



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0047598
(43) 공개일자 2022년04월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/60 (2017.01) A61K 38/20 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/60 (2017.08)
A61K 38/2013 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7008170
(22) 출원일자(국제) 2020년08월14일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년03월11일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/046419
(87) 국제공개번호 WO 2021/030706
국제공개일자 2021년02월18일
(30) 우선권주장
62/887,400 2019년08월15일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
신평스, 인크.
미국 캘리포니아 (우편번호 92037) 라 졸라 엔.
토레이 파인스 로드 11099 스위트 190
(72) 발명자
프타신, 제로드
미국 92037 캘리포니아주 라 호야 노스 토리 파인
즈 로드 11099 스위트 190
카파로, 캐롤리나 이.
미국 92037 캘리포니아주 라 호야 노스 토리 파인
즈 로드 11099 스위트 190
밀라, 마르코스
미국 92037 캘리포니아주 라 호야 노스 토리 파인
즈 로드 11099 스위트 190
(74) 대리인
양영준, 장덕순

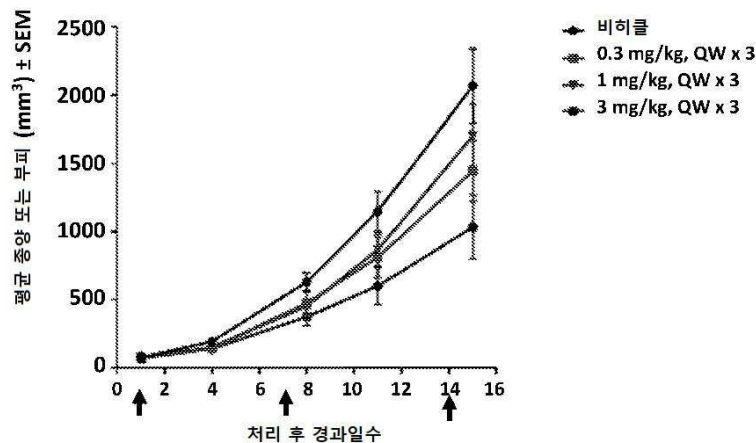
전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 IL-2 콘주게이트를 사용한 면역 종양학 병용 요법

(57) 요약

하나 이상의 적응증의 치료, 예컨대 증식성 질환의 치료에 유용한, 다른 제제 또는 방법들과 조합하여, 인터류킨 (IL) 콘주게이트(예를 들어, IL-2 콘주게이트)를 포함하는 조성물, 키트 및 방법이 본원에 개시된다. 하나 이상의 인터류킨 콘주게이트(예를 들어, IL-2 콘주게이트)를 포함하는 약제학적 조성물 및 키트가 또한 본원에 기술된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 39/3955 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/903,187 2019년09월20일 미국(US)

62/962,668 2020년01월17일 미국(US)

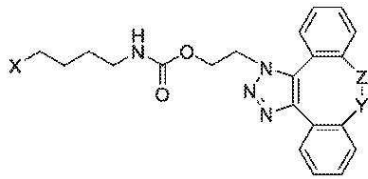
명세서

청구범위

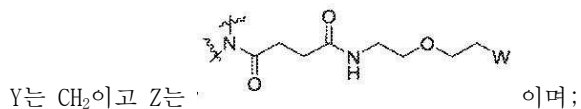
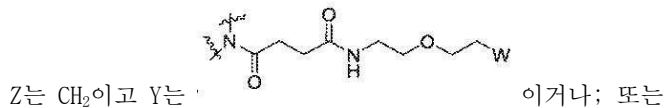
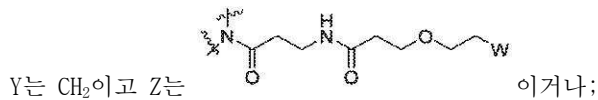
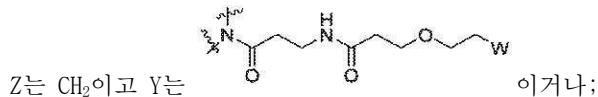
청구항 1

대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 면역 관문 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 I의 구조로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[화학식 I]

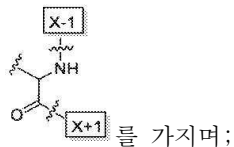


식 중,



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

X는 하기 구조:



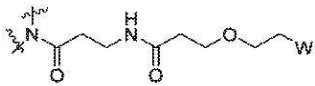
X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

SEQ ID NO: 3의 화학식 I의 구조 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.

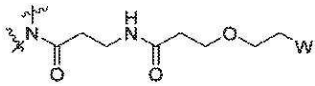
청구항 2

제1항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH₂이고, Y는 인, 방법.

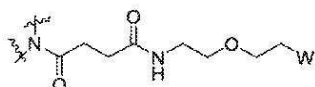
청구항 3

제1항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH₂이고, Z는 인, 방법.

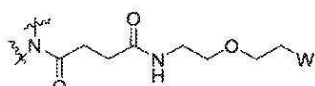
청구항 4

제1항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH₂이고, Y는 인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH₂이고, Z는 인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

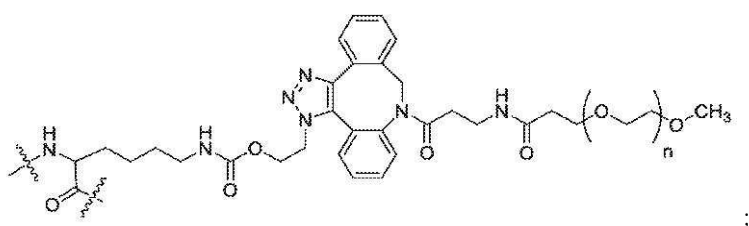
상기 IL-2 콘쥬게이트에서 SEQ ID NO: 3의 화학식 I의 구조 위치는 P64인, 방법.

청구항 9

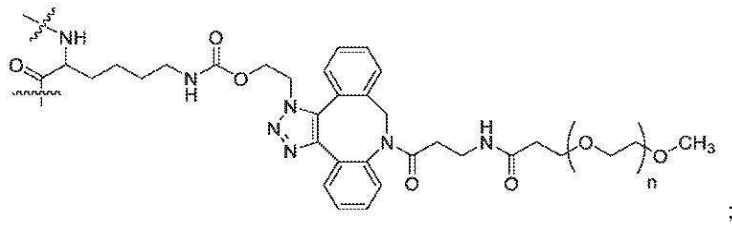
제1항에 있어서,

화학식 I의 구조가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조를 갖거나, 화학식 X 및 화학식 XI의 혼합물인, 방법:

[화학식 X]



[화학식 XI]



식 중,

n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타내는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 SEQ ID NO: 3의 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조 위치는 P64인, 방법.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 IL-2 콘쥬게이트에서 n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수인, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

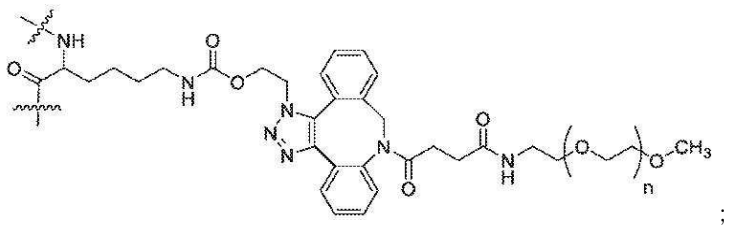
상기 IL-2 콘쥬게이트에서 n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수인, 방법.

청구항 13

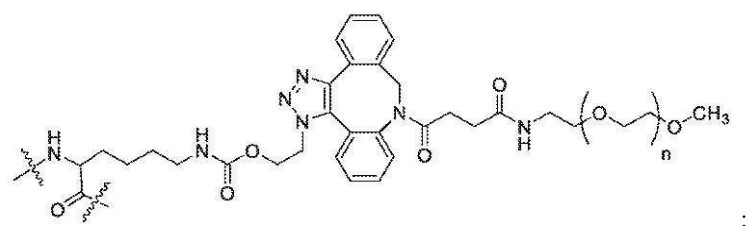
제1항에 있어서,

화학식 I의 구조가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조를 갖거나, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 혼합물이며:

[화학식 XII]



[화학식 XIII]



식 중,

n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타내는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 IL-2 콘주게이트에서 SEQ ID NO: 3의 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조 위치는 P64인, 방법.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서,

상기 IL-2 콘주게이트에서 n 은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수인, 방법.

청구항 16

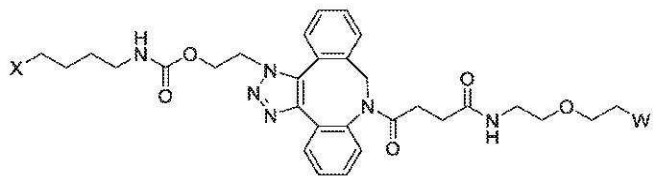
제15항에 있어서,

상기 IL-2 콘주게이트에서 n 은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수인, 방법.

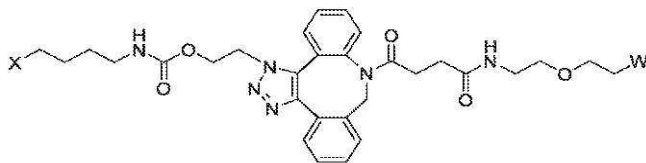
청구항 17

대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 면역 관문 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 가지거나, 화학식 IV 및 화학식 V의 구조의 혼합물이며:

[화학식 IV]



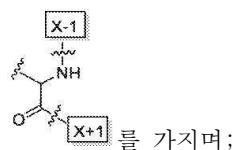
[화학식 V]



식 중,

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

X는 하기 구조:



X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,

W는 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

청구항 19

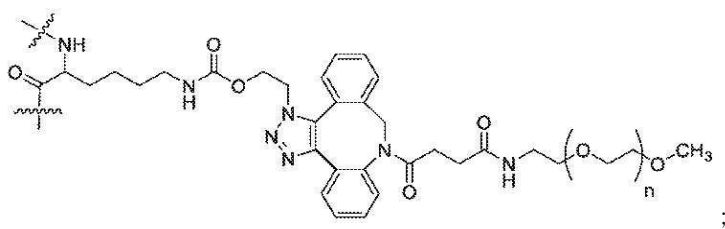
제18항에 있어서,

W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

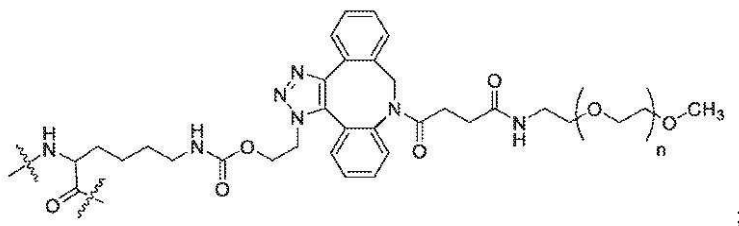
청구항 20

대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 면역 관문 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조를 가지거나, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 구조의 혼합물이며:

[화학식 XII]



[화학식 XIII]



식 중,

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

물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 50 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타내는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하나 이상의 면역 관문 억제제는 하나 이상의 PD-1 억제제인, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서,

상기 하나 이상의 PD-1 억제제는 펌브롤리주맙, 니볼루맙 및 세미플리맙으로부터 선택되는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서,

상기 하나 이상의 PD-1 억제제는 펌브롤리주맙인, 방법.

청구항 24

제22항에 있어서,

상기 하나 이상의 PD-1 억제제는 니볼루맙인, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,

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

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-2 콘주게이트는 대상체에게 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회 또는 8주에 1회 투여되는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-2 콘주게이트는 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2019년 8월 15일자로 출원된 미국 가출원 제62/887,400호; 2019년 9월 20일자로 출원된 미국 가출원 제62/903,187호; 및 2020년 1월 17일자로 출원된 미국 가출원 제62/962,668호의 우선권을 주장하며, 이들 각각의 개시내용은 그 전체가 참조로 본원에 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원에는 ASCII 형식으로 전자 제출되었고 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 서열 목록이 포함된다. 2020년 8월 12일에 생성된 상기 ASCII 사본은 명칭이 2020-08-12_01183-0073-00PCT_seq_listing.txt이며, 용량이 128,000 바이트이다.

배경 기술

[0005] 서로 다른 T 세포 집단은 면역 항상성 및 관용을 유지하도록 면역계를 조절한다. 예를 들어, 조절 T(Treg) 세포는 병리학적 자가-반응성을 방지함으로써 면역계에 의한 부적절한 반응을 방지하는 반면, 세포독성 T 세포는 감염된 세포 및/또는 암세포를 표적화하고 파괴한다. 일부 예에서, 상이한 T 세포 집단의 조절은 질환 또는 적응증의 치료에 대한 옵션을 제공한다. 어떤 경우에는, 병용 요법에서 추가의 제제 또는 방법이 있으면 유익하다.

[0006] 따라서, 일 양태에서, IL-2 콘주게이트를 하나 이상의 면역 관문 억제제와 병용하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

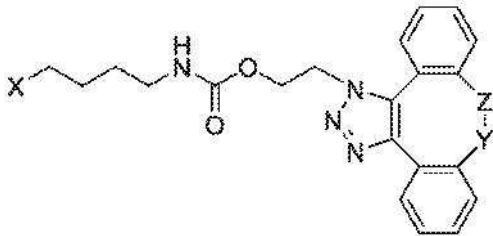
발명의 내용

과제의 해결 수단

[0007] 특정 실시형태에서, 암을 치료하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 하기 실시형태들이 포함된다.

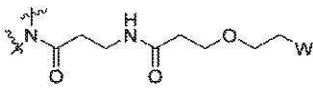
[0008] 실시형태 A1은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 면역 관문 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 I의 구조로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

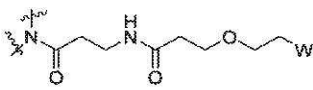
[0009] [화학식 I]

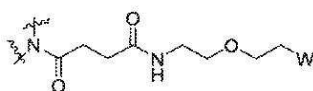


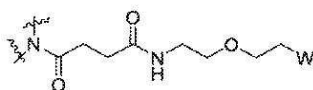
[0010]

[0011] 식 중,

[0012] Z는 CH₂이고 Y는  이거나;

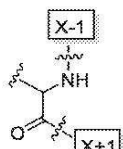
[0013] Y는 CH₂이고 Z는  이거나;

[0014] Z는 CH₂이고 Y는  이거나; 또는

[0015] Y는 CH₂이고 Z는  이며;

[0016] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0017] X는 하기 구조:



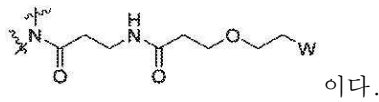
[0018] 를 가지며;

[0019] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

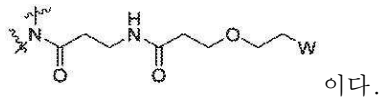
[0020] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내며;

[0021] SEQ ID NO: 3의 화학식 I의 구조 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다.

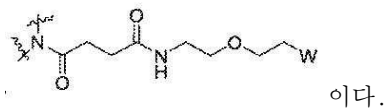
[0022] 실시형태 A2는 실시형태 A1에 따른 방법으로서, IL-2 콘주게이트에서 Z가 CH₂이고 Y는



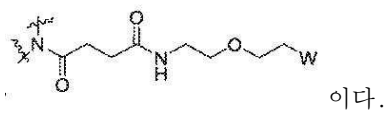
[0023] 실시형태 A3은 실시형태 A1에 따른 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y가 CH_2 이고 Z는



[0024] 실시형태 A4는 실시형태 A1에 따른 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z가 CH_2 이고 Y는



[0025] 실시형태 A5는 실시형태 A1에 따른 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y가 CH_2 이고 Z는



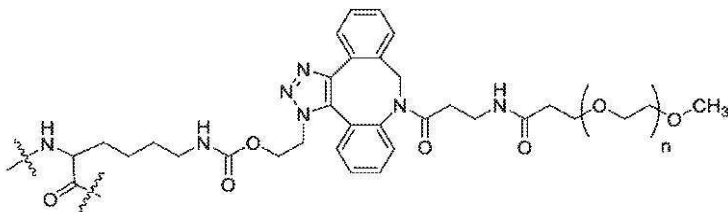
[0026] 실시형태 A6은 실시형태 A1 내지 A5 중 어느 하나에 따른 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기가 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는다.

[0027] 실시형태 A7은 실시형태 A6에 따른 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기가 30 kDa의 평균 분자량을 갖는다.

[0028] 실시형태 A8은 실시형태 A1 내지 A7 중 어느 하나에 따른 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 SEQ ID NO: 3의 화학식 I의 구조 위치가 P64이다.

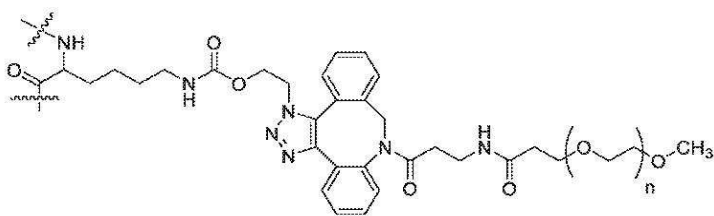
[0029] 실시형태 A9는 실시형태 A1의 방법으로서, 화학식 I의 구조가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조를 갖거나, 화학식 X 및 화학식 XI의 혼합물이며;

[0030] [화학식 X]



[0031] ;

[0032] [화학식 XI]



[0033] ;

[0034] 식 중,

[0035] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0036] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0037] 실시형태 A10은 실시형태 A9의 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 SEQ ID NO: 3의 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조 위치가 P64이다.

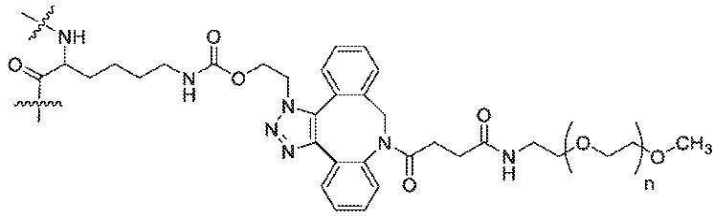
[0038] 실시형태 A11은 실시형태 A9 또는 A10의 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 n은 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{OCH}_3$ 이 약 25 kDa,

30 kDa, 또는 35 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.

[0039] 실시형태 A12는 실시형태 A11의 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 n 은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.

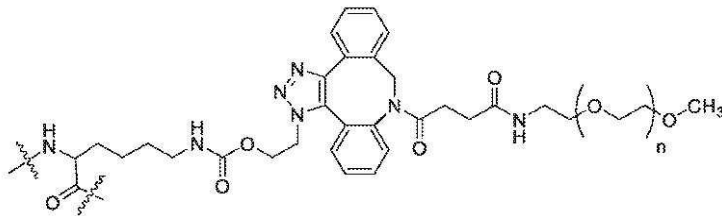
[0040] 실시형태 A13은 실시형태 A1의 방법으로서, 화학식 I의 구조가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조를 갖거나, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 혼합물이다.

[0041] [화학식 XII]



[0042] ;

[0043] [화학식 XIII]



[0044] ;

[0045] 식 중,

[0046] n 은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0047] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

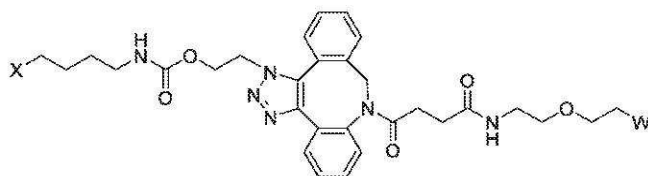
[0048] 실시형태 A14는 실시형태 A13의 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 SEQ ID NO: 3의 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조 위치가 P64이다.

[0049] 실시형태 A15는 실시형태 A13 또는 A14의 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 n 은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.

[0050] 실시형태 A16은 실시형태 A15의 방법으로서, IL-2 콘쥬게이트에서 n 은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.

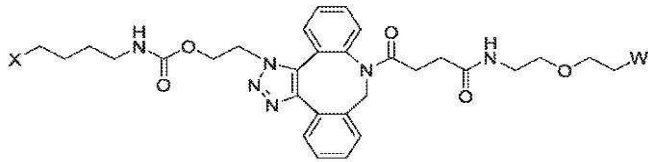
[0051] 실시형태 A17은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 면역 관문 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 가지거나, 화학식 IV 및 화학식 V의 구조의 혼합물이며:

[0052] [화학식 IV]



[0053] ;

[0054] [화학식 V]

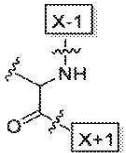


[0055] ;

[0056] 식 중,

[0057] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0058] X는 하기 구조:



[0059] 를 가지며;

[0060] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

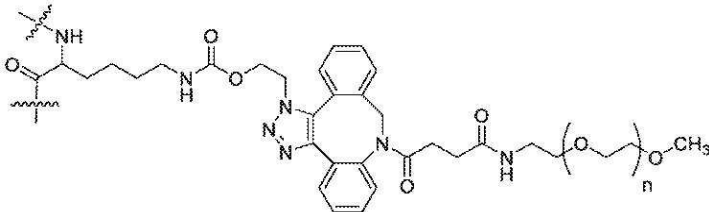
[0061] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0062] 실시형태 A18은 실시형태 A17에 따른 방법으로서, W가 25 kDa, 30 kDa, 또는 35 kD로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0063] 실시형태 A19는 실시형태 A18에 따른 방법으로서, W가 30 kD의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

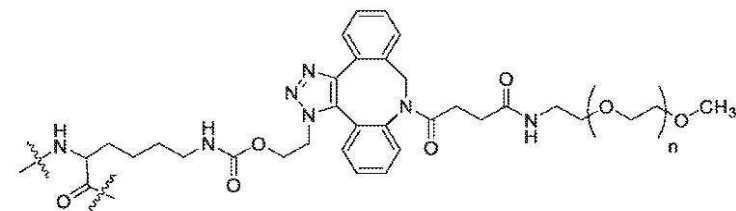
[0064] 실시형태 A20은 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 면역 관문 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 포함하며, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조를 가지거나, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 구조의 혼합물이며:

[0065] [화학식 XII]



[0066] ;

[0067] [화학식 XIII]



[0068] ;

[0069] 식 중,

[0070] n은 $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$ 이 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이며; 그리고

[0071] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 50 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0072] 실시형태 A21은 실시형태 A1 내지 A20 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 하나 이상의 면역 관문 억제제가 하나 이상의 PD-1 억제제이다.

[0073] 실시형태 A22는 실시형태 A21에 따른 방법으로서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 펩트릭리주맵, 니볼루맵 및 세미

플리맵으로부터 선택된다.

[0074] 실시형태 A23은 실시형태 A22에 따른 방법으로서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 펩트릭리주맵이다.

[0075] 실시형태 A24는 실시형태 A22에 따른 방법으로서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 니볼루맵이다.

[0076] 실시형태 A25는 실시형태 A1 내지 A24 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 암이 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 고전적 호지킨 림프종(cHL), 원발성 종격동 거대 B 세포 림프종(PMBCL), 요로상피 암종, 현미부수체 불안정 암, 현미부수체 안정 암, 위암, 결장암, 대장암(CRC), 자궁경부암, 간세포 암종(HCC), 메르켈 세포 암종(MCC), 흑색종, 소세포폐암(SCLC), 식도암, 식도 편평세포암종(ESCC), 교모 세포종, 중피종, 유방암, 삼중 음성 유방암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암, 전이성 거세 저항성 전립선암, 또는 DNA 손상 반응(DDR) 결함이 있는 전이성 거세 저항성 전립선암, 방광암, 난소암, 중등도 내지 저 돌연변이 부담 종양, 피부 편평 세포 암종(CSCC), 편평 세포 피부암(SCSC), 저-발현 내지 비-발현 PD-L1 종양, 해부학적 원발 기원 부위를 넘어 간 및 CNS에 전신적으로 파종된 종양, 및 미만성 거대 B-세포 림프종으로부터 선택된다.

[0077] 실시형태 A26은 실시형태 A1 내지 A25 중 어느 하나에 따른 방법으로서, IL-2 콘주게이트가 대상체에게 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회 또는 8주에 1회 투여된다.

[0078] 실시형태 A27은 실시형태 A1 내지 A26 중 어느 하나에 따른 방법으로서, IL-2 콘주게이트가 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여된다.

[0079] 실시형태 A28은 실시형태 A1 내지 A27 중 어느 하나에 따른 방법으로서, IL-2 콘주게이트가 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물이다.

도면의 간단한 설명

[0080] 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 실시형태를 설명하는 이하의 상세한 설명 및 첨부 도면을 참조함으로써 본 발명의 특징 및 장점에 대해 더 잘 이해하게 될 것이다.

도 1은 실시예 11에서의 연구 1로부터 QWx3 일정에 따라 IV 투여된 화합물 A의 항종양 활성 그래프를 나타낸다. 검정색 화살표는 화합물 A를 투여한 날짜를 표시한다.

도 2는 실시예 11에서의 연구 1로부터 QWx3 일정에 따라 IV 투여된 화합물 A의 종양 부피의 그래프를 나타낸다.

도 3은 실시예 11의 연구 1로부터의 화합물 A로 QWx3 투여를 처리한 각 동물에 대한 치료 후 15일차의 종양 부피를 나타낸다. 검정색 화살표는 화합물 A를 투여한 날짜를 표시한다.

도 4는 실시예 11의 연구 1로부터의 화합물 A로 Q2Wx2 투여를 처리한 각 동물에 대한 치료 후 15일차의 종양 부피를 나타낸다.

도 5는 실시예 11의 연구 2로부터의, 비히클, 단일 작용제로서의 6 mg/kg 화합물 A, 단일 작용제로서의 항-PD-1 항체, 및 6 mg/kg 화합물 A 및 항-PD-1 항체의 조합물로 마우스를 처리한 결과의 평균 종양 성장 곡선을 나타낸다. 검정색 화살표는 화합물 A를 투여한 날짜를 표시한다.

도 6은 실시예 11의 연구 2로부터의, 비히클, 화합물 A 단독 또는 항-PD-1 항체 단독으로 처리된 군과 비교하여, 화합물 A 및 항-PD-1 항체의 조합물로 처리된 군에서 치료 후 15일차의 %TGI 데이터의 그래프를 나타낸다. *p<0.05, **p<0.01, 및 ***p<0.01; 대 비히클 대조군. ⁺p<0.05 대 항-PD-1 항체. #p<0.05 대 화합물 A. 데이터는 평균 종양 부피 ± SEM(14마리 마우스/그룹)을 나타낸다.

도 7은 실시예 11의 연구 2로부터의 처리군에 대한 카플란-마이어 생존 곡선의 그래프를 나타낸다. *p<0.05 대 비히클 대조군. ⁺p<0.05 대 항-PD-1 항체. #p<0.05 대 화합물 A.

도 8은 실시예 11의 연구 3에서 화합물 A에 단일 작용제를 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 및 9 mg/kg으로 투여했을 때의 평균 종양 성장 곡선을 나타낸다. 데이터는 평균 종양 부피 ± SEM을 나타낸다(14마리 마우스/그룹; 9 mg/kg 화합물 A의 경우 12마리 마우스/그룹은 예외). 검정색 화살표는 화합물 A 투여 일수를 표시한다.

도 9는 실시예 11의 연구 3으로부터의 치료 후 15일차의 개별 종양 부피를 나타낸다. 데이터는 개별 종양 부피를 나타내며; 비히클 대조군 대비 평균 ± SEM 및 %TGI도 표시된다. ***p<0.01 대 비히클 대조군.

도 10은 비히클(대조군), 항-PD-1 항체 단독, 화합물 A 단독, 및 화합물 A와 항-PD-1 항체의 조합물로 처리된 처리군에 대한 카플란-마이어 생존 곡선의 그래프를 나타낸다. * $p < 0.05$ 대 실시예 11의 연구 3으로부터의 비히클 대조군. [†] $p < 0.05$ 대 항-PD-1 항체. # $p < 0.05$ 대 화합물 A.

