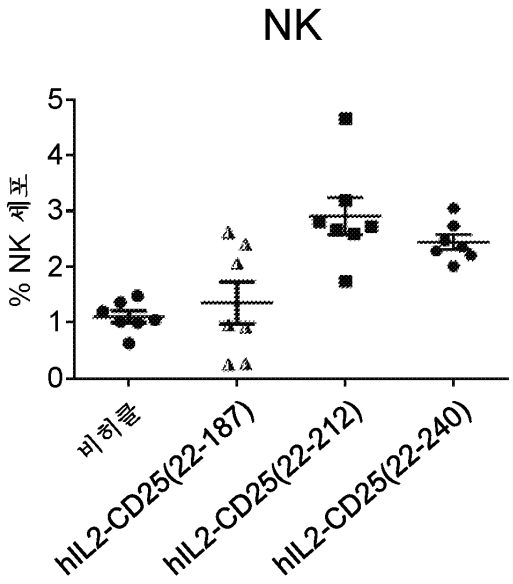
도면8a


Treg
CD4+CD25+foxp3+의 %
30
25
20
15
10
5
0
**
***
***
비히클
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)

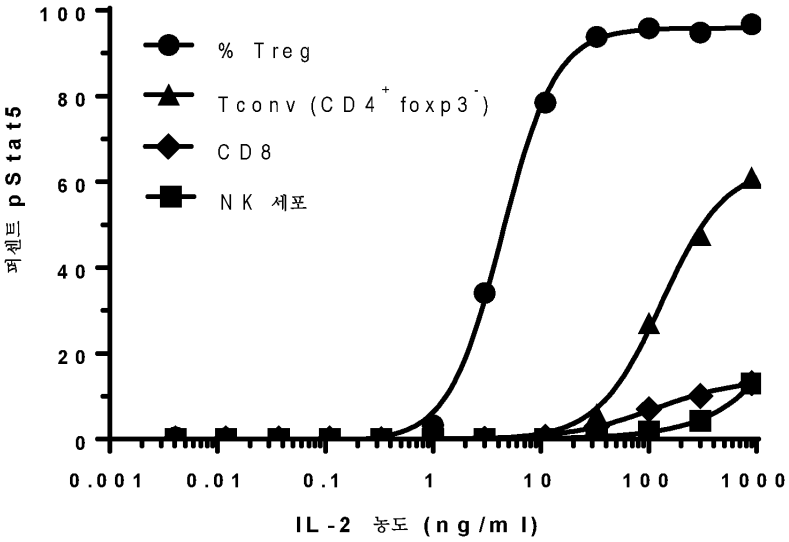
도면8b


CD8
CD8+의 %
40
30
20
10
0
비히클
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)

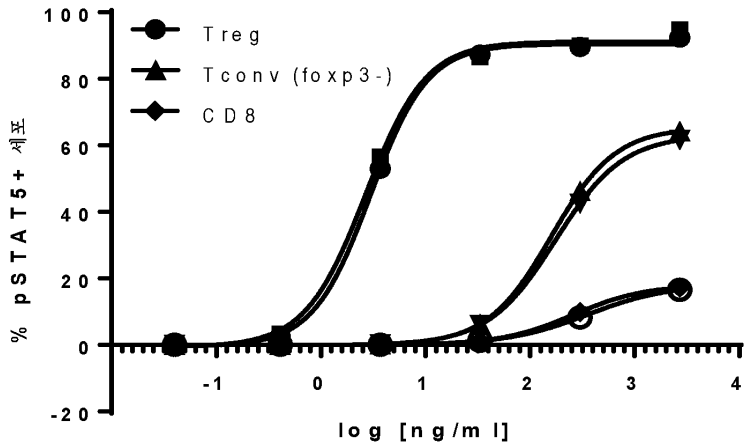
도면8c


NK
% NK 세포
5
4
3
2
1
0
비히클
hIL2-CD25(22-187)
hIL2-CD25(22-212)
hIL2-CD25(22-240)