도 11a 및 도 11b는 실시예 12의 단일 공여자에 대한 IL-2 및 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 단독 및 니볼루맵(Nivo) 또는 펌브롤리주맵(Pem)과의 조합에 대한 대표적인 사이토카인 수준의 그래프를 나타낸다. 도 11a는 IFN-감마, IL-8, IL-6, TNF-알파, IL-4, 및 IL-5 수준의 그래프를 나타낸다. 도 11b는 IL-6, TNF-알파, 및 IL-5 수준의 그래프를 나타낸다.

도 12는 실시예 13에 따른 화합물 B(IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1) 및 펌브롤리주맵의 조합의 혼합 림프구 반응(MLR) 분석에서 인터페론-감마의 방출을 나타낸다.

도 13 및 도 14는 실시예 13에 따른 화합물 B(IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1) 및 니볼루맵의 조합의 혼합 림프구 반응(MLR) 분석에서 인터페론-감마의 방출을 나타낸다.

도 15는 실시예 14의 화합물 B의 약동학적 특성을 나타낸다.

도 16a~16d는 실시예 14에 따른 화합물 B의 투여 후 말초혈액 CD8+ T 세포, CD8+ 기억 T 세포, NK 세포, 및 Treg 세포 각각의 pSTAT5+ 세포의 양을 나타낸다.

도 17a~17g는 실시예 14에 따른 화합물 B에 의한 CD8+ T, NK 및 Treg 세포 집단에서 Ki67의 활성화를 나타낸다.

도 18a~18d는 실시예 14에 따른 화합물 B로 처리한 후 종양 샘플(CD8+ T 세포, NK 세포, 및 Treg 세포 수준 및 CD8+/Treg 비율)의 분석을 나타낸다.

도 19는 실시예 15에 따른 화합물 B 및 마우스 항-PD-1 항체로 처리한 후 TCR 다양성을 나타낸다.

도 20은 실시예 15에 따른 지시된 처리(예를 들어, 화합물 B 및/또는 마우스 항-PD-1 항체) 후 T 세포 분획에 대한 TIL 클론성을 나타낸다.

도 21은 실시예 15에 따른 비히클 대조군과 비교되는, 화합물 B로 처리한 후 T 세포 클론성을 나타낸다.

도 22는 실시예 16으로부터의 대조군(비히클), 화합물 B(6 mg/kg), 마우스 항-PD-1(10 mg/kg), 또는 화합물 B와 마우스 항-PD-1(그룹 당 N=10마리의 마우스)의 조합물로 처리한 후 8일차 CT26 종양 샘플로부터의 발현 히트맵을 나타낸다.

도 23a~23c는 실시예 16에 따른 화합물 B 처리: 활성화된 CD8+ 이펙터 및 이펙터 기억 T 세포, 및 세포용해성 NK 세포의 침윤 분석 후 종양 미세환경 상태의 주요 발현 리포터를 나타낸다. CTL = 대조군(비히클); Cmpd B = 화합물 B; aPD1 = 마우스 항-PD-1 항체; Cmpd B aPD1 = 화합물 B 및 마우스 항-PD-1 항체의 조합물.

도 24a~24b는 실시예 16에 따른 방법에 반응한 프로파일러 분석 인터페론 γ 유전자 발현 서명 수준을 나타낸다. CTL = 대조군(비히클); Cmpd B = 화합물 B; aPD1 = 마우스 항-PD-1 항체; Cmpd B aPD1 = 화합물 B 및 마우스 항-PD-1 항체의 조합물.

도 25 및 도 26은 실시예 17에 따른 재-챌린지된 종양-없는 동물에서의 생존 및 종양 성장 평가를 나타낸다.

도 27a 및 도 27b는 화합물 B가 실시예 17에 따른 재-챌린지된 마우스에서, 기억 CD8+ T 세포를 포함하는 말초 기억 T 세포(CD3+)의 전반적인 증가를 촉진한다는 것을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0081] 전술한 일반적 설명 및 하기의 상세한 설명은 단지 예시적으로 설명한 것이며, 청구된 임의의 대상을 제한하지 않는다는 것을 이해해야 한다. 본원에 참조로 포함된 임의의 자료가 본 개시내용의 명시적 내용과 일치하지 않는 경우, 그 명시적 내용은 통제된다.

[0082] 정의

[0083] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 청구된 요지가 속하는 분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 출원에서, 단수형의 사용은 구체적으로 달리 진술되지 않는 한 복수형을 포함한다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수형은 달리 문맥에서 명확하게 표시되지 않는 한 복수의 대상을 포함한다는 것이 주지되어야 한다. 본 출원에서, "또는"의 사용은 달리

진술되지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. 더욱이, 용어 "포함하는" 및 다른 형태, 예컨대 "포함하다", "포함하는" 및 "포함된"의 사용은 한정하는 것이 아니다.

- [0084] 명세서에서 "일부 실시형태", "일 실시형태", "하나의 실시형태", 또는 "다른 실시형태"에 대한 언급은 실시형태와 관련하여 설명된 특정 특징, 구조, 또는 특성이 본 발명의, 반드시 모든 실시형태에 포함되지는 않지만, 적어도 일부 실시형태에 포함된다는 것을 의미한다.
- [0085] 본원에 사용된 범위 및 양은 "대략적인" 특정 값 또는 범위로 표현될 수 있다. 약은 정확한 양도 포함한다. 따라서, "약 5 μ L"는 "약 5 μ L" 뿐만 아니라 "5 μ L"를 의미한다. 일반적으로, 용어 "약"은 예를 들어 15%, 10%, 또는 5% 이내와 같은 실험 오차 내에 있을 것으로 예상되는 양을 포함한다.
- [0086] 본원에 사용된 섹션 제목은 구성 목적만으로 사용된 것으로, 기술된 요지를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0087] 용어 "또는"은 문맥이 달리 명시하지 않는 한, 포괄적인 의미로, "및/또는"과 동등하게 사용된다.
- [0088] 본원에 사용된 용어 "개체(들)", "대상체(들)", 및 "환자(들)"는 임의의 포유류를 의미한다. 일부 실시형태에서, 포유류는 인간이다. 일부 실시형태에서, 포유류는 비-인간이다. 어떠한 용어도 의료 종사자(예를 들어, 의사, 공인 간호사, 실무 간호사, 의사 보조원, 잡역 또는 호스피스 종사자)의 감독(예를 들어, 일정하거나 간헐적으로)을 특징으로 하는 상황을 요하거나 그러한 상황으로 제한되지 않는다.
- [0089] 본원에 사용될 때, 결합 친화도와 관련하여 용어 "유의한" 또는 "유의하게"는 표적 수용체에 대한 사이토카인(예컨대, IL-2 폴리펩타이드)의 결합에 영향을 주기에 충분한 사이토카인(예컨대, IL-2 폴리펩타이드)의 결합 친화도의 변화를 의미한다. 일부 경우에, 상기 용어는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 그 이상의 변화를 의미한다. 일부 경우에, 상기 용어는 적어도 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 50배, 100배, 500배, 1000배, 또는 그 이상의 변화를 의미한다.
- [0090] 일부 경우에, 사이토카인 신호전달 복합체를 통한 하나 이상의 세포 집단의 활성화와 관련하여 용어 "유의한" 또는 "유의하게"는 세포 집단을 활성화하기에 충분한 변화를 의미한다. 일부 경우에, 세포 집단을 활성화하기 위한 변화는 수용체 신호전달 효력으로서 측정된다. 이러한 경우에, EC50 값이 제공될 수 있다. 다른 경우에, ED50 값이 제공될 수 있다. 추가의 경우에, 사이토카인의 농도 또는 투여량이 제공될 수 있다.
- [0091] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "효력"은 표적 효과를 생성하는 데 필요한 사이토카인(예를 들어, IL-2 폴리펩타이드)의 양을 지칭한다. 일부 경우에, 용어 "효력"은 표적 사이토카인 수용체(예를 들어, IL-2 수용체)를 활성화하는 데 필요한 사이토카인(예를 들어, IL-2 폴리펩타이드)의 양을 지칭한다. 다른 경우에, 용어 "효력"은 표적 세포 집단을 활성화하는 데 필요한 사이토카인(예를 들어, IL-2 폴리펩타이드)의 양을 지칭한다. 일부 경우에, 효력은 ED50(유효 용량 50), 또는 최대 효과의 50%를 생성하는 데 필요한 용량으로서 측정된다. 다른 경우에, 효력은 EC50(유효 농도 50), 또는 집단의 50%에서 표적 효과를 생성하는 데 필요한 용량으로서 측정된다.
- [0092] 본원에 사용된 용어 "비천연 아미노산"은 20개의 자연 발생 아미노산 중 하나 이외의 아미노산을 지칭한다. 예시적인 비천연 아미노산은 문헌[Young et al., "Beyond the canonical 20 amino acids: expanding the genetic lexicon," *J. of Biological Chemistry* **285**(15): 11039-11044 (2010)]에 기재되어 있으며, 이의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.
- [0093] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 바람직한 항원-결합 활성을 나타내는 한 단클론성 항체, 다클론성 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체) 및 항체 단편을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 다양한 항체 구조를 포함한다. "항체 단편"은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab' -SH, F(ab')₂, 디아바디, 선형 항체, 단쇄 항체 분자(예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 항원은 EGFR이다.
- [0094] 본원에 사용된 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 얻은 항체를 지칭하며, 즉 집단을 포함하는 개별 항체는 가능한 변이 항체, 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 포함하거나 단일클론 항체 제제의 생산 동안 발생하는 항체를 제외하고는 동일하고/하거나, 동일한 에피토프에 결합하며, 상기 변이체는 일반적으로 소량으로 존재한다. 서로 다른 결정기(에피토프)를 대상으로 하는 서로 다른 항체를 전형적으로 포함하는 다클론성 항체 제제와는 대조적으로, 단클론성 항체 제제의 각 단클론성 항체는 항원의 단일 결정기를 대상으로 한다. 따라서, "단클론"이라는 수식어는 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 획득되는 항체의 특질을 나타

내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생성을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단클론성 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 및 모든 인간 면역글로불린 유전자좌 또는 이의 일부를 포함하는 형질전환 동물을 사용하는 방법을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 다양한 기술들에 의해 제조될 수 있으며, 이러한 방법 및 단클론성 항체를 제조하는 다른 예시적인 방법은 본원에 기재되어 있다.

[0095] 본원에 사용되는 "뉴클레오타이드"는 뉴클레오사이드 모이어티 및 포스페이트 모이어티를 포함하는 화합물을 지칭한다. 예시적인 천연 뉴클레오타이드는 제한 없이, 아데노신 트리포스페이트(ATP), 우리딘 트리포스페이트(UTP), 시티딘 트리포스페이트(CTP), 구아노신 트리포스페이트(GTP), 아데노신 디포스페이트(ADP), 우리딘 디포스페이트(UDP), 시티딘 디포스페이트(CDP), 구아노신 디포스페이트(GDP), 아데노신 모노포스페이트(AMP), 우리딘 모노포스페이트(UMP), 시티딘 모노포스페이트(CMP), 및 구아노신 모노포스페이트(GMP), 테옥시아데노신 트리포스페이트(dATP), 테옥시티미딘 트리포스페이트(dTTP), 테옥시시티딘 트리포스페이트(dCTP), 테옥시구아노신 트리포스페이트(dGTP), 테옥시아데노신 디포스페이트(dADP), 티미딘 디포스페이트(dTDP), 테옥시시티딘 디포스페이트(dCDP), 테옥시구아노신 디포스페이트(dGDP), 테옥시아데노신 모노포스페이트(dAMP), 테옥시티미딘 모노포스페이트(dTMP), 테옥시시티딘 모노포스페이트(dCMP), 및 테옥시구아노신 모노포스페이트(dGMP)를 포함한다. 당 모이어티로서 테옥시리보스를 포함하는 예시적인 천연 테옥시리보뉴클레오타이드는 dATP, dTTP, dCTP, dGTP, dADP, dTDP, dCDP, dGDP, dAMP, dTMP, dCMP, 및 dGMP를 포함한다. 당 모이어티로서 리보스를 포함하는 예시적인 천연 리보뉴클레오타이드는 ATP, UTP, CTP, GTP, ADP, UDP, CDP, GDP, AMP, UMP, CMP, 및 GMP를 포함한다.

[0096] 본원에 사용된 "염기" 또는 "핵염기"는 일부 경우에 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드의 당 부분에 대한 추가 변형을 함유할 수 있는 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드(뉴클레오사이드 및 뉴클레오타이드는 리보 또는 테옥시리보 변이체를 포함함)의 적어도 핵염기 부분을 지칭한다. 일부 경우에, "염기"는 또한 전체 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드를 나타내기 위해 사용된다(예를 들어, "염기"는 DNA 중합효소에 의해 DNA에 통합되거나, RNA 중합효소에 의해 RNA에 통합될 수 있음). 그러나, 용어 "염기"는 문맥에서 요구하지 않는 한 전체 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드를 반드시 나타내는 것으로 해석되어서는 안 된다. 염기 또는 핵염기의 본원에 제공된 화학 구조에서, 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드의 염기만이 도시되어 있으며, 당 모이어티 및 선택적으로 임의의 포스페이트 잔기가 명확성을 위해 생략되어 있다. 염기 또는 핵염기의 본원에 제공된 화학 구조에서 사용된 바와 같이, 물결선은 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드의 당 부분이 추가로 변형될 수 있는, 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드에 대한 연결을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 물결선은 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드의 오탄당과 같은 당 부분에 대한 염기 또는 핵염기의 부착을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 오탄당은 리보스 또는 테옥시리보스이다.

[0097] 일부 실시형태에서, 핵염기는 일반적으로 뉴클레오사이드의 헤테로사이클릭 염기 부분이다. 핵염기는 천연 발생일 수 있고, 변형될 수 있고, 천연 염기와 유사하지 않을 수 있고/있거나, 예를 들어 유기 합성에 의해 합성될 수 있다. 특정 실시형태에서, 핵염기는 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드 내의 임의의 원자 또는 원자단을 포함하고, 여기서 원자 또는 원자단은 수소 결합을 사용하거나 사용하지 않고 다른 핵산의 염기와 상호작용할 수 있다. 특정 실시형태에서, 비천연 핵염기는 천연 핵염기로부터 유래되지 않는다. 비천연 핵염기가 반드시 기본적인 특성들을 가지는 것은 아니지만, 단순성을 위해 핵염기라고 칭한다는 점에 유의해야 한다. 일부 실시형태에서, 핵염기를 언급할 때, "(d)"는 핵염기가 테옥시리보스 또는 리보스에 부착될 수 있음을 나타내는 반면, 괄호가 없는 "d"는 핵염기가 테옥시리보스에 부착됨을 나타낸다.

[0098] 본원에 사용되는 "뉴클레오사이드"는 핵염기 모이어티 및 당 모이어티를 포함하는 화합물이다. 뉴클레오사이드는 천연 발생 뉴클레오사이드(DNA 및 RNA에서 발견됨), 무염기성 뉴클레오사이드, 변형된 뉴클레오사이드, 및 모방 염기 및/또는 당 기를 갖는 뉴클레오사이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 뉴클레오사이드는 임의의 다양한 치환기를 포함하는 뉴클레오사이드를 포함한다. 뉴클레오사이드는 핵산 염기와 당의 환원기 사이의 글리코사이드 연결을 통해 형성된 글리코사이드 화합물일 수 있다.

[0099] 화학 구조의 "유사체"는 본원에 사용된 용어로서, 비록 그것이 모 구조로부터 합성적으로 쉽게 유도되지 않을 수 있지만, 모 구조와의 실질적인 유사성을 보존하는 화학 구조를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 뉴클레오타이드 유사체는 비천연 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, 뉴클레오사이드 유사체는 비천연 뉴클레오사이드이다. 모 화학 구조로부터 합성적으로 쉽게 유도되는 관련 화학 구조는 "유도체"로 지칭된다.

[0100] 본 발명의 다양한 특징이 단일 실시형태와 관련하여 기재될 수 있지만, 그 특징은 또한 별개로 또는 임의의 적합한 조합으로 제공될 수 있다. 반대로, 명확성을 위해 별개의 실시형태와 관련하여 본 발명이 본원에 기술될

수 있지만, 본 발명은 단일 실시형태로 구현될 수도 있다.

[0101] IL-2 콘주게이트

[0102] 사이토카인은 세포 신호전달 단백질의 패밀리, 예컨대 케모카인, 인터페론, 인터류킨, 림포카인, 종양 괴사 인자, 및 기타 성장 인자(선천성 및 적응성 면역세포 항상성에서 역할을 함)를 포함한다. 사이토카인은 면역 세포, 예컨대 대식세포, B 림프구, T 림프구 및 비만 세포, 내피 세포, 섬유아세포, 및 다른 기질 세포에 의해 생성된다. 일부 경우에, 사이토카인은 체액성 면역 반응과 세포계 면역 반응 사이의 균형을 조절한다.

[0103] 인터류킨은 T 및 B 림프구, 단핵구 계통의 세포, 호중구, 호염기구, 호산구, 거핵구, 및 조혈 세포의 발달과 분화를 조절하는 신호전달 단백질이다. 인터류킨은 헬퍼 CD4 T 및 B 림프구, 단핵구, 대식세포, 내피 세포, 및 기타 조직 상주 세포에 의해 생성된다.

[0104] 인터류킨 2(IL-2)는 구조가 15.5 kDa의 4개 α -나선 다발을 포함하는 다면발현성 1형 사이토카인이다. IL-2의 전구체 형태는 길이가 153개 아미노산 잔기이고, 이때 처음 20개 아미노산이 신호 펩타이드를 형성하고 잔기 21~153이 성숙 형태를 형성한다. IL-2는 주로, 항원 자극 후 CD4⁺ T 세포에 의해, 그리고 더 적은 정도로, CD8⁺ 세포, 자연 살해(NK) 세포 및 자연 살해 T(NKT) 세포, 활성화 수지상 세포(DC) 및 비만 세포에 의해 생성된다. IL-2 신호전달은 IL-2 수용체(IL-2R) 서브유닛, IL-2R α (CD25로도 공지됨), IL-2R β (CD122로도 공지됨) 및 IL-2R γ (CD132로도 공지됨)의 특정 조합과의 상호작용을 통하여 일어난다. IL-2와 IL-2R α 의 상호작용은 "저 친화성" IL-2 수용체 복합체를 형성하며, 이때 K_d 는 약 10^{-8} M이다. IL-2와 IL-2R β 및 IL-2R γ 의 상호작용은 "중간 친화성" IL-2 수용체 복합체를 형성하며, 이때 K_d 는 약 10^{-9} M이다. IL-2와 모든 3가지 서브유닛, IL-2R α , IL-2R β 및 IL-2R γ 와의 상호작용은 "고 친화성" IL-2 수용체 복합체를 형성하며, 이때 K_d 는 약 $>10^{-11}$ M이다.

[0105] 일부 예에서, "고 친화성" IL-2R $\alpha\beta\gamma$ 복합체를 통한 IL-2 신호전달은 조절 T 세포의 활성화 및 증식을 조절한다. 조절 T 세포 또는 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 조절 T(Treg) 세포는 이펙터 세포, 예컨대 CD4⁺ T 세포, CD8⁺ T 세포, B 세포, NK 세포, 및 NKT 세포를 억제함으로써 면역 항상성의 유지를 매개한다. 일부 경우에, Treg 세포는 흉선(tTreg 세포)으로부터 생성되거나 말초의 나이브(naïve) T 세포(pTreg 세포)로부터 유도된다. 일부 경우에, Treg 세포는 말초 내성의 매개체로 간주된다. 실제로 한 연구에서, CD25-고갈 말초 CD4⁺ T 세포의 이전은 누드 마우스에서 다양한 자가면역 질환을 생성하였으며, 반면에 CD4⁺CD25⁺ T 세포의 공동이전은 자가면역의 발달을 억제하였다(문헌[Sakaguchi, *et al.*, "Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25)," *J. Immunol.* 155(3): 1151-1164 (1995)], 본 개시내용은 참조로서 본원에 포함됨). Treg 세포 집단의 증가는 이펙터 T 세포 증식을 하향조절하고 자가면역 및 T 세포 항종양 반응을 억제한다.

[0106] "중간 친화성" IL-2R $\beta\gamma$ 복합체를 통한 IL-2 신호전달은 CD8⁺ 이펙터 T(Teff) 세포, NK 세포 및 NKT 세포의 활성화 및 증식을 조절한다. CD8⁺ Teff 세포(세포독성 T 세포, Tc 세포, 세포독성 T 림프구, CTL, T-살해 세포, 세포용해 T 세포, Tcon 또는 살해 T 세포로도 공지됨)는 손상된 세포, 암세포 및 병원체-감염 세포를 인식하여 사멸시키는 T 림프구이다. NK 및 NKT 세포는 CD8⁺ Teff 세포와 유사하게 암세포 및 병원체-감염 세포를 표적화하는 림프구 유형이다.

[0107] 일부 경우에, IL-2 신호전달은 T 세포 반응을 조절하기 위해 그리고 후속하여 암의 치료를 위해 사용된다. 예를 들어, IL-2는 암 치료를 위해 Teff 세포 집단의 확장을 유도하도록 고용량 형태로 투여된다. 그러나 고용량 IL-2는 항종양 면역 반응을 약화시키는 수반되는 Treg 세포 자극을 추가로 초래한다. 고용량 IL-2는 또한 2형 선천성 면역 세포(ILC-2), 호산구 및 내피 세포를 포함한 혈관계에서의 IL-2R 알파 사슬 발현 세포의 관여에 의해 매개되는 독성 이상 사례를 유발한다. 이것은 호산구 증가증, 모세 혈관 누출 및 혈관 누출 증후군(VLS)을 초래한다.

[0108] 입양 세포 요법은 의사가 환자 자신의 면역 세포를 효과적으로 활용하여 증식성 질환(예를 들어, 암) 및 감염성 질환과 같은 질환에 대항할 수 있게 한다. 일부 실시형태에서, 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 개시되며, 여기서 하나 이상의 추가 제제는 하나 이상의 면역 관문 억제제를 포함할 수 있다.

[0109] 일부 실시형태에서, 인터루킨 2(IL-2) 콘주게이트가 본원에 기술된다. 일부 실시형태에서, 표 1에 개시된 예시적인 폴리펩타이드가 본원에 기술된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트가 표 1에 예시되어 있다.

[0110] [표 1]

명칭	서열	SEQ ID NO:
IL-2 (호모 사피엔스(homo sapiens)) (성숙 형태)	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	1
IL-2 (호모 사피엔스(homo sapiens)) (전구체) NCBI 수탁 번호: AAB46883.1	MYRMQLLSICALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLL DLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVFELNRWITFSQSIISLT	2
알데스류킨	PTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	3
IL-2_C125S	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	4
IL-2_P65X	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	5
IL-2_E62X	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	6
IL-2_F42X	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	7
IL-2_K43X	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	8
IL-2_K35X	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVF LNRWITFSQSIISLT	9
IL-2_P65[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISLT	10
IL-2_E62[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISLT	11
IL-2_F42[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISLT	12
IL-2_K43[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISLT	13
IL-2_K35[AzK]	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISLT	14

[0111]

IL-2_P65[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[AzK_PEG]LEEV NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	15
IL-2_E62[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE[AzK_PEG]KPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	16
IL-2_F42[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LT[AzK_PEG]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	17
IL-2_K43[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTF[AzK_PEG]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	18
IL-2_K35[AzK_PEG]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNP[AzK_P EG]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	19
IL- 2_P65[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[AzK_PEG5kD]LEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	20
IL- 2_E62[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE[AzK_PEG5kD]KPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	21
IL- 2_F42[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LT[AzK_PEG5kD]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	22
IL- 2_K43[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTF[AzK_PEG5kD]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	23
IL- 2_K35[AzK_PEG5kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNP[AzK_P EG5kD]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	24
IL- 2_P65[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[AzK_PEG30kD]LE EVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	25
IL- 2_E62[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE[AzK_PEG30kD]KPLE EVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	26

IL- 2_F42[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LT[AzK_PEG30kD]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	27
IL- 2_K43[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTF[AzK_PEG30kD]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	28
IL- 2_K35[AzK_PEG30kD]	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNP[AzK_P EG30kD]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFSQSHSTLT	29
IL-2_P65X-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKXLEEVNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSHSTLT	30
IL-2_E62X-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEEXKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSHSTLT	31
IL-2_F42X-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TXKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSHSTLT	32
IL-2_K43X-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFXFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSHSTLT	33
IL-2_K35X-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPXLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFSQSHSTLT	34
IL-2_P65[AzK]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELK[AzK]LEEVNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSHSTLT	35
IL-2_E62[AzK]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEE[AzK]KPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSHSTLT	36
IL-2_F42[AzK]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TF[AzK]KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSHSTLT	37
IL-2_K43[AzK]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TF[AzK]FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSHSTLT	38

IL-2_K35[AzK]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNP[AzK]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	39
IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_L1_PEG]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	40
IL-2_E62[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEL[AzK_L1_PEG]KPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	41
IL-2_F42[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLT[AzK_L1_PEG]KFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	42
IL-2_K43[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	43
IL-2_K35[AzK_L1_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNP[AzK_L1_PEG]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	44
IL-2_P65[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_L1_PEG5kD]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	45
IL-2_E62[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEL[AzK_L1_PEG5kD]KPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	46
IL-2_F42[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLT[AzK_L1_PEG5kD]KFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	47
IL-2_K43[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG5kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	48
IL-2_K35[AzK_L1_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNP[AzK_L1_PEG5kD]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	49
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_L1_PEG30kD]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	50

IL-2_E62[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEL[AzK_L1_PEG30kD]KPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	51
IL-2_F42[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLT[AzK_L1_PEG30kD]KFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	52
IL-2_K43[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG30kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	53
IL-2_K35[AzK_L1_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNP[AzK_L1_PEG30kD]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	54
IL-2_P65[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_L1_PEG]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	55
IL-2_E62[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEL[AzK_L1_PEG]KPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	56
IL-2_F42[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLT[AzK_L1_PEG]KFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	57
IL-2_K43[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	58
IL-2_K35[AzK_L1_PEG]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNP[AzK_L1_PEG]LTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	59
IL-2_P65[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_L1_PEG5kD]LEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	60
IL-2_E62[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEL[AzK_L1_PEG5kD]KPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	61
IL-2_F42[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLT[AzK_L1_PEG5kD]KFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV	62

IL-2_K43[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG5kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	63
IL-2_K35[AzK_L1_PEG5kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG5kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	64
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_L1_PEG30kD]ILEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	65
IL-2_E62[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_L1_PEG30kD]KPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	66
IL-2_F42[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG30kD]KYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	67
IL-2_K43[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG30kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	68
IL-2_K35[AzK_L1_PEG30kD]-2	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_L1_PEG30kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	69
IL-2_P65[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_PEG]ILEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	70
IL-2_E62[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_PEG]KPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	71
IL-2_F42[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG]KYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	72
IL-2_K43[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	73
IL-2_K35[AzK_PEG]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	74

IL-2_P65[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_PEG5kD]ILEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	75
IL-2_E62[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_PEG5kD]KPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	76
IL-2_F42[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG5kD]KYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	77
IL-2_K43[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG5kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	78
IL-2_K35[AzK_PEG5kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG5kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	79
IL-2_P65[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_PEG30kD]ILEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	80
IL-2_E62[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELK[AzK_PEG30kD]KPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	81
IL-2_F42[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG30kD]KYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	82
IL-2_K43[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG30kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	83
IL-2_K35[AzK_PEG30kD]-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTF[AzK_PEG30kD]FYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLT	84
IL-2_F44X	APTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	85
IL-2_F44X-1	PTSSSTKKTQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	86

IL-2_R38X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLT ~~X~~ M LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLQAQSKN FHLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVES LNRWITFCQSHSTLT	87
IL-2_R38X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLT ~~X~~ ML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLQAQSKNF HLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSHSTLT	88
IL-2_T41X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM L ~~X~~ FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLQAQSKN FHLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVES LNRWITFCQSHSTLT	89
IL-2_T41X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML ~~X~~ FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLQAQSKNF HLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSHSTLT	90
IL-2_E68X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE ~~X~~ VNLQAQSKN FHLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVES LNRWITFCQSHSTLT	91
IL-2_E68X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKF ~~X~~ MPKKATELKHLQCLEEELKPLE ~~X~~ VNLQAQSKNF HLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSHSTLT	92
IL-2_Y45X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKF ~~X~~ MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLQAQSKN FHLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVES LNRWITFCQSHSTLT	93
IL-2_Y45X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKF ~~X~~ MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLQAQSKNF HLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSHSTLT	94
IL-2_V69X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE ~~X~~ NLAQSKN FHLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVES LNRWITFCQSHSTLT	95
IL-2_V69X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEE ~~X~~ NLAQSKNF HLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSHSTLT	96
IL-2_L72X	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRM LTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNL ~~X~~ AQSKN FHLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVES LNRWITFCQSHSTLT	97
IL-2_L72X-1	PTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRML TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNL ~~X~~ AQSKNF HLRPRDLISNINNVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSHSTLT	98

[0118]

[0119]

X = 비천연 아미노산을 포함하는 부위.

[0120]

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

[0121]

[AzK_PEG] = 화학식 II 또는 화학식 III의 구조를 포함하는 화합물을 형성하도록, N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신이 DBCO-매개 클릭 화학을 통하여 PEG에 안정하게 콘쥬게이션된 것. 예를 들어, 명시된 경우, PEG5kD는 메톡시 기로 캡핑된, 평균 분자량이 5 kDa인 선형 폴리에틸렌 글리콜 사슬을 나타낸다. 클릭 반응으로부터 생성된 위치이성질체들의 비는 약 1:1 또는 1:1 초과이다. 용어 "DBCO"는 실시예 2의 반응식 1에 예시된 mPEG-DBCO 화합물을 포함하는 것과 같이 디벤조사이클로옥틴 기를 포함하는 화학적 모이어티를 의미한다. 메톡시 PEG기의 예시적인 구조는 실시예 2의 반응식 1의 mPEG-DBCO 구조에 예시되어 있다.

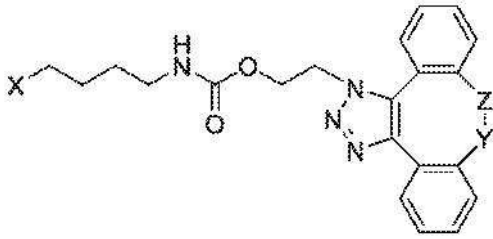
[0122]

[AzK_L1_PEG] = 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 포함하는 화합물을 형성하도록 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신이 DBCO-매개 클릭 화학을 통하여 PEG에 안정하게 콘쥬게이션된 것. 예를 들어, 명시된 경우, PEG5kD는 메톡시 기로 캡핑된, 평균 분자량이 5 kDa인 선형 폴리에틸렌 글리콜 사슬을 나타낸다. 클릭 반응으로부터 생성된 위치이성질체들의 비는 약 1:1 또는 1:1 초과이다. 용어 "DBCO"는 실시예 2의 반응식 1에 예시된 mPEG-DBCO 화합물을 포함하는 것과 같이 디벤조사이클로옥틴 기를 포함하는 화학적 모이어티를 의미한다.

[0123]

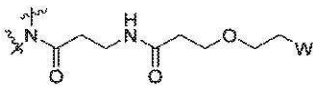
본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 I의 구조로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

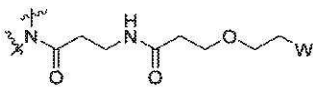
[0124] [화학식 I]

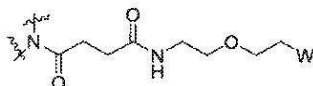


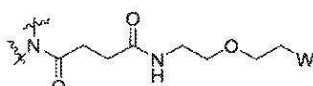
[0125]

[0126] 식 중,

[0127] Z는 CH₂이고 Y는  이거나;

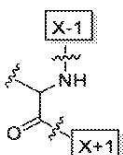
[0128] Y는 CH₂이고 Z는  이거나;

[0129] Z는 CH₂이고 Y는  이거나; 또는

[0130] Y는 CH₂이고 Z는  이며;

[0131] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0132] X는 하기 구조:

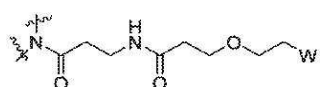
[0133]  를 가지며;

[0134] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

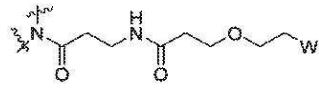
[0135] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0136] 본원 및 전체에 걸쳐, 용어 "IL-2 콘쥬게이트"는 표시된 구조의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 및 수화물을 포함한다.

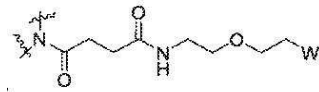
[0137] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 I의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 화학식 I의 구조, 또는 그의 임의의 실시형태 또는 변형은 그의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서 제공된다. 일부 실시형태에서, 화학식 I의 구조, 또는 그의 임의의 실시형태 또는 변형은 그의 용매화물로서 제공된다. 일부 실시형태에서, 화학식 I의 구조, 또는 그의 임의의 실시형태 또는 변형은 그의 수화물로서 제공된다. 일부 실시형태에서, 화학식 I의 구조, 또는 그의 임의의 실시형태 또는 변형은 유리 염기로서 제공된다.

[0138] 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z는 CH₂이고, Y는 

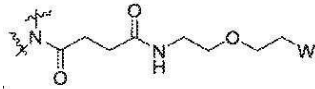
이다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 Y는 CH₂이고, Z는



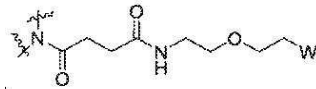
이다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, Z는 CH₂이고, Y는



이다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 Z는



CH₂이고, Y는



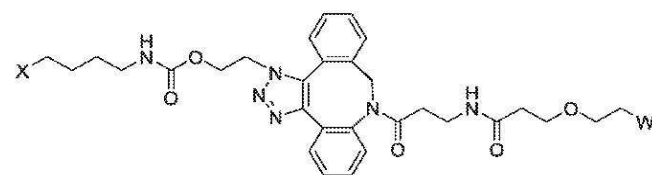
이다. 본원 및 전체에 걸쳐, Y 및 Z의 실시형태는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다.

[0139] 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 5 kDa, 10 kDa, 20 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 10 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 15 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기가 20 kDa의 평균 분자량을 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 25 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 40 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 45 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기는 50 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 PEG 기가 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다.

[0140] 본원에 기술된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다. 본원에 기술된 방법의 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트에서 IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 F41, E61, 및 P64로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘쥬게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다.

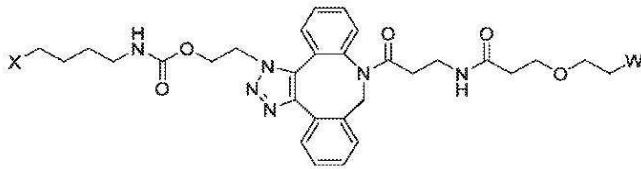
[0141] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15~19 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물을 가지며:

[0142] [화학식 II]



[0143] ;

[0144] [화학식 III]

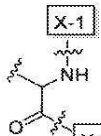


[0145] ;

[0146] 식 중,

[0147] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0148] X는 하기 구조:



[0149] 를 가지며;

[0150] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0151] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

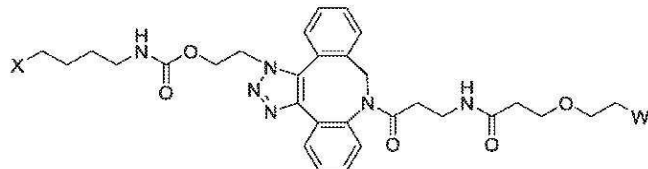
[0152] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0153] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 II의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 III의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다.

[0154] 일부 실시형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 II 및 화학식 III의 혼합물이다.

[0155] 일부 실시형태에서, [AzK_PEG]는 화학식 II의 구조를 갖는다:

[0156] [화학식 II]



[0157] .

[0158] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0159] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0160] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG

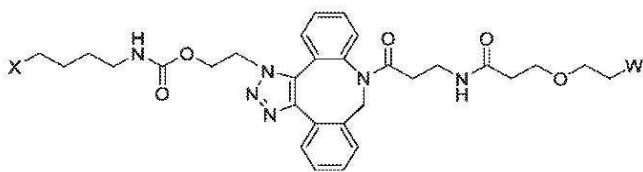
기이다.

[0161] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II의 구조에서 W가 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0162] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II의 구조에서 W가 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 II의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0163] 일부 실시형태에서, [AzK PEG]는 화학식 III의 구조를 갖는다:

[0164] [화학식 III]



[0165]

[0166] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0167] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0168] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 III의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다.

[0169] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 화학식 III의 구조에서 W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 III의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 III의 구조에서 W가 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 III의 구조에서 W가 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

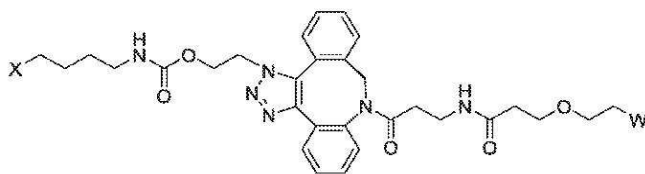
[0170] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 III의 구조에서 W가 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 III의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방

법은 화학식 III의 구조에서 W가 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시 형태에서, 방법은 화학식 III의 구조에서 W가 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다.

[0171] 본원에 개시된 방법의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 IL-2 콘쥬게이트가 사용되며, [AzK_PEG]는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 10 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 15 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 20 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 25 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 40 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 45 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 50 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 및 19 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_PEG]는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유하며, 여기서, PEG 기는 메톡시 PEG 기, 선형 메톡시 PEG 기, 또는 분지형 메톡시 PEG 기이다.

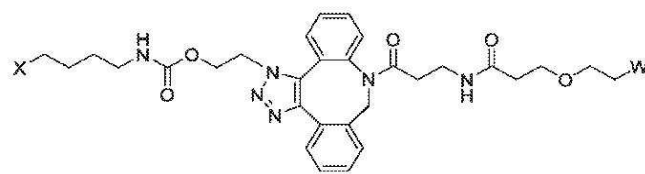
[0172] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20~24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[0173] [화학식 II]



[0174] ;

[0175] [화학식 III]

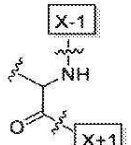


[0176] ;

[0177] 식 중,

[0178] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0179] X는 하기 구조:



[0180] 를 가지며;

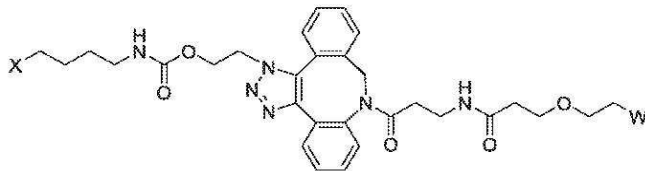
[0181] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0182] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0183] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 갖는다.

[0184] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_PEG5kD]가 하기 화학식 II의 구조를 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0185] [화학식 II]

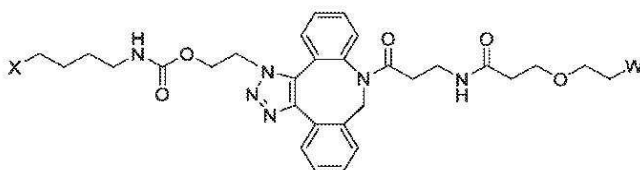


[0186]

[0187] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 갖는다.

[0188] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_PEG5kD]가 하기 화학식 III의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0189] [화학식 III]

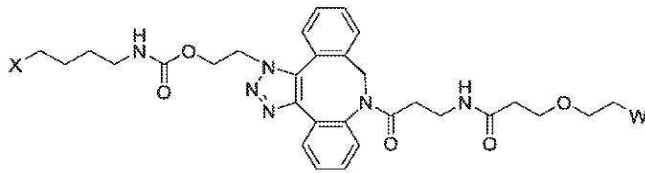


[0190]

[0191] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 갖는다.

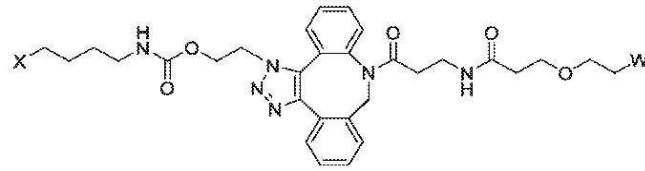
[0192] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25~29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조를 갖거나, 또는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물이며:

[0193] [화학식 II]



[0194] ;

[0195] [화학식 III]

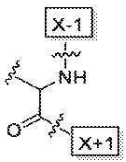


[0196] ;

[0197] 식 중,

[0198] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0199] X는 하기 구조:



[0200] 를 가지며;

[0201] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

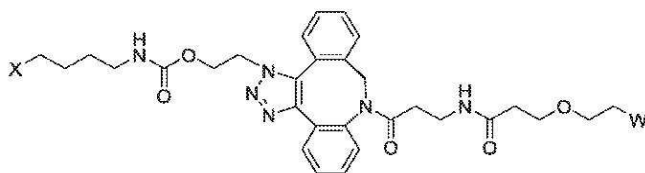
[0202] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0203] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0204] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 갖는다.

[0205] 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 방법은 [AzK_PEG30kD]가 하기 화학식 II의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0206] [화학식 II]

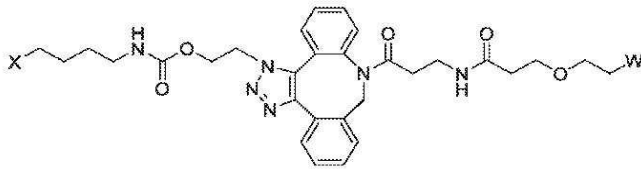


[0207] ;

[0208] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 갖는다.

[0209] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_PEG30kD]가 하기 화학식 III의 구조를 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0210] [화학식 III]

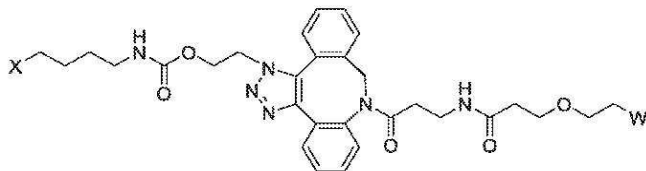


[0211]

[0212] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 갖는다.

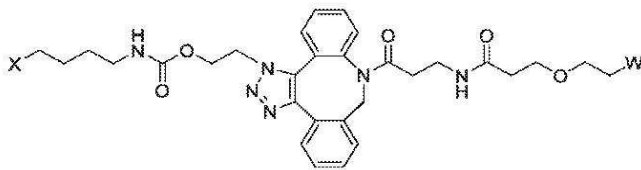
[0213] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15~19 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물이며:

[0214] [화학식 II]



[0215]

[0216] [화학식 III]

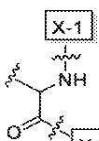


[0217]

[0218] 식 중,

[0219] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0220] X는 하기 구조:



[0221] 를 가지며;

[0222] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0223] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

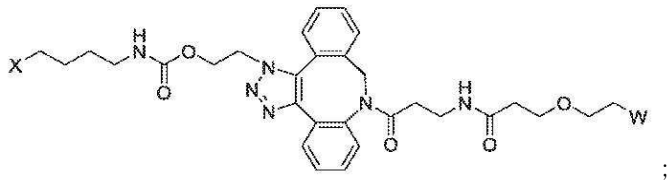
[0224] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0225] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_PEG]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_PEG]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_PEG]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 W가 선형 또는 분지형 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 W가 선형 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 W가 분지형 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다.

이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 W가 메톡시 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 메톡시 PEG 기가 선형 또는 분지형인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 메톡시 PEG 기가 선형인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 메톡시 PEG 기가 분지형인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다.

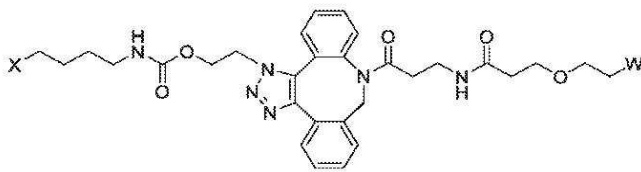
[0226] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20~24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0227] [화학식 II]



[0228] ;

[0229] [화학식 III]

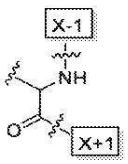


[0230] ;

[0231] 식 중,

[0232] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0233] X는 하기 구조:



[0234] 를 가지며;

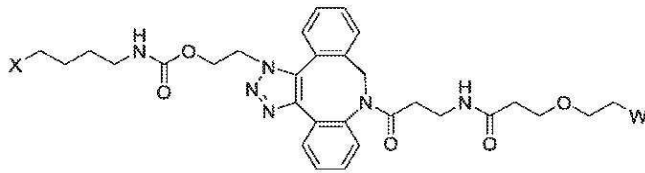
[0235] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0236] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0237] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_PEG5kD]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_PEG5kD]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_PEG5kD]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다.

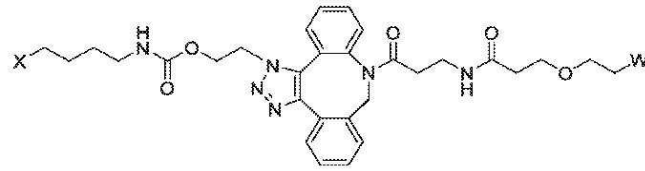
[0238] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25~29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0239] [화학식 II]



[0240] ;

[0241] [화학식 III]

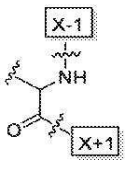


[0242] ;

[0243] 식 중,

[0244] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0245] X는 하기 구조:



[0246] 를 가지며;

[0247] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

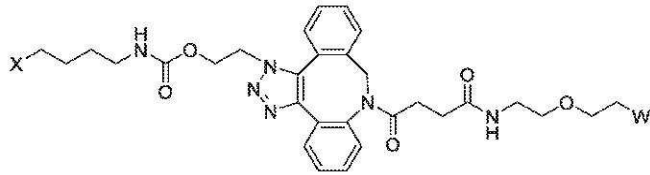
[0248] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0249] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_PEG30kD]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_PEG30kD]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_PEG30kD]의 총량을 포함하는 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

[0250] 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II 및 화학식 III의 혼합물을 포함하는 분원에 기재된 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서 W는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W가 선형 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W가 분지형 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W가 메톡시 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 W가 선형 또는 분지형인 메톡시 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 메톡시 PEG 기가 선형인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 II 또는 화학식 III의 구조에서 메톡시 PEG 기가 분지형인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

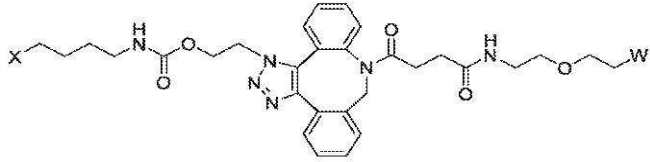
[0251] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[0252] [화학식 IV]



[0253] ;

[0254] [화학식 V]

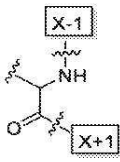


[0255] ;

[0256] 식 중,

[0257] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0258] X는 하기 구조:



[0259] 를 가지며;

[0260] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

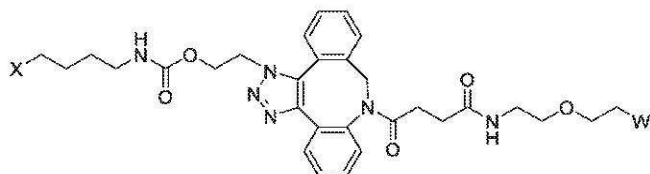
[0261] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0262] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 IV의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 V의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다.

[0263] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_{L1}-PEG]가 하기 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

[0264] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_{L1}-PEG]가 하기 화학식 IV의 구조를 갖는 IL-2 콘주게이트를 사용한다:

[0265] [화학식 IV]



[0266] .

[0267] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV의 구조에서 W가 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV의 구조에서 W가 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV의 구조에서 W가 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

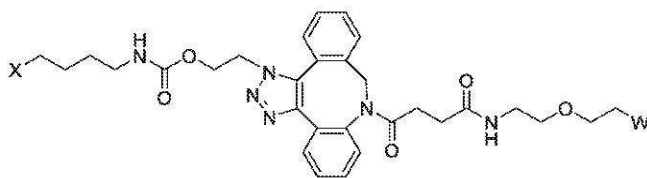
[0268] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV의 구조에서 W가 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법

갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 V의 구조에서 W가 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 V의 구조에서 W가 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 V의 구조에서 W가 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다.

[0279] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 10 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 15 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 20 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 25 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 35 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 40 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 45 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 50 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 및 44 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, [AzK_L1_PEG]는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기를 함유하며, 여기서, PEG 기는 메톡시 PEG 기, 선형 메톡시 PEG 기, 또는 분지형 메톡시 PEG 기이다.

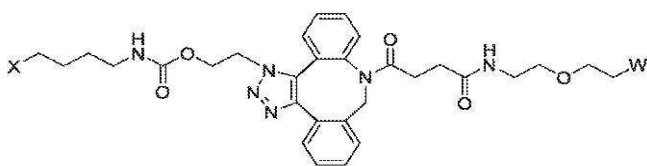
[0280] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물을 가지며:

[0281] [화학식 IV]



[0282] ;

[0283] [화학식 V]

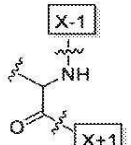


[0284] ;

[0285] 식 중,

[0286] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0287] X는 하기 구조:



[0288] 를 가지며;

[0289] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

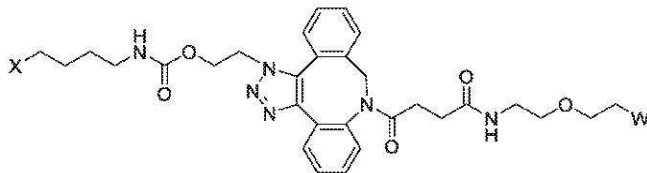
[0290] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0291] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0292] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 갖는다.

[0293] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_L1_PEG5kD]가 하기 화학식 IV의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0294] [화학식 IV]

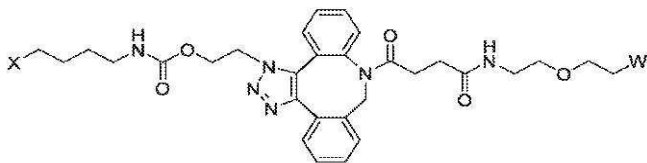


[0295]

[0296] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 갖는다.

[0297] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_L1_PEG5kD]가 하기 화학식 V의 구조를 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0298] [화학식 V]

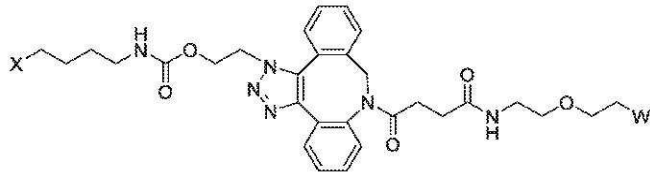


[0299]

[0300] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 갖는다.

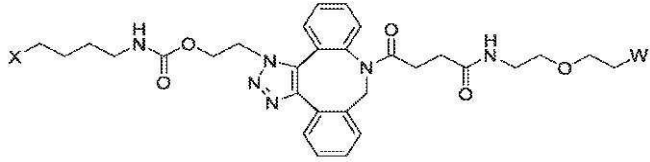
[0301] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 갖거나, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0302] [화학식 IV]



[0303] ;

[0304] [화학식 V]

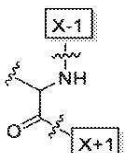


[0305] ;

[0306] 식 중,

[0307] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0308] X는 하기 구조:



[0309] 를 가지며;

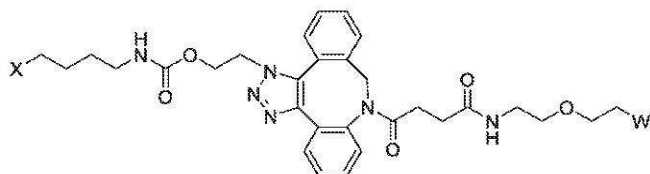
[0310] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0311] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0312] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 51의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 52의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 갖는다.

[0313] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_L1_PEG30kD]가 하기 화학식 IV의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0314] [화학식 IV]

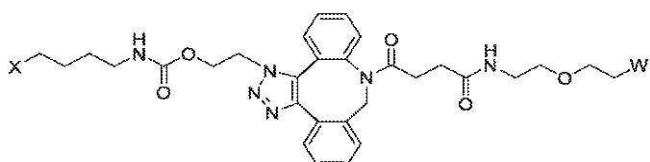


[0315] .

[0316] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 51의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 52의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 갖는다.

[0317] 일부 실시형태에서, 방법은 [AzK_L1_PEG30kD]가 하기 화학식 V의 구조를 갖는 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다:

[0318] [화학식 V]

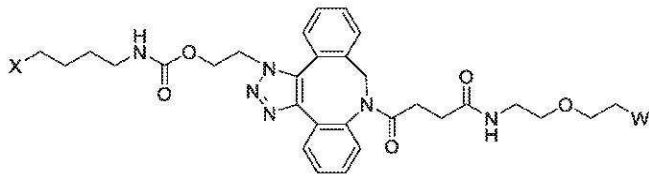


[0319] .

[0320] 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 51의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 52의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 갖는다.

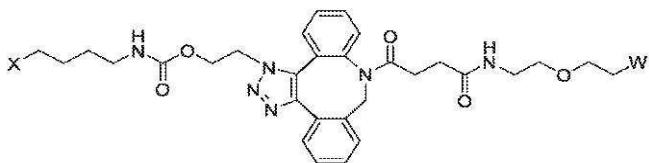
[0321] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [Azk_L1_PEG]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0322] [화학식 IV]



[0323] ;

[0324] [화학식 V]

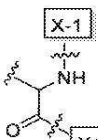


[0325]

[0326] 식 중,

[0327] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0328] X는 하기 구조:



[0329] 를 가지며;

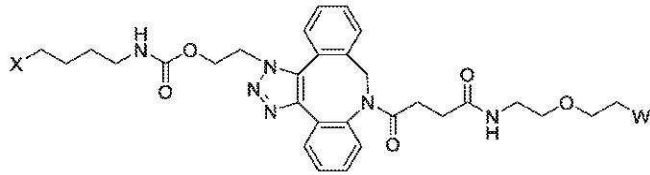
[0330] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0331] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0332] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_L1_PEG]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_L1_PEG]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서 [AzK_L1_PEG]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘쥬게이트를 사용한다.