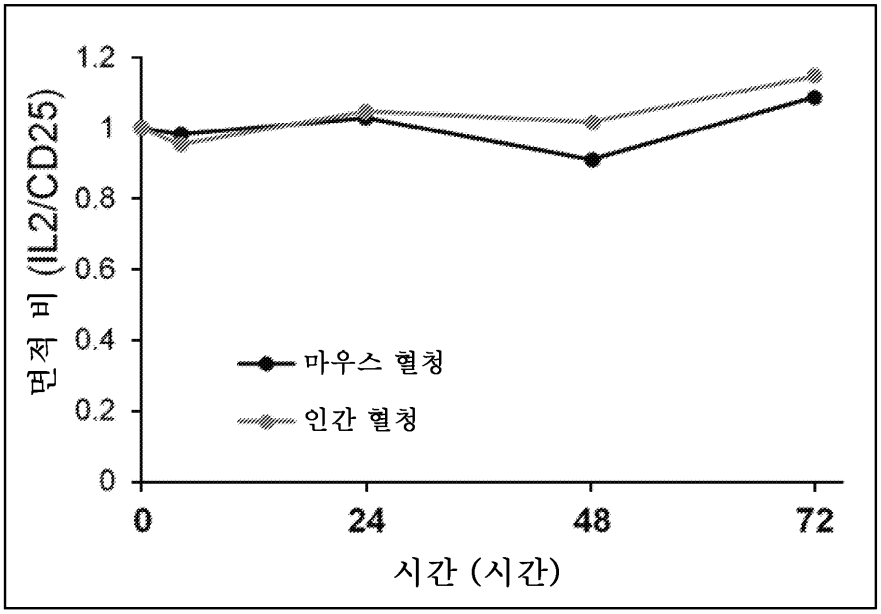
도면9a


100
80
60
40
20
0
퍼센트 pStat5
% Treg
Tconv (CD4+ foxp3-)
CD8
NK 세포
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
IL-2 농도 (ng/ml)

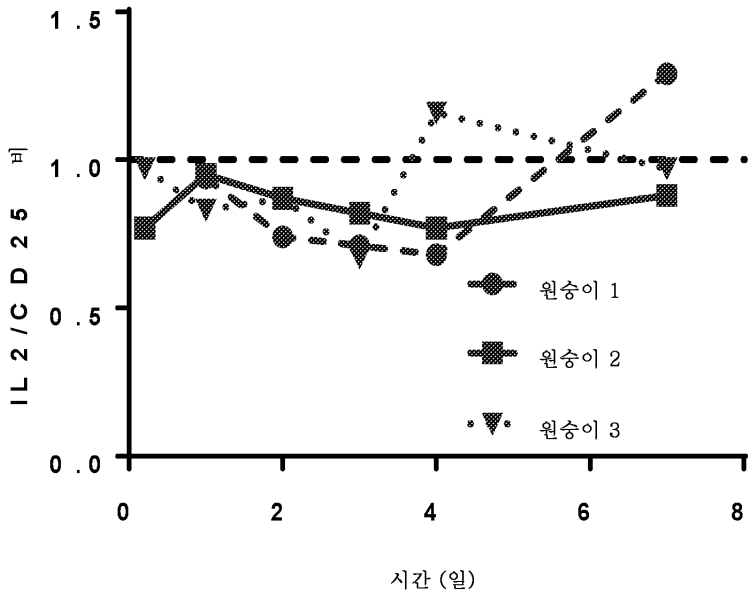
도면9b


100
80
60
40
20
0
-20
% pSTAT5+ 세포
Treg
Tconv (foxp3-)
CD8
-1
0
1
2
3
4
log [ng/ml]

도면10




도면11




서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Bristol-Myers Squibb Company

<120> INTERLEUKIN-2/INTERLEUKIN-2 RECEPTOR ALPHA FUSION PROTEINS AND METHODS OF USE

<130> 3338.100PC01/ELE/C-K/MKK

<150> US 62/649,379

<151> 2018-03-28

<160> 204

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2 (human, unprocessed)

<400> 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

<210> 2

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2 (human, mature form)

<400> 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 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> Artificial Sequence

<220><223> IL2 (mouse, unprocessed)

<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 Ser Thr Ala
20 25 30

Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln 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

<210> 4
<211> 149
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2 (mouse, mature form)
<400> 4
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
145

<210> 5

<211> 272

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> IL2R? (human, unprocessed form)

<400> 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

<210> 6

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2R? (human, mature form)

<400> 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 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 Leu Ser Gly Leu Thr Trp

225 230 235 240

Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile

245 250

<210> 7

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2R? (human, mature form of IL2R? extracellular domain)

<400> 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 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> Artificial Sequence