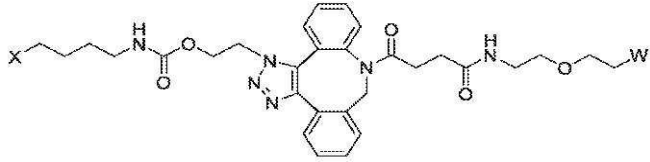
[0333] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다:

[0334] [화학식 IV]



[0335] ;

[0336] [화학식 V]

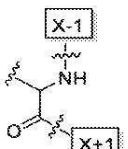


[0337]

[0338] 식 중,

[0339] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0340] X는 하기 구조:



[0341] 를 가지며;

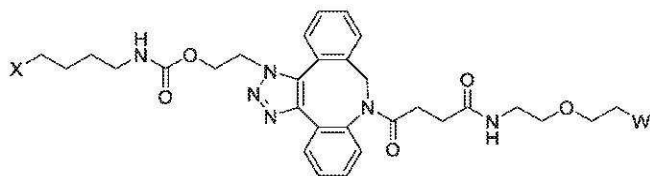
[0342] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0343] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0344] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_L1_PEG5kD]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_L1_PEG5kD]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_L1_PEG5kD]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

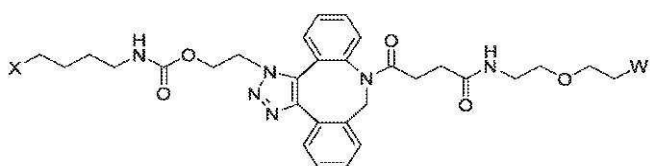
[0345] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0346] [화학식 IV]



[0347] ;

[0348] [화학식 V]

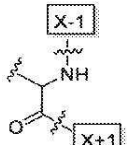


[0349]

[0350] 식 중,

[0351] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0352] X는 하기 구조:



[0353] 를 가지며;

[0354] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

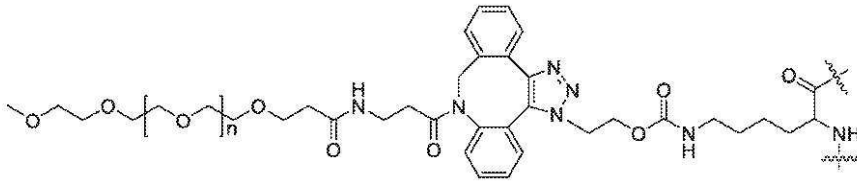
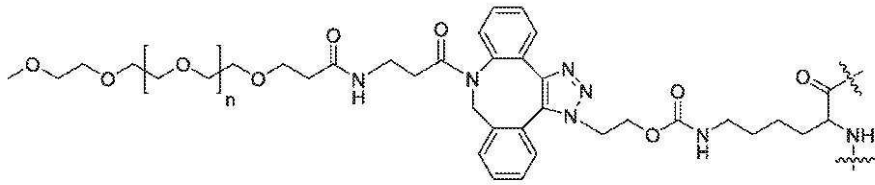
[0355] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0356] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_L1_PEG30kD]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_L1_PEG30kD]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서 [AzK_L1_PEG30kD]의 총량을 포함하는 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

[0357] 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 10 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 15 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 20 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 25 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 35 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 40 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 45 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 50 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 55 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 60 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

[0358] 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV 및 화학식 V의 혼합물을 포함하는 본원에 기재된 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서 W는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 선형 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 분지형 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 메톡시 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 W가 선형 또는 분지형인 메톡시 PEG 기인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 메톡시 PEG 기가 선형인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조에서 메톡시 PEG 기가 분지형인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

[0359] 본원에 기재된 방법에 사용된 IL-2 콘주게이트와 관련하여, 메톡시 PEG 기의 예시적인 구조는 실시예 2의 반응식 1의 mPEG-DBCO 구조에 예시되어 있다. 메톡시 PEG 기의 예시적인 구조는 하기 mPEG-DBCO 구조에 예시되어 있다:

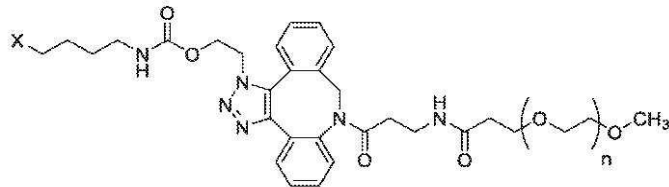


[0360]

[0361] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII, 또는 화학식 VI와 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0362]

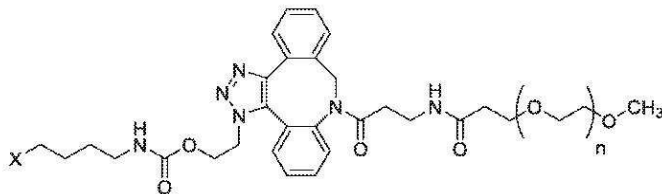
[화학식 VI]



[0363]

[0364]

[화학식 VII]



[0365]

[0366]

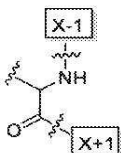
식 중,

[0367]

n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0368]

X는 하기 구조:



[0369]

를 가지며,

[0370]

X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0371]

X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0372]

일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0373]

본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 VI의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 VII의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다.

[0374]

일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 VII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는

약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0375] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 VII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 VII의 혼합물의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 K34에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 F41에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 F43에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 K42에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 E61에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 P64에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 R37에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 T40에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 E67에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 Y44에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 V68에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 L71에 있다.

[0376] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 VII의 구조의 양에 대한 화학식 VI의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 VII의 구조의 양에 대한 화학식 VI의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 VII의 구조의 양에 대한 화학식 VI의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

- [0377] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.
- [0378] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.
- [0379] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.
- [0380] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n이 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.
- [0381] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.
- [0382] 일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 구조에서의 n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약

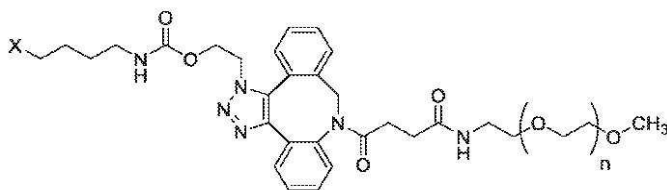
4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0383] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트를 사용하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0384] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트를 사용하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

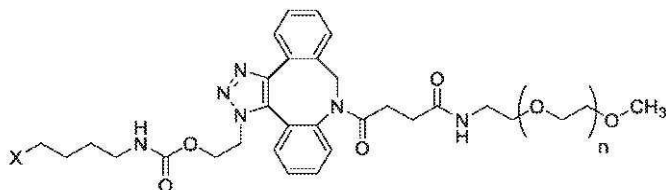
[0385] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0386] [화학식 VIII]



[0387]

[0388] [화학식 IX]

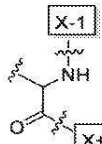


[0389]

[0390] 식 중,

[0391] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0392] X는 하기 구조:



[0393] 를 가지며,

[0394] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0395] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

[0396] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0397] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 VIII의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 IX의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다.

[0398] 일부 실시형태에서, 화학식 VIII 및 IX의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0399] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K34에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 F41에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 F43에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K42에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 E61에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합

물의 위치는 P64에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 R37에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 T40에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 E67에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 Y44에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 V68에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 L71에 있다.

[0400] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 IX의 구조의 양에 대한 화학식 VIII의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 IX의 구조의 양에 대한 화학식 VIII의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 IX의 구조의 양에 대한 화학식 VIII의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

[0401] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0402] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0403] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0404] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX

의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 혼합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

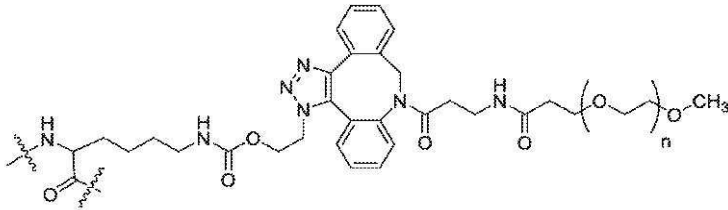
[0405] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 혼합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0406] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트이며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0407] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

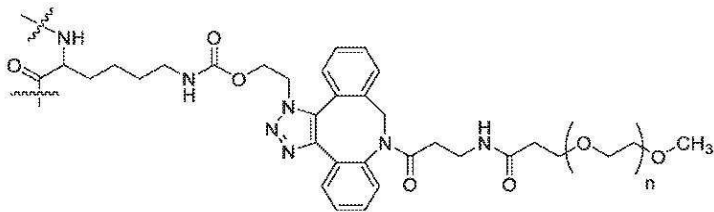
[0408] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0409] [화학식 X]



[0410] ;

[0411] [화학식 XI]



[0412] ;

[0413] 식 중,

[0414] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0415] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0416] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 X의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 XI의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0417] 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.

[0418] 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362,

1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0419] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치가 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 K34에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 F41에 있다. 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치가 위치 F43에 있는 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치가 위치 K42에 있는 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치가 위치 E61에 있는 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 P64에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 R37에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 T40에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 E67에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 Y44에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 V68에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 L71에 있다.

[0420] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 XI의 구조의 양에 대한 화학식 X의 구조의 양의 비가 약 1:1인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 XI의 구조의 양에 대한 화학식 X의 구조의 양의 비가 1:1 초과인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 XI의 구조의 양에 대한 화학식 X의 구조의 양의 비가 1:1 미만인 IL-2 콘주게이트를 사용한다.

[0421] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022,

1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0422] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X와 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0423] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0424] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 방법은 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n이 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인 IL-2 콘주게이트를 사용한다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0425] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910 으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0426] 일부 실시형태에서, 화학식 X 및 화학식 XI의 구조에서의 n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약

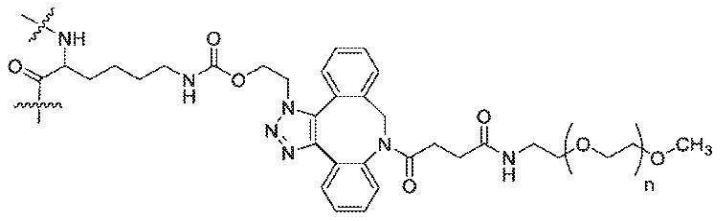
30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0427] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X와 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트를 사용하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0428] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘쥬게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X와 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘쥬게이트를 사용하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

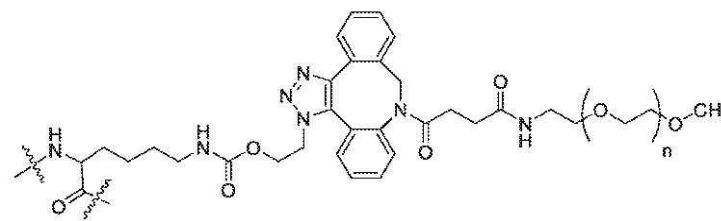
[0429] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0430] [화학식 XII]



[0431] ;

[0432] [화학식 XIII]



[0433] ;

[0434] 식 중,

[0435] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0436] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0437] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 XII의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 XIII의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘쥬게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0438] 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.

[0439] 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약

4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n 은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0440] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 F41에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 F43에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K42에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 E61에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 P64에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 R37에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 T40에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 E67에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 Y44에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 V68에 있다. 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 L71에 있다.

[0441] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 XIII의 구조의 양에 대한 화학식 XII의 구조의 양의 비가 약 1:1이다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 XIII의 구조의 양에 대한 화학식 XII의 구조의 양의 비가 1:1 초과이다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 총량을 포함하는 화학식 XIII의 구조의 양에 대한 화학식 XII의 구조의 양의 비가 1:1 미만이다.

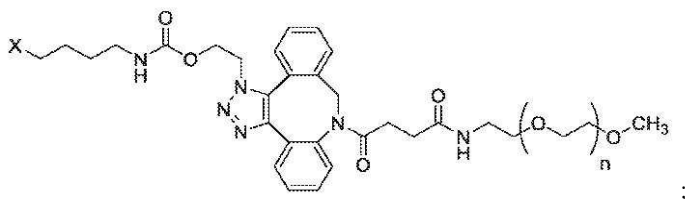
- [0442] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.
- [0443] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.
- [0444] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.
- [0445] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.
- [0446] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.
- [0447] 일부 실시형태에서, 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물에서의 n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약

3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0448] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 Da, 약 7,500 Da, 약 10,000 Da, 약 15,000 Da, 약 20,000 Da, 약 25,000 Da, 약 30,000 Da, 약 35,000 Da, 약 40,000 Da, 약 45,000 Da, 또는 약 50,000 Da이 되도록 하는 정수이다.

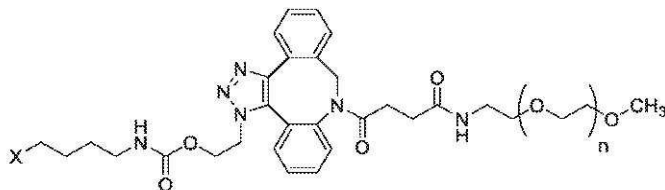
[0449] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 PD-1 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0450] [화학식 VIII]



[0451] ;

[0452] [화학식 IX]

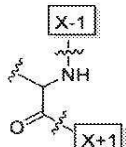


[0453] ;

[0454] 식 중,

[0455] n은 PEG 기의 분자량이 약 15,000 달톤 내지 약 60,000 달톤이 되도록 하는 정수이며;

[0456] X는 하기 구조:



[0457] 를 가지며;

[0458] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0459] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.

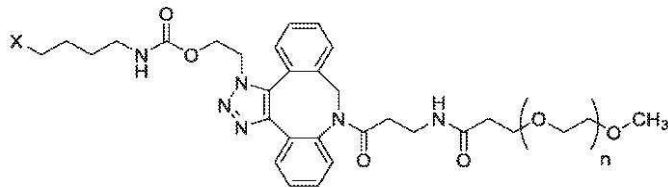
[0460] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0461] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트에서 E61에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맙, 니볼루맙, 또는 세미폴리맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 니볼루맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 세미폴리맙이다.

[0462] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트에서 P64에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맙, 니볼루맙, 또는 세미폴리맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 니볼루맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 세미폴리맙이다.

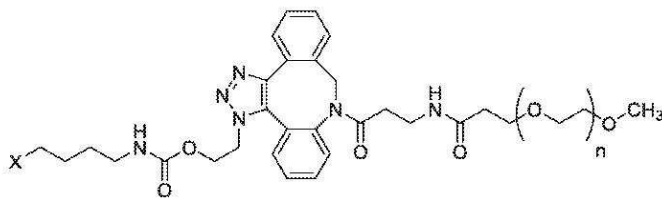
[0463] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 PD-1 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0464] [화학식 VI]



[0465] ;

[0466] [화학식 VII]

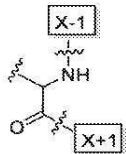


[0467] ;

[0468] 식 중,

[0469] n은 PEG 기의 분자량이 약 15,000 달톤 내지 약 60,000 달톤이 되도록 하는 정수이며;

[0470] X는 하기 구조:



- [0471] 를 가지며;
- [0472] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고
- [0473] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타낸다.
- [0474] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.
- [0475] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트에서 E61에서의 아미노산 잔기는 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맵, 니볼루맵, 또는 세미폴리맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 니볼루맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 세미폴리맵이다.
- [0476] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트에서 P64에서의 아미노산 잔기는 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맵, 니볼루맵, 또는 세미폴리맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펩트폴리주맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 니볼루맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 세미폴리맵이다.
- [0477] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 PEG 기에 공유결합된 시스테인으로 대체된 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, 또는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa 으로부터 선택된 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 5 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 10 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 15 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 20 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 25 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 30 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 35 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 40 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 45 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 50 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 60 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 K34, T36, R37, T40, F41, K42, F43, Y44, E60, E61, E67, K63, P64, V68, L71, 및 Y106 으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 K34, T40, F41, K42, Y44, E60, E61, E67, K63, P64, V68, 및 L71 으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 K35, T37, R38, T41, F42, K43, F44, Y45, E61, E62, E68, K64, P65, V69, L72, 및 Y107 으로부터 선택된다.
- [0478] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 적어도 하나의 비-리신 잔기가 링커 및 수용성 중합체를 포함하는 리신으로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트이다. 일부 실시형태에서, 수용성 중합체는 PEG 기이다.
- [0479] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 비-방출성 연결을 통해 공유결합된 PEG 기를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 비-방출성, 공유결합된 PEG 기를 포함한다.
- [0480] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게

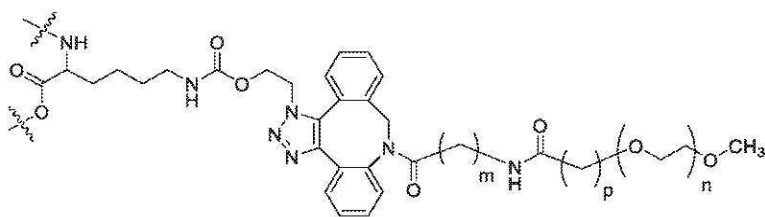
이트는 SEQ ID NO: 3을 가지며, IL-2 콘주게이트 내의 비-리신 아미노산은 리신 잔기로 대체되며, 상기 리신 잔기는 하나 이상의 수용성 중합체 및 공유 링커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 SEQ ID NO: 3의 영역 K34-Y106에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 K34에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 F41에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 F43에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 K42에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 E61에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 P64에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 R37에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 T40에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 E67에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 Y44에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 V68에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 L71에 위치되어 있다.

[0481] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 3을 가지며, IL-2 콘주게이트 내의 비-리신 아미노산은 리신 잔기로 대체되며, 상기 리신 잔기는 하나 이상의 수용성 중합체 및 공유 링커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 SEQ ID NO: 3의 영역 K34-Y106에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 K34에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 F41에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 F43에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 K42에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 E61에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 P64에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 R37에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 T40에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 E67에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 Y44에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 V68에 위치되어 있다. 일부 실시형태에서, 리신 잔기는 L71에 위치되어 있다.

[0482] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 인터루킨-2(IL-2) 변이체이며, IL-2 변이체의 아미노산 서열 내의 비-리신 아미노산은 (a) 리신; (b) 공유 링커; 및 (3) 및 하나 이상의 수용성 중합체를 포함하는 아미노산에 의해 대체된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 수용성 중합체는 PEG 기를 포함한다.

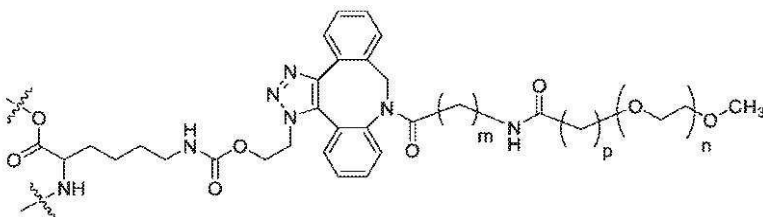
[0483] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0484] [화학식 XIV]



[0485] ;

[0486] [화학식 XV]



[0487] ;

[0488] 식 중,

[0489] m은 0 내지 20의 정수이며;

[0490] p는 0 내지 20의 정수이며;

- [0491] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;
- [0492] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.
- [0493] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 XIV의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 XV의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.
- [0494] 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.
- [0495] 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서 m은 0 내지 20, 또는 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 1이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 2이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 3이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 4이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 5이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 6이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 7이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 8이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 9이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 10이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 11이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 12이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 13이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 14이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 15이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 16이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 17이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 18이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 19이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m은 20이다.
- [0496] 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서 p는 1 내지 20, 또는 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 1이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 2이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 3이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 4이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 5이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 6이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 7이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p는 8이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의

화합물에서의 p 는 9이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 10이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 11이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 12이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 13이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 14이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 15이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 m 은 16이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 17이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 18이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 19이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 p 는 20이다.

[0497] 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 화학식 XIV 및 XV의 화합물에서의 n 은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다.

[0498] 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 화학식 XIV 및 XV의 화합물에서의 m 은 1 내지 6의 정수이며, p 는 1 내지 6의 정수이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 2 내지 6의 정수이며, p 는 2 내지 6의 정수이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 2 내지 4의 정수이며, p 는 2 내지 4의 정수이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 1이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 2이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 3이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 4이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 5이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227,

228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 6이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 7이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 8이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 9이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 10이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 11이며, p 는 2이며, n 은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m 은 2이며, p 는 2이며, n 은 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다.

[0499] 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n 은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 K34에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 F41에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 F43에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 K42에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 E61에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 P64에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 R37에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 T40에

있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 E67에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 Y44에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 V68에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XIV, 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물의 위치는 L71에 있다.

[0500] 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 총 IL-2 콘주게이트 양을 포함하는 화학식 XV의 구조의 양에 대한 화학식 XIV의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 총 IL-2 콘주게이트 양을 포함하는 화학식 XV의 구조의 양에 대한 화학식 XIV의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 총 IL-2 콘주게이트 양을 포함하는 화학식 XV의 구조의 양에 대한 화학식 XIV의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.

[0501] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트이며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.

[0502] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0503] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에

서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0504] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0505] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0506] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0507] IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0508] IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며,

여기서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0509] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, m은 1 내지 6의 정수이고, p는 1 내지 6의 정수이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 XV의 화합물에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

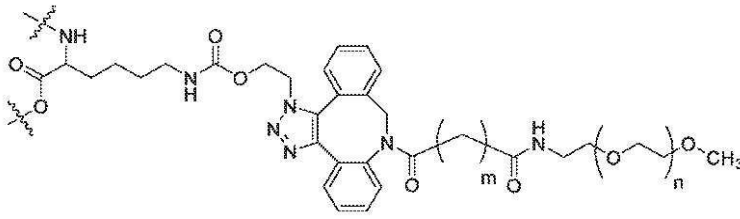
[0510] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61 및 P64로부터 선택되고, m은 1 내지 6의 정수이고, p는 1 내지 6의 정수이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0511] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, m은 1 내지 6의 정수이고, p는 1 내지 6의 정수이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0512] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XIV 또는 화학식 XV의 구조, 또는 화학식 XIV와 화학식 XV의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, m은 1 내지 6의 정수이고, p는 1 내지 6의 정수이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XIV 및 화학식 XV의 화합물에서, m은 2이며, p는 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

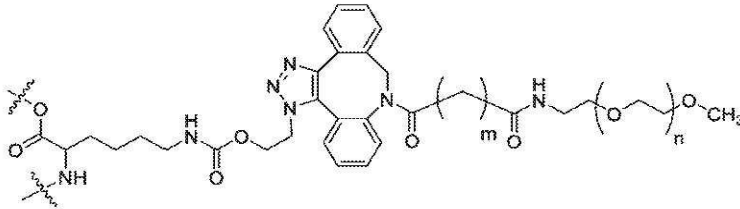
[0513] 본원에서는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 기술되어 있으며, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII, 또는 화학식 XVI와 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0514] [화학식 XVI]



[0515] ;

[0516] [화학식 XVII]



[0517] ;

[0518] 식 중,

[0519] m은 0 내지 20의 정수이며;

[0520] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[0521] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타낸다.

[0522] 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 XVI의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 본원 및 전체에 걸쳐, 화학식 XVII의 구조는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0523] 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이거나, (R)이 풍부하거나, (S)가 풍부하거나, 실질적으로 (R)이거나, 실질적으로 (S)이거나, (R)이거나 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 라세미이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)가 풍부하다. 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 실질적으로 (S)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (R)이다. 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII 내의 키랄 중심의 입체화학은 (S)이다.

[0524] 일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 여기서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서 m은 1 내지 20, 또는 1 내지 18, 또는 1 내지 16, 또는 1 내지 14, 또는 1 내지 12, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 9, 또는 1 내지 8, 또는 1 내지 7, 또는 1 내지 6, 또는 1 내지 5, 또는 1 내지 4, 또는 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 1이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 2이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 3이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 4이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 5이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 6이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 7이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 8이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 9이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 10이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 11이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 12이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 13이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 14이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 15이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 15이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 15이다.

화합물 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 16이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화합물 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 17이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화합물 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 18이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화합물 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 19이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화합물 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 20이다.

[0525]

일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위이다.

[0526]

일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 화합물 XVI 및 XVII의 화합물에서의 m은 1 내지 6의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 2 내지 6의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 2 내지 4의 정수이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 1이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 2이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 3이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 4이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 5이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 6이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 7이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화합물 XVI 및 화합물 XVII의 화합물에서, m은 8이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454,

455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시 형태에서 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m은 9이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시 형태에서 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m은 10이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시 형태에서 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m은 11이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시 형태에서 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m은 12이며, n은 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시 형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m은 2이며, n은 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 및 1137로부터 선택되는 정수이다.

[0527]

일부 실시형태에서, 방법은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되며, 여기서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 SEQ ID NO: 3에서의 위치와 관련된다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택된다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 K34에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 F41에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 F43에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 K42에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 E61에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 P64에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 R37에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 T40에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 E67에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 Y44에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 V68에 있다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, SEQ ID NO: 3의 IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물의 위치는 L71에 있다.

- [0528] 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 총 IL-2 콘주게이트 양을 포함하는 화학식 XVII의 구조의 양에 대한 화학식 XVI의 구조의 양의 비는 약 1:1이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 총 IL-2 콘주게이트 양을 포함하는 화학식 XVII의 구조의 양에 대한 화학식 XVI의 구조의 양의 비는 1:1 초과이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 총 IL-2 콘주게이트 양을 포함하는 화학식 XVII의 구조의 양에 대한 화학식 XVI의 구조의 양의 비는 1:1 미만이다.
- [0529] 일부 실시형태에서, 방법은 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI와 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트를 사용하며, K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되고, n은 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수이다.
- [0530] 일부 실시형태에서, F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI와 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.
- [0531] 일부 실시형태에서, E61 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI와 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.
- [0532] 일부 실시형태에서, E61인, 대체되는, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI와 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.
- [0533] 일부 실시형태에서, P64인, 대체되는, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI와 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서 n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908,

909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n 은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n 은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n 은 약 681이다.

[0534] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, n 은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수이다.

[0535] IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, n 은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수이다. IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, n 은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수이다.

[0536] 일부 실시형태에서, F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, m 은 1 내지 6의 정수이며, n 은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서, 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m 은 2이며, n 은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수이다.

[0537] 일부 실시형태에서, E61 및 P64로부터 선택되는, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, m 은 1 내지 6의 정수이며, n 은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m 은 2이며, n 은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다.

[0538] 일부 실시형태에서, E61인, 대체되는, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, m 은 1 내지 6의 정수이며, n 은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게

이트의 일부 실시형태에서 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m은 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0539]

일부 실시형태에서, P64인, IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XVI 또는 화학식 XVII의 구조, 또는 화학식 XVI과 화학식 XVII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 IL-2 콘주게이트가 본원에 개시되며, 여기서, m은 1 내지 6의 정수이며, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수이다. 본원에 기술된 IL-2 콘주게이트의 일부 실시형태에서 화학식 XVI 및 화학식 XVII의 화합물에서, m은 2이며, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수이다. 일부 실시형태에서, n은 약 500 내지 약 1000이다. 일부 실시형태에서, n은 약 550 내지 약 800이다. 일부 실시형태에서, n은 약 681이다.

[0540]

일부 실시형태에서, 증식성 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, (a) **표 1**에 기술된 콘주게이트(예를 들어, IL-2 콘주게이트)의 치료적 유효량 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 대상 체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기술된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 1~98을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 1~84를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 15~29를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 40~54를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 55~69를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 70~84를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 85~98을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 1을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 2를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 3을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 4을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 5를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 6을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 7을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 8을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 9를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 10을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 11을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 12를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 13을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 14을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 15를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 16을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 17을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 18을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 19를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 20을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 21을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 22를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 23을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 24를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 25를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 26을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 27을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 28을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 24를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 25를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 26을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 27을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 28을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 29를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 30을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 31을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 32를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 33을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 34를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 35를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 36을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 37을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 38을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 39를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 40을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 41을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 42를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 43을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 44를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 45를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 46을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 47을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 48을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 49를 포함한다. 일부 실시형태에

서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 51을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 52를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 53을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 54를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 55를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 56을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 57을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 58을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 59를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 60을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 61을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 62를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 63을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 64를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 65를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 66을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 67을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 68을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 69를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 70을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 71을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 72를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 73을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 74를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 75를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 76을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 77을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 78을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 79를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 80을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 81을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 82를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 83을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 84를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 85를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 86을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 87을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 88을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 89를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 90을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 91을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 92를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 93을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 94를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 95를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 96을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 97을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 98을 포함한다.

[0541] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 I의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 II의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 III의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 IV의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 V의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 VI의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 VII의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 VIII의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 IX의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 X의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 XI의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 XII의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 XIII의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 XIV의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 XV의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 XVI의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 화학식 XVII의 구조를 포함한다.

[0542] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 86, 88, 90, 92, 94, 96, 및 98 중 어느 하나의 아미노산을 포함한다. 상기 실시형태들 중 어느 하나에서, 화학식 I의 구조, 또는 그의 임의의 변이체, 예컨대 화학식 II-화학식 XVII 또는 그의 임의의 변이체는 비천연 아미노산을 포함하는 부위에 통합된다.

[0543] 일부 실시형태에서, 소정 아미노산 위치에서 변형된 IL-2 콘주게이트가 본원에 기술된다. 일부 경우에, 변형은 천연 아미노산에 대한 것이다. 일부 경우에, 변형은 비천연 아미노산에 대한 것이다. 일부 경우에, 적어도 하나의 비천연 아미노산을 포함하는 단리되고 변형된 IL-2 폴리펩타이드가 본원에 기술된다. 일부 경우에, IL-2 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 3 내지 84 중 어느 하나와 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열

동일성을 포함한다. 일부 경우에, IL-2 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 3 내지 98 중 어느 하나와 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 포함한다.

[0544] 일부 경우에, IL-2 콘주게이트는 추가 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 추가 돌연변이는 K35, T37, R38, T41, F42, K43, F44, Y45, E61, E62, E68, K64, P65, V69, L72, 및 Y107로부터 선택되는 아미노산 위치에 있다. 이러한 경우에, 아미노산은 혈청 반감기, 안정성 또는 이들의 조합을 증가시키기 위해 추가 콘주게이팅 모이어티에 콘주게이팅된다. 대안적으로, 아미노산은 먼저 리신, 시스테인, 히스티딘, 아르기닌, 아스파르트산, 글루탐산, 세린, 트레오닌 또는 티로신과 같은 천연 아미노산으로 돌연변이되거나; 또는 비천연 아미노산으로 돌연변이된 후 추가 콘주게이팅 모이어티에 결합된다.

[0545] 일부 경우에, PEG 기는 특정 구조로 제한되지는 않는다. 일부 경우에, PEG는 선형(예를 들어, 말단 캡핑된, 예컨대 알콕시 PEG 또는 이작용성 PEG), 분지형 또는 다중 아암형(예를 들어, 포크형 PEG 또는 폴리올 코어에 부착된 PEG), 수지상(또는 별) 구조이고, 각각에는 하나 이상의 분해성 연결이 있거나 없다. 또한, 수용성 중합체의 내부 구조는 다양한 반복 패턴으로 구성될 수 있고, 동중중합체, 교번 공중합체, 랜덤 공중합체, 블록 공중합체, 교번 삼원중합체, 랜덤 삼원중합체, 및 블록 삼원중합체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0546] PEG는 전형적으로 다수의 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)$ 단량체[또는 PEG가 어떻게 정의되는지에 따라 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})$ 단량체]를 포함할 것이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 반복 단위의 수는 " $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ "에서 아래 첨자 "n"에 의해 식별된다. 따라서, (n)의 값은 일반적으로 다음 범위 중 하나 이상에 속한다: 2 내지 약 3400, 약 100 내지 약 2300, 약 100 내지 약 2270, 약 136 내지 약 2050, 약 225 내지 약 1930, 약 450 내지 약 1930, 약 1200 내지 약 1930, 약 568 내지 약 2727, 약 660 내지 약 2730, 약 795 내지 약 2730, 약 795 내지 약 2730, 약 909 내지 약 2730, 및 약 1,200 내지 약 1,900. 분자량이 알려진 임의의 소정 중합체에 대해, 중합체의 총 중량 평균 분자량을 반복 단량체의 분자량으로 나누어 반복 단위의 수(즉, "n")를 결정할 수 있다.

[0547] 일부 경우에, PEG는 말단 캡핑된 중합체, 즉 저급 C_{1-6} 알콕시기 또는 하이드록실기와 같은 비교적 불활성인 기로 캡핑된 적어도 하나의 말단을 갖는 중합체이다. 중합체가 PEG인 경우, 메톡시-PEG(일반적으로 mPEG라고 함)가 사용될 수 있으며, 이는 PEG의 선형 형태로서, 중합체의 하나의 말단은 메톡시($-\text{OCH}_3$) 기이고, 다른 말단은 히드록실기 또는 필요에 따라 화학적으로 변형될 수 있는 다른 작용기이다.

[0548] 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트에 포함된 PEG 기는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 선형 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 선형 또는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 선형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 평균 분자량이 약 100 달톤 내지 약 150,000 달톤인 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 예시적인 범위는 예를 들어 5,000 달톤 초과 내지 약 100,000 달톤의 범위, 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤의 범위, 약 10,000 달톤 내지 약 85,000 달톤의 범위, 10,000 달톤 초과 내지 약 85,000 달톤의 범위, 약 20,000 달톤 내지 약 85,000 달톤의 범위, 약 53,000 달톤 내지 약 85,000 달톤의 범위, 약 25,000 달톤 내지 약 120,000 달톤의 범위, 약 29,000 달톤 내지 약 120,000 달톤의 범위, 약 35,000 달톤 내지 약 120,000 달톤의 범위, 및 약 40,000 달톤 내지 약 120,000 달톤의 범위의 중량 평균 분자량을 포함한다. PEG 기에 대한 예시적인 중량 평균 분자량은 약 100 달톤, 약 200 달톤, 약 300 달톤, 약 400 달톤, 약 500 달톤, 약 600 달톤, 약 700 달톤, 약 750 달톤, 약 800 달톤, 약 900 달톤, 약 1,000 달톤, 약 1,500 달톤, 약 2,000 달톤, 약 2,200 달톤, 약 2,500 달톤, 약 3,000 달톤, 약 4,000 달톤, 약 4,400 달톤, 약 4,500 달톤, 약 5,000 달톤, 약 5,500 달톤, 약 6,000 달톤, 약 7,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 8,000 달톤, 약 9,000 달톤, 약 10,000 달톤, 약 11,000 달톤, 약 12,000 달톤, 약 13,000 달톤, 약 14,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 22,500 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 55,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 65,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 75,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 95,000 달톤, 및 약 100,000 달톤을 포함한다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 상기에 개시된 바와 같은 평균 분자량을 갖는 선형 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 상기에 개시된 바와 같은 평균 분자량을 갖는 분지형 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트에 포함된 PEG 기는 정의된 분자량 $\pm 10\%$, 또는 15% 또는 20% 또는 25% 를 갖는 선형 또는 분지형 PEG 기이다. 예를 들어, 30,000 달톤 ± 3000 달톤, 또는 30,000 달톤 $\pm 4,500$ 달톤, 또는 30,000 달톤 $\pm 6,000$ 달톤의 분자량을 갖는 PEG 기를 포함하는 IL-2 콘주게이트는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

시형태에서, PEG 기는 약 30,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 약 50,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, PEG 기는 약 60,000 달톤의 평균 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트에 포함된 PEG 기는 정의된 분자량 $\pm 10\%$, 또는 15% 또는 20% 또는 25% 를 갖는 분지형 메톡시 PEG 기이다. 예를 들어, 30,000 달톤 ± 3000 달톤, 또는 30,000 달톤 $\pm 4,500$ 달톤, 또는 30,000 달톤 $\pm 6,000$ 달톤의 분자량을 갖는 분지형 메톡시 PEG 기를 포함하는 IL-2 콘주게이트는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0552] 일부 실시형태에서, 예시적인 PEG 기는 Quanta Biodesign, Ltd의 선형 또는 분지형 이산 PEG(dPEG); Nektar Therapeutics의 선형, 분지형, 또는 포크형 PEG; 및 JenKem Technology의 Y형 PEG 유도체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0553] 콘주게이션 화학

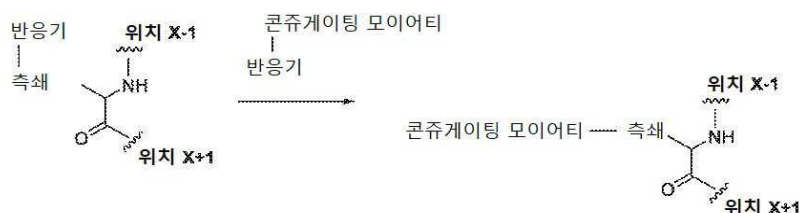
[0554] 콘주게이션 화학

[0555] 다양한 콘주게이션 반응을 사용하여 링커, 콘주게이션 모이어티, 및 본원에 기술된 사이토카인 펩타이드에 통합된 비천연 아미노산을 콘주게이션한다. 이러한 콘주게이션 반응은 대개 "생물직교" 반응과 같은 수성 조건에 적합하다. 일부 실시형태에서, 콘주게이션 반응은 촉매와 같은 화학 시약; 광; 또는 링커, 콘주게이션 모이어티, 또는 비천연 아미노산에서 발견되는 반응성 화학 기에 의해 매개된다. 일부 실시형태에서, 콘주게이션 반응은 효소에 의해 매개된다. 일부 실시형태에서, 본원에 사용된 콘주게이션 반응은 문헌[Gong, Y., Pan, L. Tett. Lett. 2015, 56, 2123]에 기술되어 있다. 일부 실시형태에서, 본원에 사용된 콘주게이션 반응은 문헌[Chen, X.; Wu, Y-W. Org. Biomol. Chem. 2016, 14, 5417]에 기술되어 있다. 이들 참고문헌 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0556] 본원에 기술된 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 콘주게이션 반응은 1,3-쌍극 고리화첨가 반응을 포함한다. 일부 실시형태에서, 1,3-쌍극 고리화첨가 반응은 아지드와 포스핀의 반응("클릭" 반응)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 콘주게이션 반응은 구리에 의해 촉매된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 콘주게이션 반응은 트리아졸을 통해 부착된 링커 또는 콘주게이션 모이어티를 포함하는 사이토카인 펩타이드를 생성한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 콘주게이션 반응은 아지드와 변형된 올레핀의 반응을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 콘주게이션 반응은 아지드와 변형된 알킨의 반응을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 접합 반응은 아지드와 사이클로알킨, 예를 들어 DBCO의 반응을 포함한다.

[0557] 본원에 기술된 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 콘주게이션 반응은 반응식 S1에 개시된 반응을 포함하며, 여기서 X는 SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 콘주게이트에서의 위치이다.

[0558] 반응식 S1.

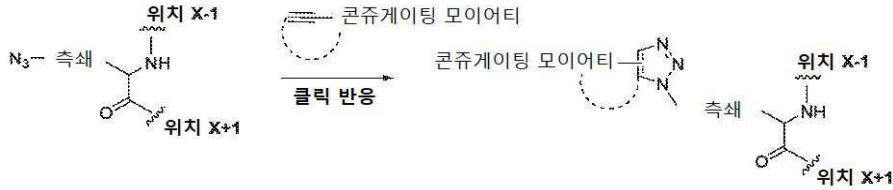


[0559]

[0560] 일부 실시형태에서, 콘주게이션 모이어티는 수용성 중합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 반응기는 알킨 또는 아지드를 포함한다.

[0561] 본원에 기술된 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 콘주게이션 반응은 반응식 S2에 개시된 반응을 포함하며, 여기서 X는 SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 콘주게이트에서의 위치이다.

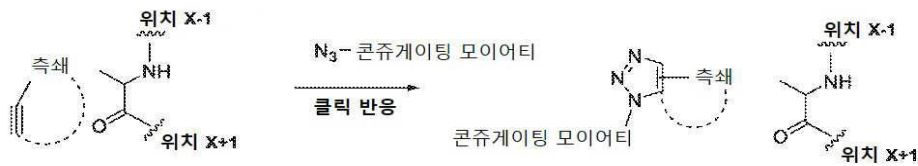
[0562] 반응식 S2.



[0563]

[0564] 본원에 기술된 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 공유제이션 반응은 반응식 S3에 개시된 반응을 포함하며, 여기서 X는 SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 공유제이트에서의 위치이다.

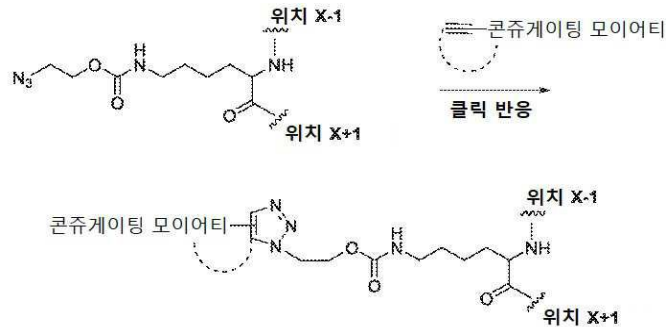
[0565] 반응식 S3.



[0566]

[0567] 본원에 기술된 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 공유제이션 반응은 반응식 S4에 개시된 반응을 포함하며, 여기서 X는 SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 및 34 중 어느 하나에서와 같이, 비천연 아미노산을 포함하는 IL-2 공유제이트에서의 위치이다.

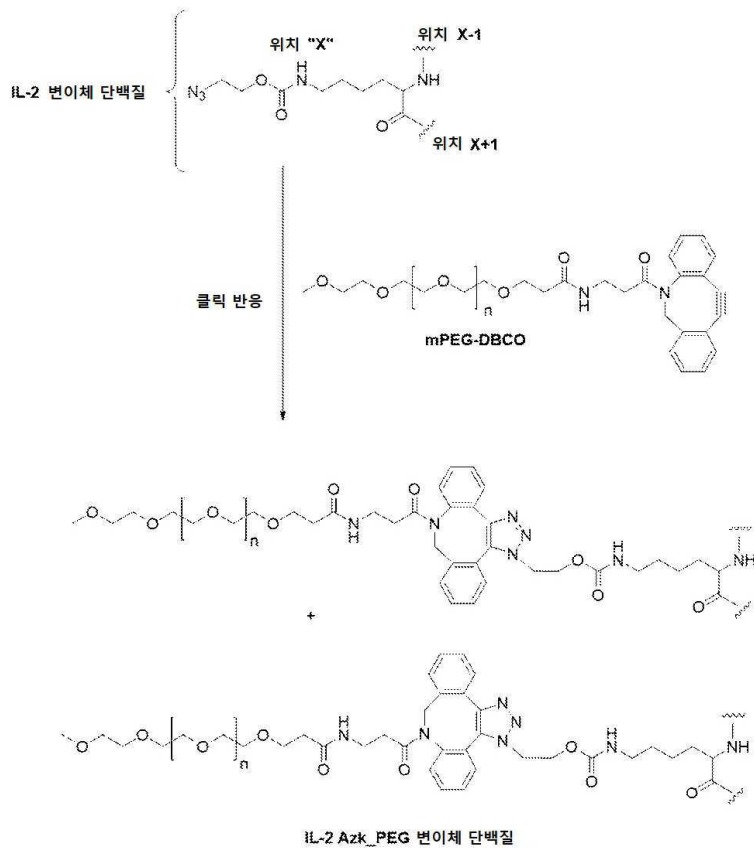
[0568] 반응식 S4.



[0569]

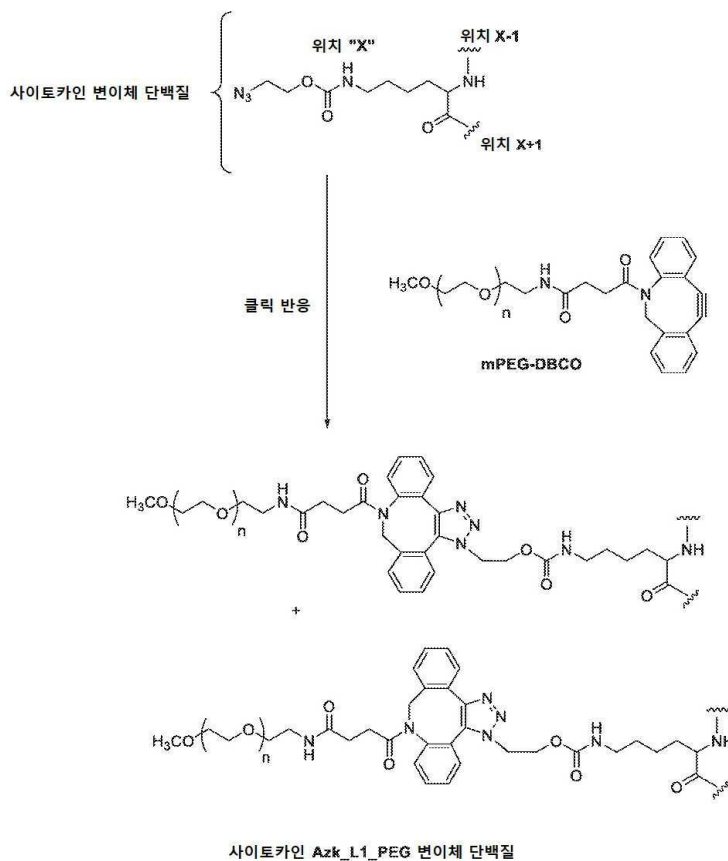
[0570] 본원에 기술된 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 공유제이션 반응은 아지드 모이어티, 예컨대 NG-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)로부터 유도된 아미노산 잔기를 함유하는 단백질에 포함된 것과, 변형된 사이클로알킨, 예컨대 디벤조사이클로옥틴 기를 포함하는 화학적 모이어티인 DBCO로부터 유도된 것 사이의 고리화첨가 반응을 포함한다. DBCO 모이어티를 포함하는 PEG 기는 구매가능하거나, 당업자에게 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예시적인 반응은 반응식 S5 및 S6에 도시되어 있다.

[0571] 반응식 S5.



[0572]

[0573] 반응식 S6.



[0574]

- [0575] 본원에 기술된 클릭 반응과 같은 콘주게이션 반응은 단일 위치이성질체, 또는 위치이성질체들의 혼합물을 생성할 수 있다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 2:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1.5:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1.2:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 약 1.1:1이다. 일부 경우에, 위치이성질체들의 비는 1:1보다 크다.
- [0576] **사이토카인 폴리펩타이드 생산**
- [0577] 일부 경우에, 천연 아미노산 돌연변이 또는 비천연 아미노산 돌연변이를 포함하는 본원에 기재된 IL-2 콘주게이트는 재조합으로 생성되거나 화학적으로 합성된다. 일부 경우에, 본원에 기재된 IL-2 콘주게이트는, 예를 들어 숙주 세포 시스템에 의해 또는 무세포 시스템에서, 재조합으로 생성된다. 본원에 기술된 실시형태 또는 변형들 중 어느 하나에서, 아미노산은 L-아미노산 또는 D-아미노산일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아미노산은 L-아미노산이다. 다른 실시형태에서, 아미노산은 D-아미노산이다.
- [0578] 일부 경우에, IL-2 콘주게이트는 숙주 세포 시스템을 통해 재조합으로 생성된다. 일부 경우에, 숙주 세포는 진핵 세포(예를 들어, 포유류 세포, 곤충 세포, 효모 세포, 또는 식물 세포) 또는 원핵 세포(예를 들어, 그람 양성 박테리아 또는 그람 음성 박테리아)이다. 일부 경우에, 진핵 숙주 세포는 포유류 숙주 세포이다. 일부 경우에, 포유류 숙주 세포는 안정한 세포주이거나, 관심 유전 물질을 자신의 게놈에 통합하고 여러 세대의 세포 분열 후 유전 물질의 산물을 발현하는 능력을 가진 세포주이다. 다른 경우에, 포유류 숙주 세포는 일시적 세포주이거나, 관심 유전 물질을 자신의 게놈에 통합하지 않고 여러 세대의 세포 분열 후 유전 물질의 산물을 발현하는 능력이 없는 세포주이다.
- [0579] 예시적인 포유류 숙주 세포는 293T 세포주, 293A 세포주, 293FT 세포주, 293F 세포, 293 H 세포, A549 세포, MDCK 세포, CHO DG44 세포, CHO-S 세포, CHO-K1 세포, Expi293F™ 세포, Flp-In™ T-REx™ 293 세포주, Flp-In™-293 세포주, Flp-In™-3T3 세포주, Flp-In™-BHK 세포주, Flp-In™-CHO 세포주, Flp-In™-CV-1 세포주, Flp-In™-Jurkat 세포주, FreeStyle™ 293-F 세포, FreeStyle™ CHO-S 세포, GripTite™ 293 MSR 세포주, GS-CHO 세포주, HepaRG™ 세포, T-REx™ Jurkat 세포주, Per.C6 세포, T-REx™-293 세포주, T-REx™-CHO 세포주, 및 T-REx™-HeLa 세포주를 포함한다.
- [0580] 일부 실시형태에서, 진핵 숙주 세포는 곤충 숙주 세포이다. 예시적인 곤충 숙주 세포는 *Drosophila* S2 세포, Sf9 세포, Sf21 세포, High Five™ 세포, 및 expresSF+® 세포를 포함한다.
- [0581] 일부 실시형태에서, 진핵 숙주 세포는 효모 숙주 세포이다. 예시적인 효모 숙주 세포는 GS115, KM71H, SMD1168, SMD1168H, 및 X-33과 같은 *피키아 파스토리스*(*Pichia pastoris*)(*K. phaffii*) 효모 균주, 및 INVSc1과 같은 *사카로마이세스 세레비시애*(*Saccharomyces cerevisiae*) 효모 균주를 포함한다.
- [0582] 일부 실시형태에서, 진핵 숙주 세포는 식물 숙주 세포이다. 일부 경우에, 식물 세포는 조류의 세포를 포함한다. 예시적인 식물 세포주는 클라미도모나스 라인하르트티(Chlamydomonas reinhardtii) 137c, 또는 시네코코커스 엘롱가투스(Synechococcus elongatus) PPC 7942의 균주를 포함한다.
- [0583] 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 원핵 숙주 세포이다. 예시적인 원핵 숙주 세포는 BL21, Mach1™, DH10B™, TOP10, DH5α, DH10Bac™, OmniMax™, MegaX™, DH12S™, INV110, TOP10F', INVαF, TOP10/P3, ccdB Survival, PIR1, PIR2, Stb12™, Stb13™, 또는 Stb14™를 포함한다.
- [0584] 일부 경우에, 본원에 기술된 IL-2 폴리펩타이드의 생산에 적합한 폴리핵산 분자 또는 벡터는 진핵생물 또는 원핵생물 원천으로부터 유래된 임의의 적합한 벡터를 포함한다. 예시적인 폴리핵산 분자 또는 벡터는 박테리아(예를 들어, *E. coli*), 곤충, 효모(예를 들어, *피키아 파스토리스*(*Pichia pastoris*), *K. phaffii*), 조류, 또는 포유류 원천으로부터의 벡터를 포함한다. 박테리아 벡터는, 예를 들어 pACYC177, pASK75, pBAD 벡터 시리즈, pBADM 벡터 시리즈, pET 벡터 시리즈, pETM 벡터 시리즈, pGEX 벡터 시리즈, pHAT, pHAT2, pMal-c2, pMal-p2, pQE 벡터 시리즈, pRSET A, pRSET B, pRSET C, pTrcHis2 시리즈, pZA31-Luc, pZE21-MCS-1, pFLAG ATS, pFLAG CTS, pFLAG MAC, pFLAG Shift-12c, pTAC-MAT-1, pFLAG CTC, 또는 pTAC-MAT-2를 포함한다.
- [0585] 곤충 벡터는 예를 들어 pFastBac1, pFastBac DUAL, pFastBac ET, pFastBac HTa, pFastBac HTb, pFastBac HTc, pFastBac M30a, pFastBac M30b, pFastBac M30c, pVL1392, pVL1393, pVL1393 M10, pVL1393 M11, pVL1393 M12, FLAG 벡터, 예컨대 pPolh-FLAG1 또는 pPolh-MAT 2, 또는 MAT 벡터, 예컨대 pPolh-MAT1 또는 pPolh-MAT2를 포함한다.
- [0586] 효모 벡터는 예를 들어 Gateway® pDEST™ 14 벡터, Gateway® pDEST™ 15 벡터, Gateway® pDEST™ 17 벡터,

Gateway[®] pDEST[™] 24 벡터, Gateway[®] pYES-DEST52 벡터, pBAD-DEST49 Gateway[®] 목표 벡터, pA0815 *Pichia* 벡터, pFLD1 *피키아 파스토리스*(*Pichia pastoris*)(*K. phaffii*) 벡터, pGAPZA, B, & C *피키아 파스토리스*(*Pichia pastoris*)(*K. phaffii*) 벡터, pPIC3.5K *Pichia* 벡터, pPIC6 A, B, & C *Pichia* 벡터, pPIC9K *Pichia* 벡터, pTEF1/Zeo, pYES2 효모 벡터, pYES2/CT 효모 벡터, pYES2/NT A, B, & C 효모 벡터, 또는 pYES3/CT 효모 벡터를 포함한다.

[0587] 조류 벡터는 예를 들어 pChlamy-4 벡터 또는 MCS 벡터를 포함한다.

[0588] 포유류 벡터는 예를 들어 일시적 발현 벡터 또는 안정적인 발현 벡터를 포함한다. 예시적인 포유류 일시적 발현 벡터는 p3xFLAG-CMV 8, pFLAG-Myc-CMV 19, pFLAG-Myc-CMV 23, pFLAG-CMV 2, pFLAG-CMV 6a,b,c, pFLAG-CMV 5.1, pFLAG-CMV 5a,b,c, p3xFLAG-CMV 7.1, pFLAG-CMV 20, p3xFLAG-Myc-CMV 24, pCMV-FLAG-MAT1, pCMV-FLAG-MAT2, pBICEP-CMV 3 또는 pBICEP-CMV 4를 포함한다. 예시적인 포유류 안정적인 발현 벡터는 pFLAG-CMV 3, p3xFLAG-CMV 9, p3xFLAG-CMV 13, pFLAG-Myc-CMV 21, p3xFLAG-Myc-CMV 25, pFLAG-CMV 4, p3xFLAG-CMV 10, p3xFLAG-CMV 14, pFLAG-Myc-CMV 22, p3xFLAG-Myc-CMV 26, pBICEP-CMV 1 또는 pBICEP-CMV 2를 포함한다.

[0589] 일부 경우에, 본원에 기술된 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드의 생산을 위해 무세포 시스템이 사용된다. 일부 경우에, 무세포 시스템은 세포로부터의 세포질 및/또는 핵 성분의 혼합물을 포함하고, *시험관 내* 핵산 합성에 적합하다. 일부 경우에, 무세포 시스템은 원핵 세포 성분을 사용한다. 다른 경우에, 무세포 시스템은 진핵 세포 성분을 사용한다. 핵산 합성은 예를 들어 초파리 세포, 제노프스 알, 고세균, 또는 HeLa 세포에 기초한 무세포 시스템에서 얻어진다. 예시적인 무세포 시스템은 E. 콜라이 S30 Extract 시스템, E. 콜라이 T7 S30 시스템 또는 PURExpress®, XpressCF 및 XpressCF+를 포함한다.

[0590] 무세포 번역 시스템은 플라스미드, mRNA, DNA, tRNAs, 신테타아제, 방출 인자, 리보솜, 샤페론 단백질, 번역 개시 및 신장 인자, 천연 및/또는 비천연 아미노산과 같은 성분, 및/또는 단백질 발현에 사용되는 기타 성분을 다양하게 포함한다. 이러한 성분은 수율 향상, 합성 속도 증가, 단백질 산물 신뢰도 증가, 또는 비천연 아미노산 통합을 위해 필요에 따라 변형된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 사이토카인은 US 8,778,631; US 2017/0283469; US 2018/0051065; US 2014/0315245; 또는 US 8,778,631에 기술된 무세포 번역 시스템을 사용하여 합성된다. 일부 실시형태에서, 무세포 번역 시스템은 변형된 방출 인자, 또는 심지어 시스템으로부터의 하나 이상의 방출 인자의 제거를 포함한다. 일부 실시형태에서, 무세포 번역 시스템은 감소된 프로테아제 농도를 포함한다. 일부 실시형태에서, 무세포 번역 시스템은 비천연 아미노산을 코딩하는 데 사용되는 재할당된 코돈을 갖는 변형된 tRNA를 포함한다. 일부 실시형태에서, 비천연 아미노산의 통합을 위한 본원에 기술된 신테타아제는 무세포 번역 시스템에 사용된다. 일부 실시형태에서, tRNA는 무세포 번역 시스템에 첨가되기 전에 효소적 또는 화학적 방법을 사용하여 비천연 아미노산으로 예비로딩된다. 일부 실시형태에서, 무세포 번역 시스템을 위한 성분은 변형된 유기체, 예컨대 변형된 박테리아, 효모, 또는 기타 유기체로부터 얻어진다.

[0591] 일부 실시형태에서, 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드는 발현 숙주 시스템을 통해 또는 무세포 시스템을 통해 원형으로 재배치된 형태로 생성된다.