<220><223> IL2R? (mouse, unprocessed form)

<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 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 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> Artificial Sequence

<220><223> IL2R? (mouse, mature form)

<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 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 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> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2R? (mouse, mature form of IL2R? extracellular domain)

<400> 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 Ile Leu Arg Ala Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys

210 215

<210> 11

<211> 166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2R? (human, mature form of IL2R? extracellular domain) -
full-truncated

<400> 11

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

165

<210> 12

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2R? (human, mature form of IL2R? extracellular domain) - half-truncated

<400> 12

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
180 185 190

<210> 13
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2(C145S)-CD25(22-240)
<400> 13

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 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> 14

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145A)-CD25(22-240)

<400> 14

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro 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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 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> 15

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145V)-CD25(22-240)

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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 Val Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 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> 16

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-CD25(22-212)

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

<210> 17

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-CD25(22-187)

<400> 17

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr 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 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

305 310

<210> 18

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145A)-CD25(C213S, 22-240)

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe 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 Ala Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

Ser Leu Val Thr 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> 19

<211> 911

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HSA-(G4S)3- IL2-CD25(22-187)

<400> 19

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

515 520 525

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

530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys

595 600 605

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

610 615 620

Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu

625 630 635 640

Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu

645 650 655

Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu

660 665 670

Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn

675 680 685

Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met

690 695 700

Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg
705 710 715 720
Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly

725 730 735
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
740 745 750
Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
755 760 765
Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
770 775 780
Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp

785 790 795 800
Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
805 810 815
Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
820 825 830
Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
835 840 845
Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr

850 855 860
His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
865 870 875 880
Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
885 890 895
Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
900 905 910

<210> 20
<211> 923
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145A)-CD25(22-212)-GG-HSA

<400> 20

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu

340 345 350

Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr

355 360 365

Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val

370 375 380

Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys

385 390 395 400

Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala

405 410 415

Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln

420 425 430

Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro

435 440 445

Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala

450 455 460

Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile

465 470 475 480

Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala

485 490 495

Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys

500 505 510

Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys

515 520 525

Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe

530 535 540

Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg

545 550 555 560

Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu

565 570 575

Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala

580 585 590

Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser

595 600 605

Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys

610 615 620

Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu

625 630 635 640

Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn

645 650 655

Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr

660 665 670

Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala

675 680 685

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

690 695 700

His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu

705 710 715 720

Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu

725 730 735

Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys

740 745 750

Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu

755 760 765

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

770 775 780

Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val

785 790 795 800

Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr

805 810 815

Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp

820 825 830

Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His

835 840 845

Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln

850 855 860

Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu

865 870 875 880

Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys

885 890 895

Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys

900 905 910

Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

915 920

<210> 21

<211> 319

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145A)-CD25(22-192)-GGC

<400> 21

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

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu 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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Gly Gly Cys
305 310 315

<210> 22

<211> 337

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145A)-CD25(22-213)

<400> 22

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

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr 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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

<210> 23

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145A)- CD25(22-187, N70C)

<400> 23

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe 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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Cys 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
305 310

<210> 24
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2(C145A)-CD25(22-187, N89C)
<400> 24
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro 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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Cys 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
305 310

<210> 25
<211> 312
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2(C145A)-CD25(22-187)-C
<400> 25
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Cys

305 310

<210> 26

<211> 539

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human Fc1.1(f)-AZ1-IL2(C145S)-CD25(22-187)-G

<400> 26

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly

1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln

225 230 235 240

Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn

245 250 255

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

260 265 270

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu

275 280 285

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn

290 295 300

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val

305 310 315 320

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp

325 330 335

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

340 345 350

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

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

515 520 525

Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Gly

530 535

<210> 27

<211> 541

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(C145S)-CD25(22-187)- HuFc1.1(f)-AZ1

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
305 310 315 320
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
325 330 335
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
340 345 350
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
355 360 365

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
370 375 380
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
385 390 395 400
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
405 410 415
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
420 425 430

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro
435 440 445
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
450 455 460
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
465 470 475 480
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
485 490 495

Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
500 505 510
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
515 520 525
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
530 535 540

<210> 28

<400> 28

000

<210> 29

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-C145S-CD25(22-187)

<400

> 29

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

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

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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
305 310

<210> 30
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)
<400> 30
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

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

115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

305 310

<210> 31

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-CD25(22-240)-C213S

<400> 31

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 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
Ser Leu Val Thr 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> 32

<211

> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S

<400> 32

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

Ser Leu Val Thr 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> 33

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NativeSigPep-IL2-CD25(22-187)

<400> 33

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 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160
Ser Gly 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
325 330

<210> 34

<211> 358

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NativeSigPep-HuIL2-CD25(22-212)-PP

<400> 34

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 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160
Ser Gly 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 Pro Pro

355

<210> 35

<211> 365

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M-IL2(C145S)-CD25(C213S)

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His

65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu

85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335
Ser Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala
340 345 350
Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360 365

<210> 36

<211> 365
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> M-IL2(C145S)-CD25(C213S)
<400> 36
Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15
His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30
Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45
Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu

50 55 60
Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80
Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95
Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110
Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser

115 120 125
Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
145 150 155 160

Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
165 170 175
Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys

180 185 190
Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
195 200 205
Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
210 215 220
Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
225 230 235 240
Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp

245 250 255
Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
260 265 270
Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
275 280 285
Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
290 295 300
Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly

305 310 315 320
Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335
Ser Ser Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala
340 345 350
Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
355 360 365

<210> 37

<211> 337

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> M-IL2-C145A-CD25(22-212)

<400> 37

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

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80
Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95
Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110
Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
145 150 155 160
Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
165 170 175
Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
180 185 190

Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
195 200 205
Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
210 215 220
Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
225 230 235 240
Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp

245 250 255

Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
260 265 270
Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
275 280 285
Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
290 295 300
Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
305 310 315 320

Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335
Ser

<210> 38
<211> 337
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> M-IL2-C145A-CD25(22-212)
<400> 38
Met Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
1 5 10 15
His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro
35 40 45
Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60
Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
65 70 75 80
Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
100 105 110
Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
115 120 125
Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
145 150 155 160

Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
165 170 175
Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
180 185 190
Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
195 200 205
Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
225 230 235 240
Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
245 250 255
Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
260 265 270
Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
275 280 285

Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
290 295 300
Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
305 310 315 320
Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
325 330 335
Ser

<210> 39

<211> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Del-A21-IL2-CD(22-212)

<400> 39

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

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
115 120 125

Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
145 150 155 160
Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
165 170 175
Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

<210> 40

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-L2-CD25(22-212)

<400> 40

Ala Pro Ala 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 Ser Ser Gly Gly Ala Gly 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

<210> 41

<211> 344

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T3A-L3-CD(22-212)

<400> 41

Ala Pro Ala 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 Gly Gly

130 135 140

Ser 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

305 310 315 320

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

340

<210> 42

<400> 42

000

<210> 43

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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
305 310
<210> 44
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-240)-C213S
<400> 44
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

Ser Leu Val Thr 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> 45

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-CD25(22-187)

<400> 45

Ala Pro Ala 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 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
305 310

<210> 46
<211> 336
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-T23A-CD25(22-212)-T106A
<400> 46
Ala Pro Ala 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 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 Ala 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

<210> 47

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-CD25(22-212)-T95A

<400> 47

Ala Pro Ala 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 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 Ala 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

<210> 48

<400> 48

000

<210> 49

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-CD25(22-212)

<400> 49

Ala Pro Ala 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 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

<210> 50

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-212)

<400> 50

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

<210> 51
<211> 336
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-C145S-CD25(22-212)
<400> 51
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

<210> 52

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-C145S-CD25(22-212)

<400> 52

Ala Pro Ala 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 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 Ala Pro Gln Pro Glu Glu

210 215 220

Gln Lys Glu Arg Lys Ala 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

<210> 53

<211> 338

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-CD25(22-212)-PG

<400> 53

Ala Pro Ala 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 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

Pro Gly

<210> 54

<211> 311

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-CD25(22-187)

<400> 54

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 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
305 310

<210> 55
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)
<400> 55
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

305 310

<210> 56

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-CD25(22-240, C213S)

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu 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 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
Ser Leu Val Thr 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> 57

<211

> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Del-A21-IL2-CD(22-212)

<400> 57

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

50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile

115 120 125
Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
145 150 155 160
Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
165 170 175
Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly

180 185 190
Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
195 200 205
Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
210 215 220
Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
225 230 235 240
Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

<210> 58

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-L2-CD25(22-212)

<400> 58

Ala Pro Ala 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 Ser Ser Gly Gly Ala Gly 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

<210> 59

<211> 344

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-L3-CD25(22-212)

<400> 59

Ala Pro Ala 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 Gly Gly
130 135 140
Ser 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
305 310 315 320