[0592] **비천연 아미노산을 포함하는 사이토카인 폴리펩타이드의 생산**

[0593] 직교성 또는 확장된 유전 코드가 본 발명에 사용될 수 있으며, 여기서 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드의 핵산 서열에 존재하는 하나 이상의 특정 코돈은 비천연 아미노산을 코딩하도록 할당되어 직교성 tRNA 신테타아제/tRNA 쌍을 사용하여 사이토카인(예를 들어, IL-2)에 유전적으로 통합될 수 있다. 직교성 tRNA 신테타아제/tRNA 쌍은 tRNA를 비천연 아미노산으로 하전시킬 수 있고, 코돈에 반응하여 비천연 아미노산을 폴리펩타이드 사슬에 통합시킬 수 있다.

[0594] 일부 경우에, 코돈은 코돈 앰버, 오키, 오팔, 또는 쿼드러플렛 코돈이다. 일부 경우에, 코돈은 비천연 아미노산을 운반하는 데 사용될 직교성 tRNA에 해당한다. 일부 경우에, 코돈은 앰버이다. 다른 경우에, 코돈은 직교성 코돈이다.

[0595] 일부 경우에, 코돈은 직교성 리보솜 리보-Q1에 의해 디코딩될 수 있는 쿼드러플렛 코돈이다. 일부 경우에, 쿼드러플렛 코돈은 문헌[Neumann, *et al.*, "Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome," *Nature*, **464**(7287): 441-444 (2010)]에 예시되어 있으며, 이는 본원에 참고로 포함된다.

[0596] 일부 경우에, 본 발명에 사용되는 코돈은 재코딩된 코돈, 예를 들어 대체 코돈으로 대체된 동의 코돈 또는 회귀

코돈이다. 일부 경우에, 재코딩된 코돈은 문헌[Napolitano, *et al.*, "Emergent rules for codon choice elucidated by editing rare arginine codons in *Escherichia coli*," *PNAS*, **113**(38): E5588-5597 (2016)]에 기재되어 있다. 일부 경우에, 재코딩된 코돈은 문헌[Ostrov *et al.*, "Design, synthesis, and testing toward a 57-codon genome," *Science* **353**(6301): 819-822 (2016)]에 기재되어 있다. 이들 참고문헌 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0597]

일부 경우에, 비천연 핵산이 사용되어 하나 이상의 비천연 아미노산이 사이토카인(예를 들어, IL-2)에 통합된다. 예시적인 비천연 핵산은 우라실-5-일, 하이포잔틴-9-일(I), 2-아미노아데닌-9-일, 5-메틸시토신(5-me-C), 5-히드록시메틸 시토신, 잔틴, 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-메틸 및 기타 알킬 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-프로필 및 기타 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실 및 시토신, 5-프로피닐 우라실 및 시토신, 6-아조 우라실, 시토신 및 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-히드록실 및 기타 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 구체적으로 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 기타 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌 및 7-데아자아데닌, 및 3-데아자구아닌 및 3-데아자아데닌을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 비천연 핵산, 예컨대 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2 치환된 퓨린, N-6 치환된 퓨린, O-6 치환된 퓨린, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실, 5-프로피닐시토신, 5-메틸시토신, 듀플렉스 형성의 안정성을 증가시키는 것, 보편적 핵산, 소수성 핵산, 무차별 핵산, 크기 확대된 핵산, 플루오르화 핵산, 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린, 예를 들어 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실 및 5-프로피닐시토신, 5-메틸시토신(5-me-C), 5-히드록시메틸 시토신, 잔틴, 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-메틸, 기타 알킬 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-프로필 및 기타 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실, 5-할로시토신, 5-프로피닐(-C≡CH₃) 우라실, 5-프로피닐 시토신, 피리미딘 핵산의 기타 알킬 유도체, 6-아조 우라실, 6-아조 시토신, 6-아조 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-히드록실 및 기타 8-치환 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 구체적으로 5-브로모, 5-트리플루오로메틸, 기타 5-치환 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌, 7-메틸아데닌, 2-F-아데닌, 2-아미노-아데닌, 8-아자구아닌, 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌, 7-데아자아데닌, 3-데아자구아닌, 3-데아자아데닌, 삼환식 피리미딘, 페녹사진 시티딘([5,4-b][1,4]벤족사진-2(3H)-온), 페노티아진 시티딘(1H-피리미도[5,4-b][1,4]벤조티아진-2(3H)-온), G-클램프, 페녹사진 시티딘(예를 들어 9-(2-아미노에톡시)-H-피리미도[5,4-b][1,4]벤족사진-2(3H)-온), 카르바졸 시티딘(2H-피리미도[4,5-b]인돌-2-온), 피리도인돌 시티딘(H-피리도[3',2':4,5]피롤로[2,3-d]피리미딘-2-온), 퓨린 또는 피리미딘 염기가 다른 복소환으로 대체된 것, 7-데아자-아데닌, 7-데아자구아노신, 2-아미노 피리딘, 2-피리돈, 아자시토신, 5-브로모시토신, 브로모우라실, 5-클로로시토신, 염소화 시토신, 사이클로시토신, 시토신 아라비노사이드, 5-플루오로시토신, 플루오로피리미딘, 플루오로우라실, 5,6-디히드로시토신, 5-요오도시토신, 히드록시우레아, 요오도우라실, 5-니트로시토신, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-플루오로우라실, 및 5-요오도우라실, 2-아미노-아데닌, 6-티오-구아닌, 2-티오-티민, 4-티오-티민, 5-프로피닐-우라실, 4-티오-우라실, N4-메틸시토신, 7-데아자구아닌, 7-데아자-8-아자구아닌, 5-히드록시시토신, 2'-데옥시우리딘, 2-아미노-2'-데옥시아데노신, 및 미국 특허 제3,687,808호; 미국 특허 제4,845,205호; 미국 특허 제4,910,300호; 미국 특허 제4,948,882호; 미국 특허 제5,093,232호; 미국 특허 제5,130,302호; 미국 특허 제5,134,066호; 미국 특허 제5,175,273호; 미국 특허 제5,367,066호; 미국 특허 제5,432,272호; 미국 특허 제5,457,187호; 미국 특허 제5,459,255호; 미국 특허 제5,484,908호; 미국 특허 제5,502,177호; 미국 특허 제5,525,711호; 미국 특허 제5,552,540호; 미국 특허 제5,587,469호; 미국 특허 제5,594,121호; 미국 특허 제5,596,091호; 미국 특허 제5,614,617호; 미국 특허 제5,645,985호; 미국 특허 제5,681,941호; 미국 특허 제5,750,692호; 미국 특허 제5,763,588호; 미국 특허 제5,830,653호 및 미국 특허 제6,005,096호; 국제 공개 제99/62923호; 문헌[Kandimalla *et al.*, (2001) *Bioorg. Med. Chem.* 9:807-813]; 문헌[The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Kroschwitz, J.I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859]; 문헌[Englisch *et al.*, *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613]; 및 문헌[Sanghvi, Chapter 15, *Antisense Research and Applications*, Crooke and Lebleu Eds., CRC Press, 1993, 273-288]에 기술된 것. 추가의 염기 변형은 예를 들어 미국 특허 제 3,687,808호; 문헌[Englisch *et al.*, *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613]; 및 문헌[Sanghvi, Chapter 15, *Antisense Research and Applications*, pages 289-302, Crooke and Lebleu ed., CRC Press, 1993]에서 발견될 수 있다. 이들 참고문헌 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0598]

다양한 헤테로사이클릭 염기 및 다양한 당 모이어티(및 당 유사체)를 포함하는 비천연 핵산은 당업계에서 이용

가능하고, 일부 경우에 핵산은 자연 발생 핵산의 주요 5가지 염기 성분 이외의 하나 또는 여러 헤테로사이클릭 염기를 포함한다. 예를 들어, 일부 경우에 헤테로사이클릭 염기는 우라실-5-일, 시토신-5-일, 아데닌-7-일, 아데닌-8-일, 구아닌-7-일, 구아닌-8-일, 4-아미노피콜로 [2.3-d] 피리미딘-5-일, 2-아미노-4-옥소피콜로 [2, 3-d] 피리미딘-5-일, 2-아미노-4-옥소피콜로 [2.3-d] 피리미딘-3-일 기를 포함하며, 여기서 퓨린은 9-위치를 통하여, 피리미딘은 1-위치를 통하여, 피콜로피리미딘은 7-위치를 통하여, 그리고 피라졸로피리미딘은 1-위치를 통하여 핵산의 당 모이어티에 부착된다.

[0599] 일부 실시형태에서, 뉴클레오타이드 유사체는 또한 포스페이트 모이어티에서 변형된다. 변형된 포스페이트 모이어티는 2개의 뉴클레오타이드 사이의 연결에서 변형을 갖는 것을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않으며, 예를 들어 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 예를 들어 3'-알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트, 포스포네이트, 포스포아미데이트, 예를 들어 3'-아미노 포스포아미데이트 및 아미노알킬포스포아미데이트, 티오노포스포아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르 및 보라노포스페이트를 함유한다. 2개의 뉴클레오타이드 사이의 이러한 포스페이트 또는 변형된 포스페이트 연결은 3'-5' 연결 또는 2'-5' 연결을 통한 것이며, 연결은 3'-5'에서 5'-3', 또는 2'-5'에서 5'-2'와 같은 반전 극성을 포함하는 것으로 이해된다. 다양한 염, 혼합염 및 유리산 형태가 또한 포함된다. 다수의 미국 특허는 변형된 포스페이트를 함유하는 뉴클레오타이드의 제조 및 사용 방법을 교시하며, 3,687,808호; 4,469,863호; 4,476,301호; 5,023,243호; 5,177,196호; 5,188,897호; 5,264,423호; 5,276,019호; 5,278,302호; 5,286,717호; 5,321,131호; 5,399,676호; 5,405,939호; 5,453,496호; 5,455,233호; 5,466,677호; 5,476,925호; 5,519,126호; 5,536,821호; 5,541,306호; 5,550,111호; 5,563,253호; 5,571,799호; 5,587,361호; 및 5,625,050호를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0600] 일부 실시형태에서, 비천연 핵산은 2',3'-디데옥시-2',3'-디데하이드로-뉴클레오사이드(PCT/US2002/006460), 5'-치환된 DNA 및 RNA 유도체(PCT/US2011/033961; Saha et al., J. Org Chem., 1995, 60, 788-789; Wang et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1999, 9, 885-890; 및 Mikhailov et al., Nucleosides & Nucleotides, 1991, 10(1-3), 339-343; Leonid et al., 1995, 14(3-5), 901-905; 및 Eppacher et al., Helvetica Chimica Acta, 2004, 87, 3004-3020; PCT/JP2000/004720; PCT/JP2003/002342; PCT/JP2004/013216; PCT/JP2005/020435; PCT/JP2006/315479; PCT/JP2006/324484; PCT/JP2009/056718; PCT/JP2010/067560), 또는 변형된 염기를 갖는 모노포스페이트로서 제조된 5'-치환된 단량체(Wang et al., Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids, 2004, 23 (1 & 2), 317-337)를 포함한다. 이들 참고문헌 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0601] 일부 실시형태에서, 비천연 핵산은 당 고리의 5' -위치 및 2' -위치에서의 변형(PCT/US94/02993), 예컨대 5' -CH₂-치환 2' -O-보호 뉴클레오사이드(문헌[Wu et al., Helvetica Chimica Acta, 2000, 83, 1127-1143] 및 문헌[Wu et al., Bioconjugate Chem. 1999, 10, 921-924])를 포함한다. 일부 경우에, 비천연 핵산은 아마이드 연결 뉴클레오사이드 이량체가 올리고뉴클레오타이드 내로의 혼입을 위하여 제조된 것을 포함하며, 여기서, 이량체 중 3' 연결 뉴클레오사이드(5' →3')는 2' -OCH₃ 및 5' -(S)-CH₃을 포함한다(문헌[Mesmaeker et al., Synlett, 1997, 1287-1290]). 비천연 핵산은 2' -치환 5' -CH₂(또는 O) 변형 뉴클레오사이드를 포함할 수 있다(PCT/US92/01020). 비천연 핵산은 5' -메틸렌포스포네이트 DNA 및 RNA 단량체 및 이량체를 포함할 수 있다(문헌[Bohringer et al., Tet. Lett., 1993, 34, 2723-2726]; 문헌[Collingwood et al., Synlett, 1995, 7, 703-705]; 및 문헌[Hutter et al., Helvetica Chimica Acta, 2002, 85, 2777-2806]). 비천연 핵산은 2'-치환을 갖는 5'-포스포네이트 단량체(US2006/0074035) 및 기타 변형된 5'-포스포네이트 단량체(WO1997/35869)를 포함할 수 있다. 비천연 핵산은 5'-변형된 메틸렌포스포네이트 단량체를 포함할 수 있다(EP614907 및 EP629633). 비천연 핵산은 5' 및/또는 6' -위치에 히드록실 기를 포함하는 5' 또는 6' -포스포네이트 리보뉴클레오사이드의 유사체를 포함할 수 있다(문헌[Chen et al., Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2002, 777, 1783-1786]; 문헌[Jung et al., Bioorg. Med. Chem., 2000, 8, 2501-2509]; 문헌[Gallier et al., Eur. J. Org. Chem., 2007, 925-933]; 및 문헌[Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19(8), 1029-1033]). 비천연 핵산은 5' -포스페이트 기를 갖는 5' -포스포네이트 데옥시리보뉴클레오사이드 단량체 및 이량체를 포함할 수 있다(문헌[Nawrot et al., Oligonucleotides, 2006, 16(1), 68-82]). 비천연 핵산은 6' -포스포네이트 기를 갖는 뉴클레오사이드를 포함할 수 있으며, 여기서, 5' 및/또는 6' -위치는 비치환되거나 티오-tert-부틸 기(SC(CH₃)₃)(및 이의 유사

체); 메틸렌아미노 기(CH_2NH_2)(및 이의 유사체) 또는 시아노 기(CN)(및 이의 유사체)로 치환된다(문헌[Fairhurst et al., Synlett, 2001, 4, 467-472]; 문헌[Kappler et al., J. Med. Chem., 1986, 29, 1030-1038]; 문헌[Kappler et al., J. Med. Chem., 1982, 25, 1179-1184]; 문헌[Vrudhula et al., J. Med. Chem., 1987, 30, 888-894]; 문헌[Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19, 1371-1377]; 문헌[Geze et al., J. Am. Chem. Soc, 1983, 105(26), 7638-7640]; 및 문헌[Hampton et al., J. Am. Chem. Soc, 1973, 95(13), 4404-4414]). 이들 참고문헌 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0602] 일부 실시형태에서, 비천연 핵산은 또한 당 모이어티의 변형을 포함한다. 일부 경우에, 핵산은 당 기가 변형된 하나 이상의 뉴클레오사이드를 함유한다. 이러한 당 변형 뉴클레오사이드는 향상된 뉴클레아제 안정성, 증가된 결합 친화성, 또는 일부 다른 유익한 생물학적 특성을 부여할 수 있다. 특정 실시형태에서, 핵산은 화학적 변형 리보푸라노스 고리 모이어티를 포함한다. 화학적으로 변형된 리보푸라노스 고리의 예는 치환기(5' 및/또는 2' 치환기 포함)의 부가; 이환식 핵산(BNA)을 형성하기 위한 2개의 고리 원자의 가교; S, N(R), 또는 C(R₁)(R₂) (R = H, C₁-C₁₂ 알킬 또는 보호기)에 의한 리보실 고리 산소 원자의 대체; 및 이들의 조합을 제한 없이 포함한다. 화학적으로 변형된 당의 예는 WO2008/101157, US2005/0130923, 및 WO2007/134181에서 확인할 수 있으며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0603] 일부 경우에, 변형된 핵산은 변형된 당 또는 당 유사체를 포함한다. 따라서, 리보스 및 데옥시리보스 이외에, 당 모이어티는 펜토스, 데옥시펜토스, 헥소스, 데옥시헥소스, 글루코스, 아라비노스, 자일로스, 릭소스, 또는 당 "유사체" 사이클로펜틸기일 수 있다. 당은 피라노실 또는 푸라노실 형태일 수 있다. 당 모이어티는 리보스, 데옥시리보스, 아라비노스 또는 2'-O-알킬리보스의 푸라노시드일 수 있고, 당은 [알파] 또는 [베타] 아노머 입체배치로 각각의 헤테로사클릭 염기에 부착될 수 있다. 당 변형은 2'-알콕시-RNA 유사체, 2'-아미노-RNA 유사체, 2'-플루오로-DNA, 및 2'-알콕시- 또는 아미노-RNA/DNA 키메라를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 당 변형은 2'-O-메틸-우리딘 또는 2'-O-메틸-시티딘을 포함할 수 있다. 당 변형은 2'-O-알킬-치환 데옥시리보뉴클레오사이드 및 2'-O-에틸렌글리콜 유사 리보뉴클레오사이드를 포함한다. 이러한 당 또는 당 유사체, 및 이러한 당 또는 유사체가 헤테로사클릭 염기(핵산 염기)에 부착된 각각의 "뉴클레오사이드"의 제조는 알려져 있다. 당 변형이 또한 이루어지고 다른 변형과 조합될 수 있다.

[0604] 당 모이어티에 대한 변형은 리보스 및 데옥시리보스의 천연 변형, 및 비천연 변형을 포함한다. 당 변형은 2' 위치에서의 다음과 같은 변형을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다: OH; F; O-, S-, 또는 N-알킬; O-, S-, 또는 N-알케닐; O-, S-, 또는 N-알킬닐; 또는 O-알킬-O-알킬(알킬, 알케닐, 및 알킬닐은 치환 또는 비치환 C₁ 내지 C₁₀ 알킬 또는 C₂ 내지 C₁₀ 알케닐 및 알킬닐일 수 있음). 2' 당 변형은 또한 -O[(CH₂)_nO]_m CH₃, -O(CH₂)_nOCH₃, -O(CH₂)_nNH₂, -O(CH₂)_nCH₃, -O(CH₂)_nONH₂, 및 -O(CH₂)_nON[(CH₂)_n CH₃]₂를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다(n 및 m은 1 내지 약 10임).

[0605] 2' 위치에서의 다른 변형은 다음을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다: C₁ 내지 C₁₀ 저급 알킬, 치환된 저급 알킬, 알카릴, 아랄킬, O-알카릴, O-아랄킬, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂ CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, 헤테로사이클로알킬, 헤테로사이클로알카릴, 아미노알킬아미노, 폴리알킬아미노, 치환된 실릴, RNA 절단 기, 리포터 기, 인터칼레이터, 올리고뉴클레오타이드의 약동학적 특성을 개선하기 위한 기, 또는 올리고뉴클레오타이드의 약력학적 특성을 개선하기 위한 기, 및 유사한 특성을 갖는 다른 치환기. 유사한 변형이 또한 당 상의 다른 위치, 구체적으로, 3' 말단 뉴클레오타이드 상의 또는 2' -5' 연결 올리고뉴클레오타이드들 내의 당의 3' 위치 및 5' 말단 뉴클레오타이드의 5' 위치에서 이루어질 수 있다. 변형 당은 또한 CH₂ 및 S와 같은 가교 고리 산소에서의 변형을 함유하는 것을 포함한다. 뉴클레오타이드 당 유사체는 또한 당 모방체, 예컨대 사이클로부틸 모이어티를 펜토푸라노실 당 대신 가질 수 있다. 이러한 변형 당 구조의 제조를 교시하고 일련의 염기 변형을 상술 및 기술하는 다수의 미국 특허, 예컨대 미국 특허 제4,981,957호; 미국 특허 제5,118,800호; 미국 특허 제5,319,080호; 미국 특허 제5,359,044호; 미국 특허 제5,393,878호; 미국 특허 제5,446,137호; 미국 특허 제5,466,786호; 미국 특허 제5,514,785호; 미국 특허 제5,519,134호; 미국 특허 제5,567,811호; 미국 특허 제5,576,427호; 미국 특허 제5,591,722호; 미국 특허 제5,597,909호; 미국 특허 제5,610,300호; 미국 특허 제5,627,053호; 미국 특허 제5,639,873호; 미국 특허 제5,646,265호; 미국 특허 제5,658,873호; 미국 특허 제5,670,633호; 미국 특허 제4,845,205호; 미국 특허 제5,130,302호; 미국 특허 제5,134,066호; 미국 특허 제5,175,273호; 미국 특허 제5,367,066호; 미국 특허 제5,432,272호; 미국 특허 제5,457,187호; 미국 특허 제

5,459,255호; 미국 특허 제5,484,908호; 미국 특허 제5,502,177호; 미국 특허 제5,525,711호; 미국 특허 제5,552,540호; 미국 특허 제5,587,469호; 미국 특허 제5,594,121호, 미국 특허 제5,596,091호; 미국 특허 제5,614,617호; 미국 특허 제5,681,941호; 및 미국 특허 제5,700,920호가 있으며, 이들 각각은 본원에 그 전체가 참고로 포함된다.

[0606] 변형된 당 모이어티를 갖는 핵산의 예는 5'-비닐, 5'-메틸(R 또는 S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 및 2'-O(CH₂)₂OCH₃ 치환기를 포함하는 핵산을 제한 없이 포함한다. 2' 위치에서의 치환기는 또한 알릴, 아미노, 아지도, 티오, O-알릴, O-(C₁-C₁₀ 알킬), OCF₃, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), 및 O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n)으로부터 선택될 수 있으며, 여기서 각각의 R_m 및 R_n은 독립적으로 H 또는 치환된 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬이다.

[0607] 특정 실시형태에서, 본원에 기술된 핵산은 하나 이상의 이환식 핵산을 포함한다. 소정의 이러한 실시형태에서, 이환식 핵산은 4' 및 2' 리보실 고리 원자 사이의 가교체를 포함한다. 특정 실시형태에서, 본원에 제공된 핵산은 하나 이상의 이환식 핵산을 포함하며, 여기서 가교체는 4'→2' 이환식 핵산을 포함한다. 이러한 4'→2' 이환식 핵산의 예는 화학식 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' 및 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2', 및 이들의 유사체(미국 특허 제7,399,845호 참조); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' 및 이의 유사체(국제 공개 제2009/006478호, 국제 공개 제2008/150729호, 미국 특허 출원 공개 공보 제2004/0171570호, 미국 특허 제7,427,672호, 문헌[Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 209, 74, 118-134], 및 국제 공개 제2008/154401호 참조) 중 하나를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 또한 예를 들어: 문헌[Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456]; 문헌[Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630]; 문헌[Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638]; 문헌[Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222]; 문헌[Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039]; 문헌[Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379]; 문헌[Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561]; 문헌[Braasch et al., Chem. Biol, 2001, 8, 1-7]; 문헌[Oram et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243]; 미국 특허 제4,849,513호; 미국 특허 제5,015,733호; 미국 특허 제5,118,800호; 미국 특허 제5,118,802호; 미국 특허 제7,053,207호; 미국 특허 제6,268,490호; 미국 특허 제6,770,748호; 미국 특허 제6,794,499호; 미국 특허 제7,034,133호; 미국 특허 제6,525,191호; 미국 특허 제6,670,461호; 및 미국 특허 제7,399,845호; 국제 공개 제2004/106356호, 국제 공개 제1994/14226호, 국제 공개 제2005/021570호, 국제 공개 제2007/090071호, 및 국제 공개 제2007/134181호; 미국 특허 출원 공개 공보 제2004/0171570호, 미국 특허 출원 공개 공보 제2007/0287831호, 및 미국 특허 출원 공개 공보 제2008/0039618호; 미국 가출원 제60/989,574호, 미국 가출원 제61/026,995호, 미국 가출원 제61/026,998호, 미국 가출원 제61/056,564호, 미국 가출원 제61/086,231호, 미국 가출원 제61/097,787호, 및 미국 가출원 제61/099,844호; 및 국제 출원 PCT/US2008/064591, PCT US2008/066154, PCT US2008/068922, 및 PCT/DK98/00393을 참조하며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0608] 특정 실시형태에서, 핵산은 연결된 핵산을 포함한다. 핵산은 임의의 핵산간 연결을 사용하여 서로 연결될 수 있다. 핵산간 연결기의 두 가지 주요 부류는 인 원자의 존재 또는 부재에 의해 정의된다. 대표적인 인 함유 핵산간 연결은 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포라미데이트, 및 포스포로티오에이트(P=S)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 대표적인 인 비함유 핵산간 연결기는 메틸렌메틸이미노(-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-), 티오디에스테르(-O-C(O)-S-), 티오노카르바메이트(-O-C(O)(NH)-S-); 실록산(-O-Si(H)₂-O-); 및 N,N*-디메틸히드라진(-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃))을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 키랄 원자를 갖는 핵산간 연결은 라세미 혼합물, 별개의 거울상이성체, 예를 들어, 알킬포스포네이트 및 포스포로티오에이트로서 제조될 수 있다. 비천연 핵산은 단일 변형을 포함할 수 있다. 비천연 핵산은 모이어티 중 하나 내에 또는 서로 다른 모이어티 사이에 다수의 변형을 포함할 수 있다.

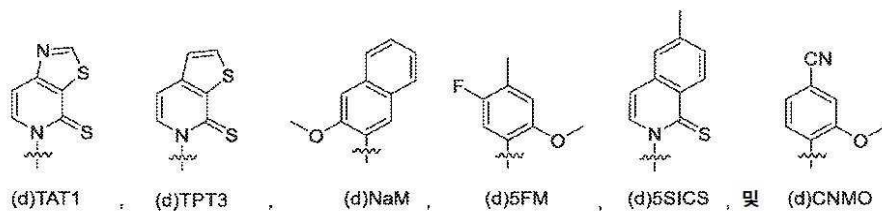
[0609] 핵산에 대한 골격 포스페이트 변형은 메틸 포스포네이트, 포스포로티오에이트, 포스포라미데이트(가교 또는 비가교), 포스포트리에스테르, 포스포로디티오에이트, 포스포디티오에이트, 및 보라노포스페이트를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 다른 비포스페이트 연결도 사용될 수 있다.

[0610] 일부 실시형태에서, 골격 변형(예를 들어, 메틸포스포네이트, 포스포로티오에이트, 포스포로아미데이트, 및 포스포로디티오에이트 뉴클레오타이드간 연결)은 변형된 핵산에 면역조절 활성을 부여하고/하거나 이의 생체 내 안정성을 향상시킬 수 있다.