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
340

<210> 60

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q

<400> 60

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

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

195 200 205

Ser Ala Thr Arg Gln 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

305 310

<210> 61

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q-N89Q

<400> 61

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

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

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
195 200 205

Ser Ala Thr Arg Gln 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
305 310

<210> 62
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)-N89Q
<400> 62

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

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Gln 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
305 310

<210> 63

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)-N70Q

<400

> 63

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

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Gln 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
305 310

<210> 64
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N89Q

<400> 64

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

50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Gln 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
305 310

<210> 65
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-C145S-CD25(22-187)-N70Q
<400> 65
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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 Gln 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

305 310

<210> 66

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2-T23A -C145S-CD25(22-187)

<400> 66

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly 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

305 310

<210> 67

<211> 569

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc1.1-7linker-IL2-CD25(22-212)

<400> 67

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly

1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
225 230 235 240
Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
245 250 255
Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
260 265 270
Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His

275 280 285

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
290 295 300
Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
305 310 315 320
Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
325 330 335
Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
340 345 350

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
355 360 365
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp
370 375 380
Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu
385 390 395 400
Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys
405 410 415

Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser
420 425 430
Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr
435 440 445
Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr
450 455 460
Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly
465 470 475 480

His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile
485 490 495
Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly
500 505 510
Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr
515 520 525

His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
530 535 540

Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro
545 550 555 560
Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
565

<210> 68
<211> 562
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-CD25(22-212)-Fc1.1
<400> 68
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe 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 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

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly

340 345 350

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

355 360 365

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

370 375 380

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

385 390 395 400

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

405 410 415

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

420 425 430

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile

435 440 445

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

450 455 460

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

465 470 475 480

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

485 490 495

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

500 505 510

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

515 520 525

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

530 535 540

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

545 550 555 560

Pro Gly

<210> 69

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(V111K)-CD25(22-212)

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro 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 Lys 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 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

<210> 70

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(D40T)-CD25(22-212)

<400> 70

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

1 5 10 15

Leu Leu Leu Thr 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 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

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> glycine linker

<400> 71

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

1 5 10

<210> 72

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> glycine linker

<400> 72

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> glycine linker

<400> 73

Gly Gly His His His His His His

1 5

<210> 74

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> glycine linker

<400> 74

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

1 5 10 15

<210> 75

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 75

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 76

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 76

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20

<210> 77

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 78

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

1 5 10 15

<210> 79

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 79

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 80

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 80

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 81

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 82

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 82

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 83

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 83

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 84

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Glycine Linker

<400> 84

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 85

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polyadenylation signal sequence

<400> 85

Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ser Ala Pro Ala

20

<210> 86

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polyadenylation signal sequence

<400> 86

Ala Ala Pro Ala Ser Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser

20

<210> 87

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polyadenylation signal sequence

<400> 87

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala

1 5 10 15

Ser Pro Ser Ser

20

<210> 88

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polyadenylation signal sequence

<400

> 88

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala

1 5 10 15

Ser Pro Ser

<210> 89

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polyadenylation signal sequence

<400> 89

Ser Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Ser Ser Pro Ala Ser Pro Ser Pro

1 5 10 15

Ser Ser Pro Ala

20

<210> 90

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polyadenylation signal sequence

<400> 90

Ala Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Pro

1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala

20

<210> 91

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> polyadenylation signal sequence

<400> 91

Ala Ser Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ser Ala Pro

1 5 10 15

Ser Ala Ala Ala

20

<210> 92

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2 leader optimized Kozak sequenc

<400> 92

gccaccatgg acaggatgca actcctgtct tgcattgcac taagtcttgc acttgtcaca 60

aacagt 66

<210> 93

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FC region

<400> 93

His Gln Ser Leu Gly Thr Gln

1 5

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FC region

<400> 94

His Gln Asn Leu Ser Asp Gly Lys

1 5

<210> 95

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FC region

<400> 95

His Gln Asn Ile Ser Asp Gly Lys

1 5

<210> 96

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FC region

<400> 96

Val Ile Ser Ser His Leu Gly Gln

1 5

<210> 97

<211> 35

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> glycine linker

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Ser

35

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FC region

<400> 98

Pro Lys Asn Ser Ser Met Ile Ser Asn Thr Pro

1 5 10

<210> 99

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> kozak sequence

<400> 99

gccaccatgg 10

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> His tag

<400> 100

Gly Gly His His His His His His

1 5

<210> 101

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(21-153)

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210

> 102

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(21-153)(C145S)

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 103

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(21-153)(C145A)

<400> 103

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 Ala Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 104

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(21-153)(C145V)

<400> 104

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 Val Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 105

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(21-153)(T23A)

<400> 105

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210

> 106

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(21-153)(T23A+C145S)

<400> 106

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr
130
<210> 107
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2(21-153)(T23A+C145A)
<400> 107
Ala Pro Ala 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 Ala Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 108
<211> 153
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> NativeSigPep-IL2(1-153)
<400> 108

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85 90 95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145 150

<210> 109

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M-IL2(C145S)

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His

65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu

85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 110

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M-IL2(C145A)

<400> 110

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His

65 70 75 80

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu

85 90 95

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 111

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Del-A21-IL2

<400> 111

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110

Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 112

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Del-A21-IL2(C145S)

<400> 112

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110

Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 113

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Del-A21-IL2(C145A)

<400> 113

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 114

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(V111K)

<400> 114

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 Lys 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> 115

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL2(D40T)

<400> 115

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210

> 116

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L1-(G3S)3

<400> 116

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

1 5 10

<210> 117

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L2-G2S2

<400> 117

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 118

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L3-(G3S)5

<400> 118

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L4-(G2S)3

<400> 119

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 120

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L5-(G2S)5

<400> 120

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

1 5 10 15

<210> 121

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L6-GGEEE

<400> 121

Gly Gly Glu Glu Glu Gly Gly Glu Glu Glu Gly Ser

1 5 10

<210> 122

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L7-12mer_Stiff

<400> 122

Glu Ser Pro Glu Pro Glu Thr Pro Glu Asp Glu Ser

1 5 10

<210> 123

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L8-22mer_Helix

<400

> 123

Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln

1 5 10 15

Glu Glu Arg Glu Thr Lys

20

<210> 124

<211> 1

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L9-G

<400> 124

Gly

1

<210> 125

<211> 2

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L10-GG

<400> 125

Gly Gly

1

<210> 126

<211> 1

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L11-S

<400> 126

Ser

1

<210> 127

<211> 2

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12-GS

<400> 127

Gly Ser

1

<210> 128

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-240)

<400> 128

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 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> 129
<211> 191

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-212)
<400> 129
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

180 185 190

<210> 130

<211> 166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-187)

<400> 130

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
165

<210> 131
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-240)(C213S)
<400> 131
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 Ser
180 185 190

Leu Val Thr 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> 132
<211> 174
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-192)-GGC
<400> 132
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 Gly Gly Cys
165 170

<210> 133
<211> 192
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-213)
<400> 133
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

<210> 134
<211> 166
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-187)(N70C)
<400> 134
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
Cys 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

165

<210> 135

<211> 166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-187)(N89C)

<400> 135

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 Cys 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

165

<210> 136

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-187)-C

<400> 136

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 Cys
165

<210> 137

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-187)-G

<400> 137

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 Gly
165

<210> 138

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-212)-PP

<400> 138

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 Pro

180 185 190

Pro

<210> 139

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-212)(T106A)

<400> 139

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 Ala 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

180 185 190

<210> 140

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-212)(T95A)

<400> 140

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 Ala 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
180 185 190

<210> 141
<211> 191
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-212)(T95A+T106A)
<400> 141
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 Ala Pro Gln Pro Glu Glu Gln
65 70 75 80
Lys Glu Arg Lys Ala 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
180 185 190

<210> 142
<211> 193
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-212)-PG
<400> 142
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 Pro
180 185 190
Gly

<210> 143
<211> 166
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-187)(N70Q+N89Q)
<400> 143
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
Gln Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
50 55 60

Ala Thr Arg Gln 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
165

<210> 144
<211> 166
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-187)(N89Q)
<400> 144
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 Gln 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 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
165

<210> 145
<211> 166
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-187)(N70Q)
<400> 145
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

Gln 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
165

<210> 146

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-211)

<400> 146

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
180 185 190

<210> 147
<211> 189
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-210)
<400> 147
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

180 185

<210> 148

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-209)

<400> 148

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
180 185

<210> 149
<211> 187
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-208)
<400> 149

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
180 185

<210> 150

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-207)

<400> 150

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
180 185

<210> 151

<211> 185

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-206)