- [0611] 일부 경우에, 인 유도체(또는 변형된 포스페이트기)는 당 또는 당 유사체 모이어티에 부착되며, 모노포스페이트, 디포스페이트, 트리포스페이트, 알킬포스포네이트, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포라미데이트 등일 수 있다. 변형 포스페이트 연결 또는 비-포스페이트 연결을 포함하는 예시적인 폴리뉴클레오타이드가 문헌[Peyrottes et al., 1996, Nucleic Acids Res. 24: 1841-1848]; 문헌[Chaturvedi et al., 1996, Nucleic Acids Res. 24:2318-2323]; 및 문헌[Schultz et al., (1996) Nucleic Acids Res. 24:2966-2973]; 문헌[Matteucci, 1997, "Oligonucleotide Analogs: an Overview" in Oligonucleotides as Therapeutic Agents, (Chadwick and Cardew, ed.) John Wiley and Sons, New York, NY]; 문헌[Zon, 1993, "Oligonucleoside Phosphorothioates" in Protocols for Oligonucleotides and Analogs, Synthesis and Properties, Humana Press, pp. 165-190]; 문헌[Miller et al., 1971, JACS 93:6657-6665]; 문헌[Jager et al., 1988, Biochem. 27:7247-7246]; 문헌[Nelson et al., 1997, JOC 62:7278-7287]; 미국 특허 제5,453,496호; 및 문헌[Micklefield, 2001, Curr. Med. Chem. 8: 1157-1179]에서 찾을 수 있으며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.
- [0612] 일부 경우에, 골격 변형은 포스포디에스테르 연결이 대안적인 모이어티, 예컨대 음이온성, 중성 또는 양이온성 기로 대체된 것을 포함한다. 이러한 변형의 예는 다음을 포함한다: 음이온성 뉴클레오사이드간 연결; N3' → P5' 포스포라미데이트 변형; 보라노포스페이트 DNA; 프로올리고뉴클레오타이드; 중성 뉴클레오사이드간 연결, 예컨대 메틸포스포네이트; 아마이드 연결된 DNA; 메틸렌(메틸이미노) 연결; 포름아세탈 및 티오포름아세탈 연결; 술폰닐 기를 함유하는 골격; 모르폴리노 올리고; 펩타이드 핵산(PNA); 및 양으로 하전된 테옥시리보핵산 구아닌딘(DNG) 올리고(문헌[Micklefield, 2001, Current Medicinal Chemistry 8: 1157-1179], 이의 개시내용은 본원에 참고로 포함됨). 변형 핵산은 하나 이상의 변형, 예를 들어 포스페이트 연결들의 조합, 예컨대 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트 연결의 조합을 포함하는 키메라 또는 혼합 골격을 포함할 수 있다.
- [0613] 포스페이트의 치환기는, 예를 들어 단쇄 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오사이드간 연결, 혼합된 헤테로원자 및 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오사이드간 연결, 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로시클릭 뉴클레오사이드간 연결을 포함한다. 이들은 (뉴클레오사이드의 당 부분으로부터 부분적으로 형성된) 모르폴리노 연결을 갖는 것; 실록산 골격; 술폰, 술폰사이드 및 술폰 골격; 포름아세탈 및 티오포름아세탈 골격; 메틸렌 포름아세탈 및 티오포름아세탈 골격; 알켄 함유 골격; 술폰메이트 골격; 메틸렌이미노 및 메틸렌히드라지노 골격; 술폰에이트 및 술폰아미드 골격; 아마이드 골격; 및 혼합된 N, O, S, 및 CH₂ 성분 부분을 갖는 그 외의 것들을 포함한다. 다수의 미국 특허는 이러한 유형의 포스페이트 대체물의 제조 및 사용 방법을 개시하며, 미국 특허 5,034,506호; 5,166,315호; 5,185,444호; 5,214,134호; 5,216,141호; 5,235,033호; 5,264,562호; 5,264,564호; 5,405,938호; 5,434,257호; 5,466,677호; 5,470,967호; 5,489,677호; 5,541,307호; 5,561,225호; 5,596,086호; 5,602,240호; 5,610,289호; 5,602,240호; 5,608,046호; 5,610,289호; 5,618,704호; 5,623,070호; 5,663,312호; 5,633,360호; 5,677,437호; 및 5,677,439호를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다. 또한, 뉴클레오타이드 치환에서 뉴클레오타이드의 당 및 포스페이트 모이어티 모두가, 예를 들어 아마이드 유형 연결(아미노에틸글리신)(PNA)에 의해 대체될 수 있다는 것이 이해된다. 미국 특허 제5,539,082호; 미국 특허 제5,714,331호; 및 미국 특허 제5,719,262호는 PNA 분자의 제조 및 사용 방법을 교시하며, 이들 각각은 본원에 참고로 포함된다. 또한 문헌[Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500]을 참조한다. 다른 유형의 분자(콘주게이트)를 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체에 연결하여 예를 들어 세포 흡수를 향상시키는 것이 또한 가능하다. 콘주게이트는 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체에 화학적으로 연결될 수 있다. 이러한 콘주게이트는 지질 모이어티, 예컨대 콜레스테롤 모이어티(문헌[Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556]), 콜산(문헌[Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060]), 티오에테르, 예를 들어, 핵실-S-트리틸티올(문헌[Manoharan et al., Ann. KY. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309]; 문헌[Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770]), 티오펀콜레스테롤(문헌[Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538]), 지방족 사슬, 예를 들어, 도데칸디올 또는 운데실 잔기(문헌[Saison-Behmoaras et al., EMBOJ, 1991, 10, 1111-1118]; 문헌[Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330]; 문헌[Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54]), 인지질, 예를 들어, 디-핵사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1-디-0-핵사데실-rac-글리세롤-S-H-포스포네이트(문헌[Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654]; 문헌[Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783]), 폴리아민 또는 폴리메틸렌 글리콜 사슬(문헌[Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973]), 또는 아다만탄 아세트산(문헌[Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654]), 팔미틸 모이어티(문헌[Mishra et al., Biochem. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237]), 또는 옥타데실아민 또는 핵실아미노-카르보닐-옥시콜레스테

를 모이어티(문헌[Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937])를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 다수의 미국 특허는 이러한 콘주게이트의 제조를 교시하며, 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 미국 특허 제4,828,979호; 미국 특허 제4,948,882호; 미국 특허 제5,218,105호; 미국 특허 제5,525,465호; 미국 특허 제5,541,313호; 미국 특허 제5,545,730호; 미국 특허 제5,552,538호; 미국 특허 제5,578,717호; 미국 특허 제5,580,731호; 미국 특허 제5,580,731호; 미국 특허 제5,591,584호; 미국 특허 제5,109,124호; 미국 특허 제5,118,802호; 미국 특허 제5,138,045호; 미국 특허 제5,414,077호; 미국 특허 제5,486,603호; 미국 특허 제5,512,439호; 미국 특허 제5,578,718호; 미국 특허 제5,608,046호; 미국 특허 제4,587,044호; 미국 특허 제4,605,735호; 미국 특허 제4,667,025호; 미국 특허 제4,762,779호; 미국 특허 제4,789,737호; 미국 특허 제4,824,941호; 미국 특허 제4,835,263호; 미국 특허 제4,876,335호; 미국 특허 제4,904,582호; 미국 특허 제4,958,013호; 미국 특허 제5,082,830호; 미국 특허 제5,112,963호; 미국 특허 제5,214,136호; 미국 특허 제5,082,830호; 미국 특허 제5,112,963호; 미국 특허 제5,214,136호; 미국 특허 제5,245,022호; 미국 특허 제5,254,469호; 미국 특허 제5,258,506호; 미국 특허 제5,262,536호; 미국 특허 제5,272,250호; 미국 특허 제5,292,873호; 미국 특허 제5,317,098호; 미국 특허 제5,371,241호, 미국 특허 제5,391,723호; 미국 특허 제5,416,203호, 미국 특허 제5,451,463호; 미국 특허 제5,510,475호; 미국 특허 제5,512,667호; 미국 특허 제5,514,785호; 미국 특허 제5,565,552호; 미국 특허 제5,567,810호; 미국 특허 제5,574,142호; 미국 특허 제5,585,481호; 미국 특허 제5,587,371호; 미국 특허 제5,595,726호; 미국 특허 제5,597,696호; 미국 특허 제5,599,923호; 미국 특허 제5,599,928호 및 미국 특허 제5,688,941호. 이들 참고문헌 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

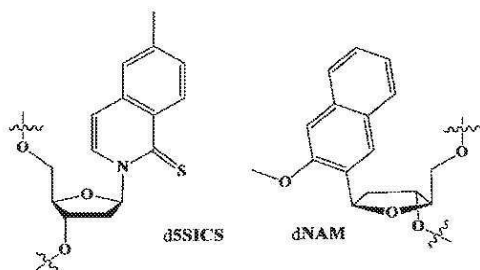
[0614] 일부 경우에, 비천연 핵산은 비천연 염기쌍을 추가로 형성한다. 생체 내 조건하에서 비천연 DNA 또는 RNA 염기쌍(UBP)을 형성할 수 있는 예시적인 비천연 뉴클레오타이드는 TAT1, dTAT1, 5FM, d5FM, TPT3, dTPT3, 5SICS, d5SICS, NaM, dNaM, CNMO, dCNMO, 및 이들의 조합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 비천연 뉴클레오타이드는 다음을 포함한다:



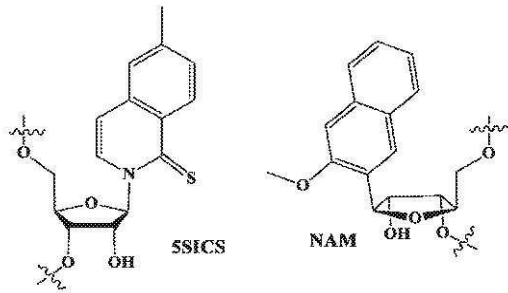
[0615]

[0616] 예시적인 비천연 염기쌍은 다음을 포함한다: (d)TPT3-(d)NaM; (d)5SICS-(d)NaM; (d)CNMO-(d)TAT1; (d)NaM-(d)TAT1; (d)CNMO-(d)TPT3; 및 (d)5FM-(d)TAT1.

[0617] 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 UBPs를 형성할 수 있는 비천연 뉴클레오타이드의 다른 예는 문헌[Dien et al., J Am Chem Soc., 2018, 140:16115-16123]; 문헌[Feldman et al., J Am Chem Soc, 2017, 139:11427-11433]; 문헌[Ledbetter et al., J Am Chem Soc., 2018, 140:758-765]; 문헌[Dhmi et al., Nucleic Acids Res. 2014, 42:10235-10244]; 문헌[Malyshev et al., Nature, 2014, 509:385-388; Betz et al., J Am Chem Soc., 2013, 135:18637-18643]; 문헌[Lavergne et al., J Am Chem Soc. 2013, 135:5408-5419]; 및 문헌[Malyshev et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109:12005-12010]에 기술되어 있으며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다. 일부 실시형태에서, 비천연 뉴클레오타이드는 다음을 포함한다:

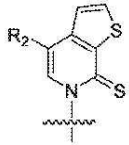


[0618]



[0619]

[0620] 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오타이드는 하기 화학식의 화합물로부터 유도될 수 있다:

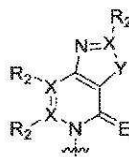


[0621]

[0622] 식 중, R_2 는 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 메톡시, 메탄티올, 메탄셀레노, 할로젠, 시아노, 및 아지드로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0623] 물결선은 리보실 또는 2'-데옥시리보실에 대한 결합을 나타내고, 리보실 또는 2'-데옥시리보실 모이어티의 5'-히드록시 기는 유리 형태이며, 선택적으로 모노포스페이트, 디포스페이트, 또는 트리포스페이트 기에 결합되거나, RNA 또는 DNA 또는 RNA 유사체 또는 DNA 유사체에 포함된다.

[0624] 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오타이드는 하기 화학식의 화합물로부터 유도될 수 있다:



[0625]

[0626] 식 중,

[0627] 각각의 X는 독립적으로 탄소 또는 질소이며;

[0628] R_2 는 X가 질소일 때 존재하지 않고, X가 탄소이고 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 메톡시, 메탄티올, 메탄셀레노, 할로젠, 시아노 또는 아지드일 때 존재하며;

[0629] Y는 황, 산소, 셀레늄 또는 2차 아민이고;

[0630] E는 산소, 황 또는 셀레늄이고; 그리고

[0631] 물결선은 리보실, 데옥시리보실, 또는 디데옥시리보실 모이어티 또는 이의 유사체에 대한 결합 지점을 나타내며, 여기서 리보실, 데옥시리보실 또는 디데옥시리보실 모이어티 또는 이의 유사체는 유리 형태이고, 모노-포스페이트, 디포스페이트, 트리포스페이트, α -티오텐리포스페이트, β -티오텐리포스페이트 또는 γ -티오텐리포스페이트 기에 연결되거나, RNA 또는 DNA 또는 RNA 유사체 또는 DNA 유사체에 포함된다.

[0632] 일부 실시형태에서, 각각의 X는 탄소이다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 X는 탄소이다. 일부 실시형태에서, 하나의 X는 탄소이다. 일부 실시형태에서, 적어도 2개의 X는 탄소이다. 일부 실시형태에서, 2개의 X는 탄소이다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 X는 질소이다. 일부 실시형태에서, 하나의 X는 질소이다. 일부 실시형태에서, 적어도 2개의 X는 질소이다. 일부 실시형태에서, 2개의 X는 질소이다.

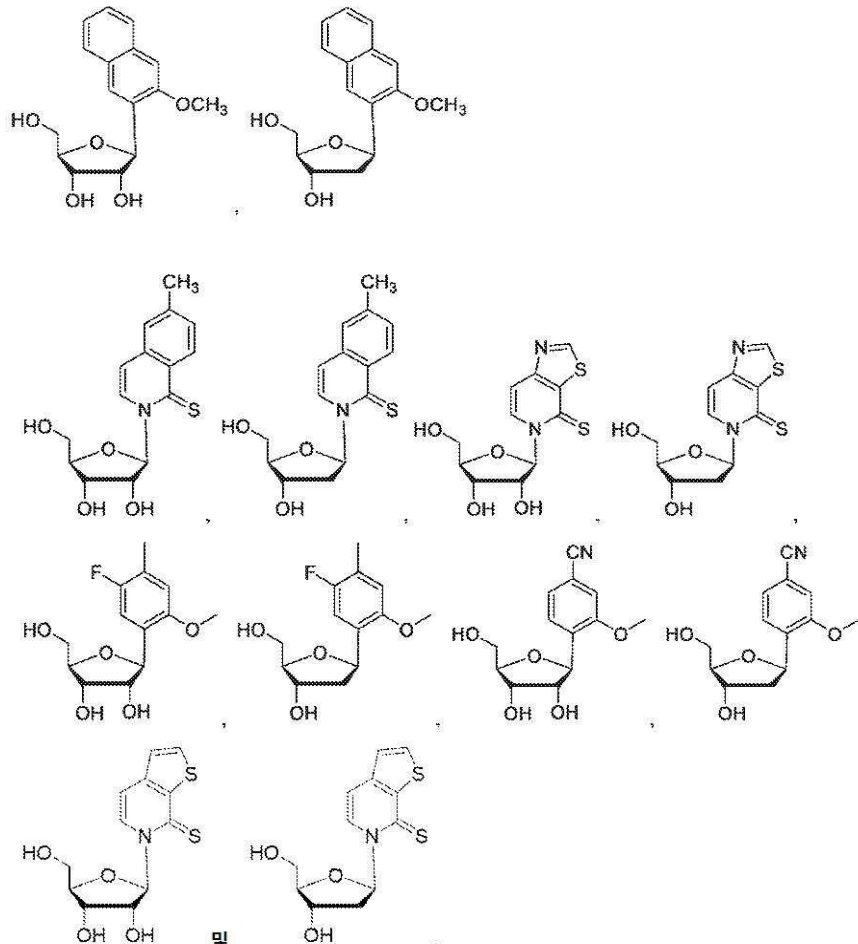
[0633] 일부 실시형태에서, Y는 황이다. 일부 실시형태에서, Y는 산소이다. 일부 실시형태에서, Y는 셀레늄이다. 일부 실시형태에서, Y는 2차 아민이다.

[0634] 일부 실시형태에서, E는 황이다. 일부 실시형태에서, E는 산소이다. 일부 실시형태에서, E는 셀레늄이다.

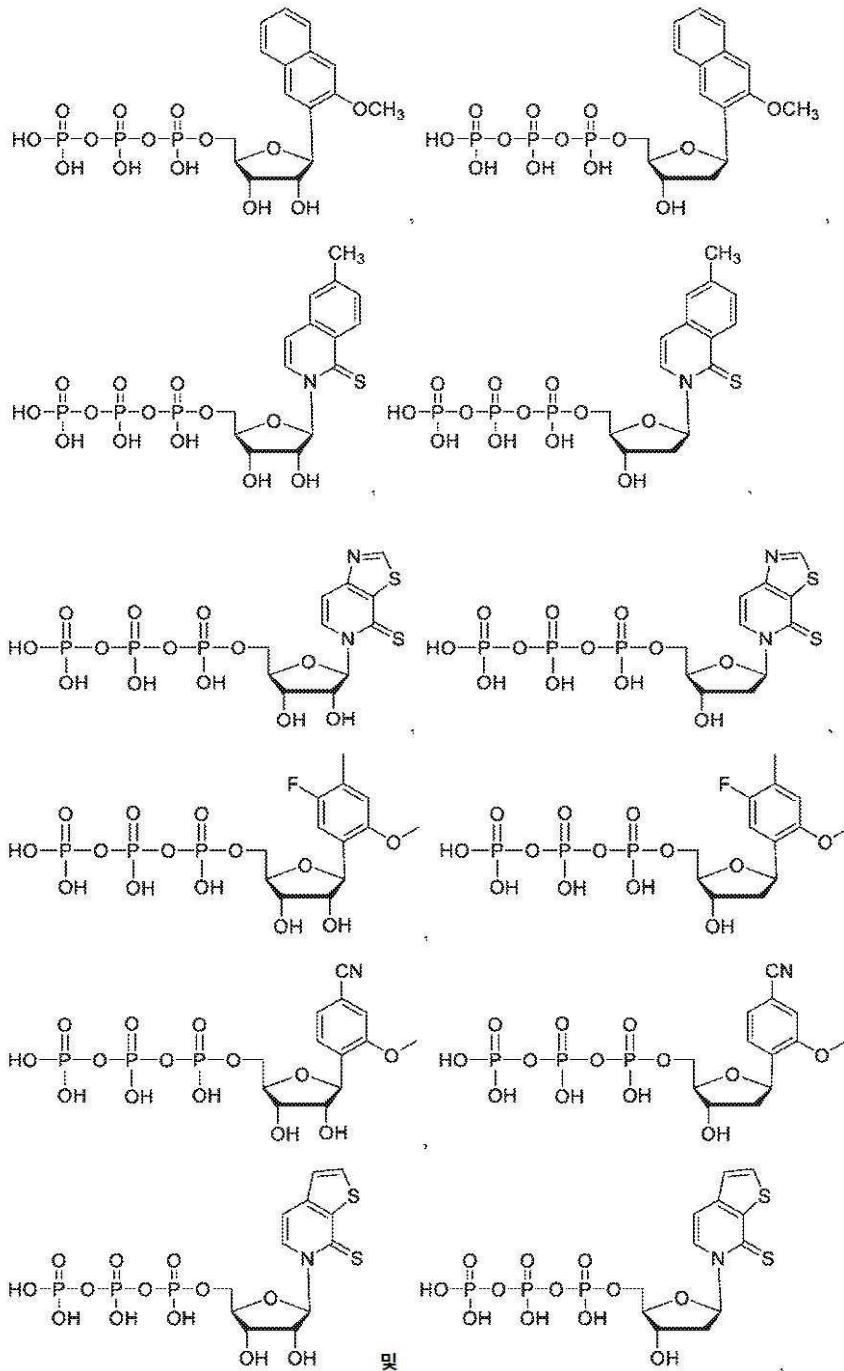
[0635] 특정 실시형태에서, X가 탄소일 때 R_2 가 존재한다. 특정 실시형태에서, X가 질소일 때 R^2 는 존재하지 않는다. 일부 실시형태에서, 각각의 R_2 는 존재하는 경우 수소이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 알킬, 예컨대 메틸, 에틸 또는 프로필이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 알케닐, 예컨대 $-CH_2=CH_2$ 이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 알키닐, 예컨대 에티닐이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 메톡시이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 메탄티올이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 메탄셀레노이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 할로젠, 예컨대 클로로, 브로모, 또는 플루오로이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 시아노이다. 일부 실시형태에서, R_2 는 아지드이다.

[0636] 일부 실시형태에서, E는 황이고, Y는 황이고, 각각의 X는 독립적으로 탄소 또는 질소이다. 일부 실시형태에서, E는 황이고, Y는 황이고, 각각의 X는 탄소이다.

[0637] 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오타이드는



[0638] 로부터 유도될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘쥬게이트를 제조하는 데 사용될 수 있는 비천연 뉴클레오타이드는



[0639]

또는 이들의 염을 포함한다.

[0640]

일부 실시형태에서, 비천연 염기쌍은 문헌[Dumas *et al.*, "Designing logical codon reassignment - Expanding the chemistry in biology," *Chemical Science*, **6**: 50-69 (2015)]에 기술된 비천연 아미노산을 생성하며, 이들의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0641]

일부 실시형태에서, 비천연 아미노산은 비천연 핵산을 포함하는 합성 코돈에 의해 사이토카인(예를 들어, IL 폴 리펩타이드)에 통합된다. 일부 경우에, 비천연 아미노산은 직교성 변형 신테타아제/tRNA 쌍에 의해 사이토카인 에 통합된다. 이러한 직교성 쌍은, a) 비천연 tRNA에 다른 내인성 아미노산이 차징(charging)되는 것 및 b) 다 른 내인성 tRNA에 비천연 아미노산이 차징되는 것을 최소화하면서 비천연 tRNA를 비천연 아미노산으로 차징시킬 수 있는 비천연 신테타아제를 포함한다. 이러한 직교성 쌍은, a) 내인성 신테타아제에 의해 다른 내인성 아미노 산으로 차징되는 것을 방지하면서 비천연 신테타아제에 의해 차징될 수 있는 tRNA를 포함한다. 일부 실시형태에 서, 이러한 쌍은 다양한 유기체, 예컨대 박테리아, 효모, 고세균, 또는 인간 원천으로부터 확인된다. 일부 실시 형태에서, 직교성 신테타아제/tRNA 쌍은 단일 유기체로부터의 성분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 직교성 신 테타아제/tRNA 쌍은 2개의 상이한 유기체로부터의 성분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제 /tRNA 쌍은 변형 전에 2개의 상이한 아미노산의 번역을 촉진하는 성분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 직교성

신테타아제는 변형된 알라닌 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 아르기닌 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 아스파라긴 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 아스파르트산 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 시스테인 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 글루타민 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 글루탐산 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 알라닌 글리신이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 히스티딘 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 류신 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 이소류신 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 리신 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 메티오닌 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 페닐알라닌 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 프롤린 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 세린 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 트레오닌 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 트립토판 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 티로신 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 발린 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 신테타아제는 변형된 포스포세린 신테타아제이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 알라닌 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 아르기닌 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 아스파라긴 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 아스파르트산 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 시스테인 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 글루타민 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 글루탐산 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 알라닌 글리신이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 히스티딘 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 류신 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 이소류신 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 리신 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 메티오닌 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 페닐알라닌 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 프롤린 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 세린 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 트레오닌 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 트립토판 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 티로신 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 발린 tRNA이다. 일부 실시형태에서, 직교성 tRNA는 변형된 포스포세린 tRNA이다.

[0642] 일부 실시형태에서, 비천연 아미노산은 아미노아실(aaRS 또는 RS)-tRNA 신테타아제-tRNA 쌍에 의해 사이토카인(예를 들어, IL 폴리펩타이드)에 통합된다. 예시적인 aaRS-tRNA 쌍은 메타노코커스 야나스치(*Methanococcus jannaschii*)(*Mj-Tyr*) aaRS/tRNA 쌍, 이. 콜라이(*E. coli*) *TyrRS(Ec-Tyr)*/비. 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*) tRNA_{CUA} 쌍, 이. 콜라이 *LeuRS(Ec-Leu)*/비. 스테아로써모필루스 tRNA_{CUA} 쌍 및 피롤리실-tRNA 쌍을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 경우에, 비천연 아미노산은 *Mj-TyrRS/tRNA* 쌍에 의해 사이토카인(예를 들어, IL 폴리펩타이드)에 통합된다. *Mj-TyrRS/tRNA* 쌍에 의해 통합될 수 있는 예시적인 UAA는 파라-치환된 페닐알라닌 유도체, 예컨대 *p*-아미노페닐알라닌 및 *p*-메톡시페닐알라닌; 메타-치환된 티로신 유도체, 예컨대 3-아미노티로신, 3-니트로티로신, 3,4-디히드록시페닐알라닌 및 3-요오도티로신; 페닐셀레노시스테인; *p*-보로노페닐알라닌; 및 *o*-니트로벤질티로신을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0643] 일부 경우에, 비천연 아미노산은 *Ec-Tyr/tRNA_{CUA}* 또는 *Ec-Leu/tRNA_{CUA}* 쌍에 의해 사이토카인(예를 들어, IL 폴리펩타이드)에 통합된다. *Ec-Tyr/tRNA_{CUA}* 또는 *Ec-Leu/tRNA_{CUA}* 쌍에 의해 통합될 수 있는 예시적인 UAA는 벤조페논, 케톤, 요오다이드, 또는 아지드 치환기를 함유하는 페닐알라닌 유도체; *O*-프로파르길티로신; α -아미노카프릴산, *O*-메틸 티로신, *O*-니트로벤질 시스테인; 및 3-(나프탈렌-2-일아미노)-2-아미노-프로판산을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0644] 일부 경우에, 비천연 아미노산은 피롤리실-tRNA 쌍에 의해 사이토카인(예를 들어, IL 폴리펩타이드)에 통합된다. 일부 경우에, PyIRS는 고세균, 예를 들어 메탄생성 고세균으로부터 얻어진다. 일부 경우에, PyIRS는 메타노사르시나 바르케리(*Methanosarcina barkeri*), 메타노사르시나 마제이(*Methanosarcina mazei*) 또는 메타노사르시나 아세티보란스(*Methanosarcina acetivorans*)로부터 얻어진다. 피롤리실-tRNA 쌍에 의해 통합될 수 있는 예시적인 UAA는 아미드 및 카르바메이트 치환된 리신, 예컨대 2-아미노-6-((R)-테트라히드로푸란-2-카르복사미도)헥산산, *N*- ϵ -D-프롤릴-L-리신, 및 *N*- ϵ -사이클로펜틸옥시카르보닐-L-리신; *N*- ϵ -아크틸로일-L-리신; *N*- ϵ -[(1-(6-니트로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)에톡시)카르보닐]-L-리신; 및 *N*- ϵ -(1-메틸사이클로프로-2-엔카르복사미도)리신을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트는 엠. 바르케리 피롤리실-tRNA 신테타아제(*Mb* PyIRS)에 의해 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)과 같은 비천

연 아미노산으로 선택적으로 차징되는 *엠. 마제이*(*M. mazei*) tRNA를 사용하여 제조될 수 있다. 문헌[Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644-647]에 개시된 것과 같은 다른 방법들은 당업자에게 알려져 있으며, 이의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0645] 일부 경우에, 비천연 아미노산은 US 9,988,619 및 US 9,938,516에 개시된 신테타아제에 의해 본원에 기술된 사이토카인(예를 들어, IL 폴리펩타이드)에 통합되며, 이의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0646] 본원에 개시된 작제물 또는 벡터가 도입된 숙주 세포는 tRNA, tRNA 신테타아제 및 관심 단백질이 생산되도록 적합한 배지에서 배양되거나 유지된다. 배지는 또한 관심 단백질이 비천연 아미노산(들)을 통합시키도록 비천연 아미노산(들)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 박테리아, 식물, 또는 조류의 뉴클레오사이드 트리포스페이트 수송체(NTT)가 숙주 세포에 또한 존재한다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트는 NTT를 발현하는 숙주 세포를 사용하여 제조된다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포에 사용되는 뉴클레오타이드 뉴클레오사이드 트리포스페이트 수송체는 TpNTT1, TpNTT2, TpNTT3, TpNTT4, TpNTT5, TpNTT6, TpNTT7, TpNTT8(티. 슈도나나(*T. pseudonana*)), PtNTT1, PtNTT2, PtNTT3, PtNTT4, PtNTT5, PtNTT6(피. 트리코르누툼(*P. tricornutum*)), GsNTT(갈디에리아 설퍼라리아(*Galdieria sulphuraria*)), AtNTT1, AtNTT2(아라비도시스 탈리아나(*Arabidopsis thaliana*)), CtNTT1, CtNTT2(클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*)), PamNTT1, PamNTT2(프로토클라미디아 아모에보필라(*Protochlamydia amoebophila*)), CcNTT(카에디박터 카리오필루스(*Caedibacter caryophilus*)), RpNTT1(리케차 프로와제키(*Rickettsia prowazekii*)))로부터 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT1, PtNTT2, PtNTT3, PtNTT4, PtNTT5, 및 PtNTT6으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT1이다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT2이다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT3이다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT4이다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT5이다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT6이다. 사용될 수 있는 다른 NTT는 문헌[Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644-647]; 문헌[Malyshev et al. Nature 2014 (509(7500), 385-388); 및 문헌[Zhang et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114:1317-1322]에 기술되어 있는 것인, *엠. 마제이*(*M. mazei*)로부터 유래된 것을 포함하며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0647] 직교성 tRNA 신테타아제/tRNA 쌍은 tRNA를 비천연 아미노산으로 차징하고, 코돈에 반응하여 비천연 아미노산을 폴리펩타이드 사슬에 통합시킨다. 예시적인 aaRS-tRNA 쌍은 메타노코쿠스 얀나스키(*Mj-Tyr*) aaRS/tRNA 쌍, 이. 콜라이 TyrRS(*Ec-Tyr*)/비. 스테아로써모필루스 tRNA_{CUA} 쌍, 이. 콜라이 LeuRS(*Ec-Leu*)/비. 스테아로써모필루스 tRNA_{CUA} 쌍 및 피롤리실-tRNA 쌍을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 본 발명에 따라 사용될 수 있는 다른 aaRS-tRNA 쌍은 문헌[Feldman et al., J Am Chem Soc., 2018 140:1447-1454]; 및 문헌[Zhang et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114:1317-1322]에 기술되어 있으며, 이들 각각의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

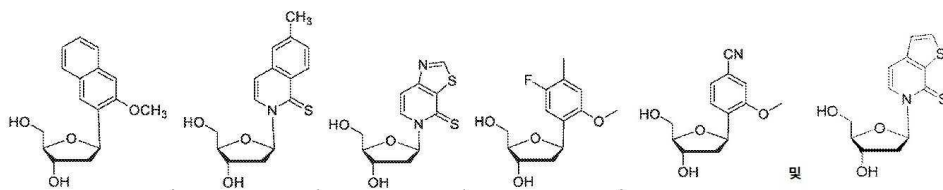
[0648] 일부 실시형태에서, NTT 및 tRNA 신테타아제를 발현하는 세포 시스템에서 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트를 제조하는 방법이 제공된다. 본원에 기재된 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT1, PtNTT2, PtNTT3, PtNTT4, PtNTT5, 및 PtNTT6으로부터 선택되고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 얀나스키(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS(*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 및 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT1이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 얀나스키(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS (*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 또는 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT2이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 얀나스키(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS (*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 또는 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT3이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 얀나스키(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS (*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 또는 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT4이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 얀나스키(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS (*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 또는 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT5이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 얀나스키(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS (*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 또는 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, NTT는 PtNTT6이고, tRNA 신테타아제는 메타노코쿠스 얀나스키(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS (*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 또는 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 유래된다.