<400> 151

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
180 185

<210> 152

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-205)

<400> 152

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
180

<210> 153

<211> 183

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-204)

<400> 153

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
180

<210> 154

<211> 182

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-203)

<400> 154

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
180

<210> 155
<211> 181
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-202)
<400> 155
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
180

<210> 156
<211> 180
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-201)
<400> 156

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
180

<210> 157

<211> 179

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-200)

<400> 157

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

<210> 158
<211> 178
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-199)
<400> 158
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

<210> 159
<211> 177
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-198)
<400> 159
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

<210> 160
<211> 176
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-197)
<400> 160
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

<210> 161
<211> 175
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-196)
<400> 161

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
165 170 175

<210> 162
<211> 174
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-195)
<400> 162
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
165 170

<210> 163
<211> 173
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD25(22-194)
<400> 163
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

165 170

<210> 164

<211> 172

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-193)

<400> 164

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
165 170

<210> 165

<

211> 171

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-192)

<400> 165

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
165 170

<210> 166

<211> 170

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-191)

<400> 166

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
165 170

<210> 167

<211> 169

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-190)

<400> 167

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

165

<210> 168

<211> 168

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-189)

<400> 168

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
165

<210> 169

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD25(22-188)

<400> 169

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 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
165

<210> 170
<211> 1
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Linker sequence
<400> 170
Gly
1

<210> 171
<211> 2
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Linker sequence
<400> 171
Gly Gly
1

<210> 172
<211> 2
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Linker sequence
<400> 172

Gly Ser

1

<210> 173

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Linker sequence

<400> 173

Gly Gly Ser

1

<210> 174

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 174

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 175

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 175

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 176

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 176

Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 177

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 178

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 178

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 179

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 180

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 181

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 181

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 182

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 182

Glu Pro Lys Ser Ser

1 5

<210> 183

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 183

Pro Lys Ser Ser

1

<210> 184

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 184

Lys Ser Ser

1

<210> 185

<211> 2

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker sequence

<400> 185

Ser Ser

1

<210> 186

<211> 1

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Linker sequence

<400> 186

Ser

1

<210> 187

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG1-Fc

<400> 187

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225

<210> 188
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1.1-Fc
<
400> 188

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

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225

<210> 189
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1.3-Fc
<400> 189
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225
<210> 190
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1-Fc(P238K)
<400> 190

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225
<210> 191

<211> 229

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG4-Fc

<400> 191

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys

225

<210> 192

<211> 229

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> IgG4.1-F c

<400> 192

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

100 105 110

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

115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 193
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1.3-Fc-knob
<400> 193

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225

<210> 194
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1.3-Fc-hole
<400> 194
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15
Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 195
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1-Fc(P238K)-knob
<400> 195

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225

<210> 196
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1-Fc(P238K)-hole

<400> 196
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225

<210> 197
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG1.1-Fc(AZ1)
<400> 197
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly

1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225
<210> 198
<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG1.1-Fc(AZ2)

<400> 198

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly
225

<210> 199

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human Serum Albumin

<400> 199

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

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

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 200
<211> 585
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> HSA(C34S)
<400> 200
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

355 360 365

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

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

420 425 430

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

435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

515 520 525

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

530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

580 585

<210> 201

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HSA(C35A)

<400> 201

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

355 360 365

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

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 202
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2-T3A-CD25(22-187)-N89Q-T95A-T106A
<400> 202

Ala Pro Ala 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 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 Gln Thr Thr Lys Gln Val Ala Pro Gln Pro Glu Glu
210 215 220
Gln Lys Glu Arg Lys Ala 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

305 310

<210> 203

<211> 569

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc-(IL2(V91K)CD25)2 bivalent

<400> 203

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
225 230 235 240

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
245 250 255

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
260 265 270

Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
275 280 285

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
290 295 300

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
305 310 315 320

Asn Ile Asn Lys Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
325 330 335

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
340 345 350

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
355 360 365

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp
370 375 380

Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu
385 390 395 400
Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys
405 410 415

Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser
420 425 430
Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr
435 440 445
Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr
450 455 460
Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly
465 470 475 480

His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile
485 490 495
Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly
500 505 510
Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr
515 520 525
His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu
530 535 540

Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro
545 550 555 560
Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
565

<210> 204
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL2(21-153)-(G3S)3-CD25(22-240)
<400> 204
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 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 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