(*Methanococcus jannaschii*), 이. 콜라이(*E. coli*) TyrRS (*Ec-Tyr*)/바실루스 스테아로써모필루스(*B. stearothermophilus*), 또는 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*)로부터 유래된다.

[0649]

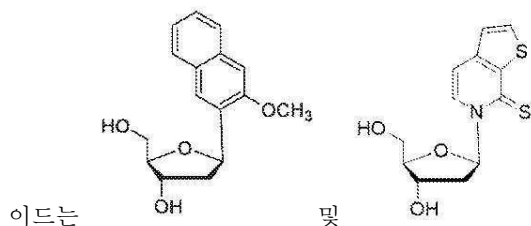
일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트는 (a) 뉴클레오타이드 트리포스페이트 수송체 P1NTT2(전장 단백질의 처음 65개 아미노산 잔기가 결실된 절단된 변이체 포함), (b) 원하는 아미노산 서열을 갖는 IL-2 변이체를 코딩하고, N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)과 같은 비천연 아미노산이 통합될 원하는 위치에 코돈을 제공하기 위해 제1 비천연 뉴클레오타이드 및 제2 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 비천연 염기쌍을 함유하는 이중가닥 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 플라스미드, (c) *메타노사르시카 마제이*(*M. mazei*)로부터 유래된 tRNA를 코딩하고, 천연 서열 대신 (IL-2 변이체의 코돈에 대한) 인식된 안티코돈을 제공하기 위해 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 플라스미드, 및 (d) tRNA를 코딩하는 동일한 플라스미드 또는 상이한 플라스미드일 수 있는, *메타노사르시카 바케리*(*M. barkeri*) 유래 피콜리실-tRNA 신테타아제(*Mb* PyIRS)를 코딩하는 플라스미드를 포함하는, *이. 콜라이*(*E. coli*)와 같은 세포에서 제조될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포는 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 데옥시리보 트리포스페이트가 추가로 보충된다. 일부 실시형태에서, 세포는 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 리보 트리포스페이트가 추가로 보충된다. 일부 실시형태에서, 세포는 하나 이상의 비천연 아미노산, 예컨대 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)이 추가로 보충된다. 일부 실시형태에서, 원하는 IL-2 변이체의 아미노산 서열을 코딩하는 이중 가닥 올리고 뉴클레오타이드는 예를 들어 SEQ ID NO: 3을 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 위치 34, 37, 40, 41, 42, 43, 44, 61, 64, 68 또는 71에서, 또는 SEQ ID NO: 4를 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 위치 35, 38, 41, 42, 43, 45, 62, 65, 69 또는 72에서 코돈 AXC를 함유하며, 여기서 X는 비천연 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, 세포는 천연 서열 대신 AXC-매칭 안티코돈 GYT를 포함하는 엠. 마제이로부터의 직교성 tRNA 유전자를 코딩하는, 단백질 발현 플라스미드 또는 다른 플라스미드일 수 있는 플라스미드를 추가로 포함하고, 여기서 Y는 코돈의 비천연 뉴클레오타이드와 동일하거나 상이할 수 있고 상보성인 비천연 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, 코돈의 비천연 뉴클레오타이드는 안티코돈의 비천연 뉴클레오타이드와 상이하고 상보적이다. 일부 실시형태에서, 코돈의 비천연 뉴클레오타이드는 안티코돈의 비천연 뉴클레오타이드와 동일하다. 일부 실시형태에서, 이중가닥 올리고뉴클레오타이드에 비천연 염기쌍을 포함하는

제1	및	제2	비천연	뉴클레오타이드는

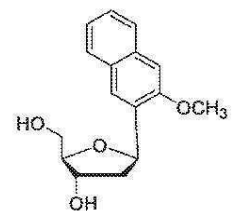


로부터 유래될 수 있다.

일부 실시형태에서, 이중가닥 올리고뉴클레오타이드에 비천연 염기쌍을 포함하는 제1 및 제2 비천연 뉴클레오타

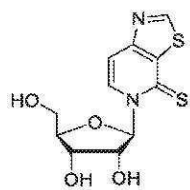


로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이중가닥 올리고뉴

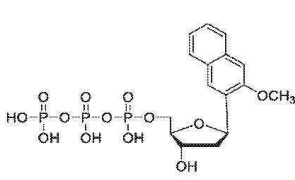


클레오타이드에 비천연 염기쌍을 포함하는 제1 및 제2 비천연 뉴클레오타이드는

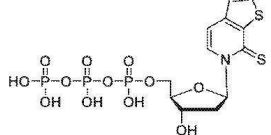
밋

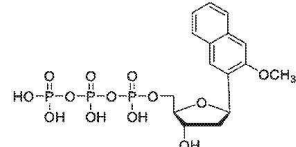
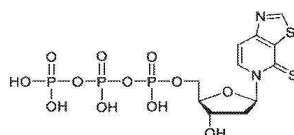


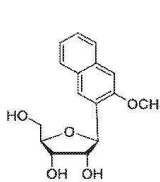
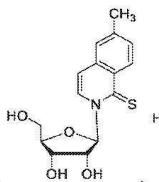
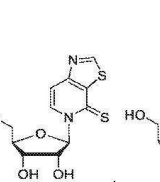
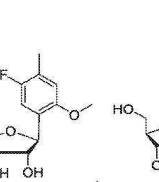
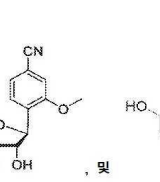
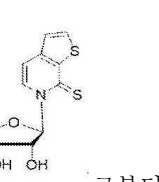
*로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 비천연 뉴클레오타이드의 트리포스페

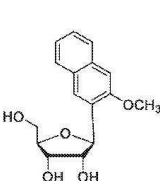
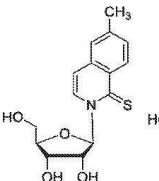
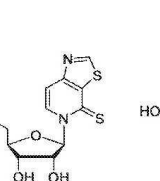
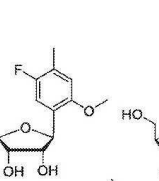
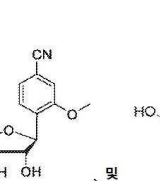
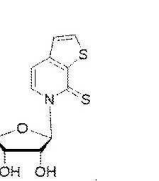
이트는  , 또는 이들의 염을 포

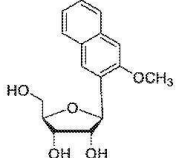
함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 비천연 뉴클레오타이드의 트리포스페이트는

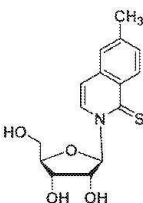
 , 또는 이들의 염을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 비천연 뉴클레오타이드

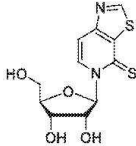
드의 트리포스페이트는  및  , 또는 이들의 염을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 비천연 뉴클레오타이드 및 제2 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 mRNA 유래 이중가닥 올리고뉴클레오타이드는

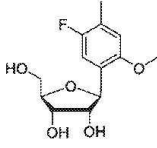
 ,  ,  ,  ,  , 및  로부터 유래된 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 코돈을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*) tRNA 는 mRNA의 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 코돈을 인식하는 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 안티코돈을 포함할 수 있다. 메타노사르시카 마제이(*M. mazei*) tRNA의 안티코돈은

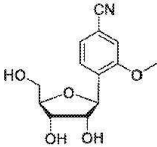
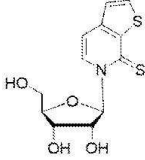
 ,  ,  ,  ,  , 및  로부터 유래된 비천연

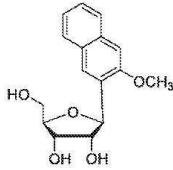
뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, mRNA는  로부터 유도된 비천연 뉴클레오

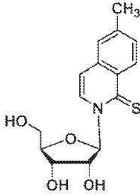
타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA는  로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를

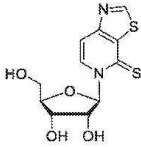
포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실

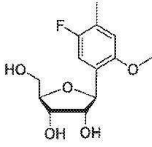
시형태에서, mRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA

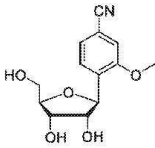
는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA는 

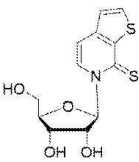
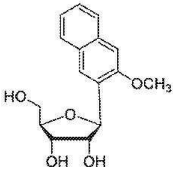
로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, tRNA는 로부터 유도된

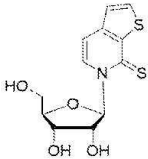
비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, tRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타

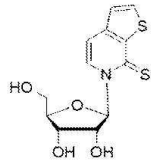
이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, tRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다.

일부 실시형태에서, tRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에

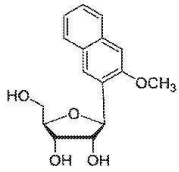
서, tRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, tRNA는

로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA는 로

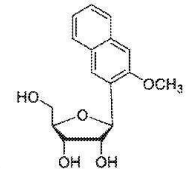
부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함하고, tRNA는 로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를



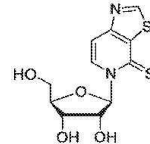
포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA는



로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA는

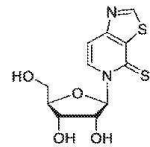


로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함하고, tRNA는

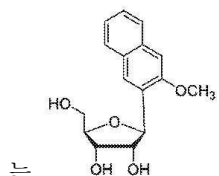


로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드

를 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA는



로부터 유도된 비천연 뉴클레오타이드를 포함하고, tRNA



는

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

[0650] 발현된 결과 AzK-함유 단백질은 당업자에게 알려진 방법에 의해 정제될 수 있고, 이어서, 당업자에게 알려진 조건하에서, 본원에 개시된 바와 같은 원하는 평균 분자량을 갖는 PEG 사슬을 포함하는 DBCO와 같은 알킨과 반응하도록 하여 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트를 제공할 수 있다. 문헌[Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644-647; WO 2015157555; WO 2015021432; WO 2016115168; WO 2017106767; WO 2017223528; WO 2019014262; WO 2019014267; WO 2019028419; 및 WO2019/028425]에 개시된 것과 같은 다른 방법은 당업자에게 알려져 있으며, 이들의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0651] 예를 들어 발현된, 상기 하나 이상의 비천연 아미노산, AzK를 포함하는 생성 단백질은 당업자에게 알려진 방법에 의해 정제될 수 있고, 이어서, 당업자에게 알려진 조건하에서, 본원에 개시된 바와 같은 원하는 평균 분자량을 갖는 PEG 사슬을 포함하는 DBCO와 같은 알킨과 반응하도록 하여 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트를 제공할 수 있다. 문헌[Zhang et al., Nature 2017, 551(7682): 644-647; WO 2015157555; WO 2015021432; WO 2016115168; WO 2017106767; WO 2017223528; WO 2019014262; WO 2019014267; WO 2019028419; 및 WO2019/028425]에 개시된 것과 같은 다른 방법은 당업자에게 알려져 있으며, 이들의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0652] 대안적으로, 비천연 아미노산(들)을 포함하는 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드는, tRNA 및 아미노아실 tRNA 신테타아제를 포함하고 하나 이상의 인-프레임 직교성(종결) 코돈과 함께 관심 핵산 서열을 포함하는 본원에 기술된 핵산 작제물을 숙주 세포에 도입함으로써 제조된다. 숙주 세포는 적절한 영양소가 포함된 배지에서 배양되며, (a) 새로운 코돈 및 안티코돈을 포함하는 사이토카인 유전자를 암호화하는 플라스미드(들)의 복제에 필요한 하나 이상의 비천연 염기를 포함하는 데옥시리보 뉴클레오사이드의 트리포스페이트, (b) (i) 코돈을 포함하는 사이토카인 서열, 및 (ii) 안티코돈을 포함하는 직교성 tRNA에 상응하는 mRNA의 전사에 필요한 리보 뉴클레오사이드의 트리포스페이트, 및 (c) 비천연 아미노산(들)으로 보충된다. 이어서, 숙주 세포는 관심 단백

질의 발현을 허용하는 조건하에서 유지된다. 비천연 아미노산(들)은 비천연 코돈에 반응하여 폴리펩타이드 사슬에 통합된다. 예를 들어, 하나 이상의 비천연 아미노산이 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드에 통합된다. 대안적으로, 2개 이상의 비천연 아미노산이 단백질의 2개 이상의 부위에서 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드에 통합될 수 있다.

[0653] 비천연 아미노산(들)을 포함하는 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드가 숙주 세포에서 생성되면, 효소적, 화학적, 및/또는 삼투적 용해 및 물리적 파괴를 포함하여 당업계에 알려진 다양한 기법에 의해 숙주 세포로부터 추출될 수 있다. 사이토카인(예를 들어, IL-2) 폴리펩타이드는 당업계에 알려진 표준 기법, 예컨대 분취 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 또는 당업자에게 알려진 임의의 다른 적합한 기법에 의해 정제될 수 있다.

[0654] 적합한 숙주 세포는 박테리아 세포(예를 들어, *E. coli*, BL21(DE3))를 포함할 수 있지만, 가장 적합하게는 숙주 세포는 진핵 세포, 예를 들어 곤충 세포(예를 들어, *Drosophila melanogaster*와 같은 초파리), 효모 세포, 선충(예를 들어, *C. elegans*), 마우스(예를 들어, *Mus musculus*), 또는 포유류 세포(예컨대, 중국 햄스터 난소 세포(CHO) 또는 COS 세포, 인간 293T 세포, HeLa 세포, NIH 3T3 세포, 및 마우스 적백혈병(MEL) 세포) 또는 인간 세포 또는 기타 진핵 세포이다. 다른 적합한 숙주 세포는 당업자에게 알려져 있다. 적합하게는, 숙주 세포는 포유류 세포, 예컨대 인간 세포 또는 곤충 세포이다. 일부 실시형태에서, 적합한 숙주 세포는 이. 콜라이(*E. coli*)를 포함한다.

[0655] 본 발명의 실시형태에서 일반적으로 사용될 수 있는 다른 적합한 숙주 세포는 실시예 부문에 언급된 것들이다. 벡터 DNA는 통상적인 형질전환 또는 형질감염 기법을 통해 숙주 세포에 도입될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "형질전환" 및 "형질감염"은 인산칼슘 또는 염화칼슘 동시침전, DEAE-텍스트란-매개 형질감염, 리포펙션, 또는 전기천공을 포함하여, 외부 핵산 분자(예를 들어, DNA)를 숙주 세포에 도입하기 위한 잘 알려진 다양한 기법들을 의미하는 것이다. 숙주 세포를 형질전환 또는 형질감염하기 위한 적합한 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다.

[0656] 세포주를 생성할 때, 안정한 세포주가 제조되는 것이 일반적으로 바람직하다. 예를 들어, 포유류 세포의 안정한 형질감염을 위해, 사용된 발현 벡터 및 형질감염 기법에 따라 오직 작은 분획의 세포가 외래 DNA를 이의 게놈으로 통합시킬 수 있다는 것이 알려져 있다. 이 통합체를 확인하고 선택하기 위해, (예를 들어, 항생제에 대한 내성에 대해) 선발 가능한 마커를 코딩하는 유전자는 관심 유전자와 함께 일반적으로 숙주 세포로 도입된다. 바람직한 선발 가능한 마커는 G418, 하이그로마이신 또는 메토크렉세이트와 같은 약물에 내성을 부여하는 것을 포함한다. 선발 가능한 마커를 코딩하는 핵산 분자는 동일한 벡터에서 숙주 세포로 도입될 수 있거나, 별개의 벡터에서 도입될 수 있다. 도입된 핵산 분자로 안정하게 형질감염된 세포는 약물 선택에 의해 확인될 수 있다(예를 들어, 선발 가능한 마커 유전자가 통합된 세포는 생존하는 반면에, 다른 세포는 죽는다).

[0657] 일 실시형태에서, 본원에 기술된 작제물은 숙주 세포의 게놈으로 통합된다. 안정한 통합의 장점은 개별 세포 또는 클론 사이의 균일성이 달성된다는 점이다. 다른 장점은 최고의 생산자의 선택이 수행될 수 있다는 점이다. 따라서, 안정한 세포주를 생성하는 것이 바람직하다. 다른 실시형태에서, 본원에 기술된 작제물은 숙주 세포를 형질감염시킨다. 숙주 세포를 작제물로 형질감염시키는 것의 장점은 단백질 수율이 최대화될 수 있다는 것이다. 일 양태에서, 본원에 기술된 핵산 작제물 또는 벡터를 포함하는 세포가 기술된다.

[0658] 추가 제제

[0659] 일부 실시형태에서, 증식성 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 본원에 기술된 사이토카인 콘쥬게이트(예를 들어, IL-2 콘쥬게이트)의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기술된다. 일부 실시형태에서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 본원에 기재된 치료적 유효량의 사이토카인 콘쥬게이트(예를 들어, IL-2 콘쥬게이트)를 하나 이상의 추가 제제와 함께 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기술된다. 일부 실시형태에서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 본원에 기재된 치료적 유효량의 사이토카인 콘쥬게이트(예를 들어, IL-2 콘쥬게이트)를 하나 이상의 면역 관문 억제제와 함께 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기술된다.

[0660] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제는 PD-1 억제제로부터 선택된 하나 이상의 면역 관문 억제제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제는 하나 이상의 PD-1 억제제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 캄브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 람브롤리주맙, AMP-224, 신틸리맙, 토리팔리맙, 캄렐리주맙, 티슬렐리주맙, 도스타리맙(GSK), PDR001(Novartis), MGA012(MacroGenics/Incyte), GLS-

010(Arcus/Wuxi), AGEN2024(Agenus), 세트렐리맵(Janssen), ABBV-181(Abbvie), AMG-404(Amgen), BI-754091(Boehringer Ingelheim), CC-90006(Celgene), JTX-4014(Jounce), PF-06801591(Pfizer), 및 게놀립주맵(Apollomics/Genor BioPharma)으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 팜브롤리주맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 니볼루맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 세미플리맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 람브롤리주맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 AMP-224이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 신틸리맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 토리팔리맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 캄렐리주맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 티슬렐리주맵이다.

[0661] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제는 PD-L1 억제제로부터 선택되는 면역 관문 억제제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아테졸리주맵, 아벨루맵, 및 더발루맵, ASC22(Alphamab/Ascletis), CX-072(Cytomx), CS1001(Cstone), 코시벨리맵(Checkpoint Therapeutics), INCB86550(Incyte), 및 TG-1501(TG Therapeutics)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아테졸리주맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아벨루맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 더발루맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 트레멜리무맵, 이필리무맵, 및 AGEN-1884(Agenus)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 트레멜리무맵이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 이필리무맵이다.

[0662] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택되는 면역 관문 억제제를 포함한다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 억제제는 트레멜리무맵 및 이필리무맵으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 억제제는 트레멜리무맵이다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 억제제는 이필리무맵이다.

[0663] 치료 방법

[0664] 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 유효량의 (a) 본원에 기재된 IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 일부 실시형태에서, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 유효량의 (a) 본원에 기재된 IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 면역 관문 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기재되어 있다.

[0665] 암 유형

[0666] 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 개시되며, 본 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 고전적 호지킨 림프종(cHL), 원발성 종격동 거대 B 세포 림프종(PMBCL), 요로상피 암종, 현미부수체 불안정 암, 현미부수체 안정 암, 위암, 자궁경부암, 간세포 암종(HCC), 메르켈 세포 암종(MCC), 흑색종, 소세포폐암(SCLC), 식도암, 교모세포종, 중피종, 유방암, 삼중 음성 유방암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암, 전이성 거세 저항성 전립선암, DNA 손상 반응(DDR) 결함이 있는 전이성 거세 저항성 전립선암, 방광암, 난소암, 중등도 내지 저 돌연변이 부담 종양, 피부 편평 세포 암종(CSCC), 편평 세포 피부암(SCSC), 저 발현 내지 비-발현 PD-L1 종양, 해부학적 원발 기원 부위를 넘어 간 및 CNS에 전신적으로 파종된 종양, 및 미만성 거대 B 세포 림프종으로부터 선택된다.

[0667] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 요로상피 암종, 흑색종, 메르켈 세포 암종(MCC), 및 두경부 편평 세포 암(HNSCC)으로부터 선택된다. 일 실시형태에서, 암은 신장 세포 암종(RCC)이다. 일 실시형태에서, 암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다. 일 실시형태에서, 암은 요로상피 암종이다. 일 실시형태에서, 암은 흑색종이다. 일 실시형태에서, 암은 메르켈 세포 암종(MCC)이다. 일 실시형태에서, 암은 두경부 편평 세포 암(HNSCC)이다.

[0668] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제가 하나 이상의 면역 관문 억제제를 포함하는 본원에 기재된 방법이 제공된다.

[0669] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, PD-L2 억제제, CTLA-4 억제제, OX40 작용제 및 4-1BB 작용제로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0670] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-1 억제제로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 팜브롤리주맵, 니볼루맵, 세미플리맵, 람브롤리주맵, AMP-224, 신틸리맵, 토리팔리맵, 캄렐

리주맙, 티슬렐리주맙, 도스타리맙(GSK), PDR001(Novartis), MGA012(Macrogenics/Incyte), GLS-010(Arcus/Wuxi), AGEN2024(Agenus), 세트렐리맙(Janssen), ABBV-181(Abbvie), AMG-404(Amgen), BI-754091(Boehringer Ingelheim), CC-90006(Celgene), JTX-4014(Jounce), PF-06801591(Pfizer), 및 게놀림주맙(Apollomics/Genor BioPharma)으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펌브롤리주맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 니볼루맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 세미플리맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 람브롤리주맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 AMP-224이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 신틸리맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 토리팔리맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 캄렐리주맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 티슬렐리주맙이다.

[0671] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 및 더발루맙, ASC22(Alphamab/Ascletis), CX-072(Cytomx), CS1001(Cstone), 코시벨리맙(Checkpoint Therapeutics), INCB86550(Incyte), 및 TG-1501(TG Therapeutics)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아테졸리주맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아벨루맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 더발루맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 트레멜리무맙, 이필리무맙, 및 AGEN-1884(Agenus)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 트레멜리무맙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 이필리무맙이다.

[0672] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 억제제는 트레멜리무맙 및 이필리무맙으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 억제제는 트레멜리무맙이다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 억제제는 이필리무맙이다.

[0673] 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양의 형태이다. 일부 실시형태에서, 암은 액체 종양의 형태이다.

[0674] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 하나 이상의 추가 제제를 대상체에 투여하기 전에 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제는 IL-2 콘주게이트를 대상체에 투여하기 전에 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 추가 제제는 대상체에게 동시에 투여된다.

[0675] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 관문 억제제에 더하여, 라파마이신의 포유동물 표적(mTOR) 억제제 또는 하나 이상의 혈관 내피 세포 성장 인자(VEGF) 경로 억제제의 치료학적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 하나 이상의 VEGF 경로 억제제를 투여받는다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGF 경로 억제제는 혈관 내피 세포 성장 인자 수용체(VEGFR) 티로신 키나제 억제제(TKI) 및 항-VEGF 단클론성 항체로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGF 경로 억제제는 하나 이상의 VEGFR TKI로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGFR TKI는 카보잔티닙, 악시티닙, 파조파닙, 수니티닙 또는 소라페닙으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGFR TKI는 카보잔티닙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGFR TKI는 악시티닙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGFR TKI는 파조파닙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGFR TKI는 수니티닙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGFR TKI는 소라페닙이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 VEGF 경로 억제제는 하나 이상의 항-VEGF 단클론성 항체로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 항-VEGF 단클론성 항체는 베마시주맙이다.

[0676] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 mTOR 억제제는 라파마이신, 에베롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스 및 데포롤리무스로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 mTOR 억제제는 라파마이신이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 mTOR 억제제는 에베롤리무스이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 mTOR 억제제는 템시롤리무스이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 mTOR 억제제는 리다포롤리무스이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 mTOR 억제제는 데포롤리무스이다. 일부 실시형태에서, 대상체의 암은 신장 세포 암종(RCC)이다.

[0677] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 관문 억제제에 더하여, 하나 이상의 폴리-ADP 리보스 폴리머라제(PARP) 억제제의 치료학적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, PARP 억제제는 올라파립, 니라파립, 루카파립, 탈라조파립, 벨리파립, CEP-9722, 및 E7016으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, PARP 억제제는 올라파립이다. 일부 실시형태에서, PARP 억제제는 니라파립이다. 일부 실시형태에서, PARP 억제제는 루카파립이다. 일부 실시형태에서, PARP 억제제는 탈라조파립이다. 일부 실시형태에서, PARP 억제제는 벨리파립이다. 일부 실시형태에서, PARP 억제제는 CEP-9722이다. 일부 실시형태에서, PARP

억제제는 E7016이다.

- [0678] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 관문 억제제에 더하여, 치료적 유효량의 비스테로이드성 항안드로겐 화합물(NSAA)을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, NSAA는 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 토필루타미드, 아팔루타미드 또는 엔잘루타미드이다. 일부 실시형태에서, NSAA는 플루타미드이다. 일부 실시형태에서, NSAA는 닐루타미드이다. 일부 실시형태에서, NSAA는 비칼루타미드이다. 일부 실시형태에서, NSAA는 토필루타미드이다. 일부 실시형태에서, NSAA는 아팔루타미드이다. 일부 실시형태에서, NSAA는 엔잘루타미드이다.
- [0679] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 관문 억제제에 더하여, 치료적 유효량의 하나 이상의 폴리-ADP 리보스 폴리머라제(PARP) 억제제 및 비스테로이드성 항안드로겐 화합물(NSAA)을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 PARP 억제제 및 NSAA는 상기 제시된 것들로부터 독립적으로 선택될 수 있다.
- [0680] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제는 하나 이상의 관문 억제제에 더하여, 하나 이상의 화학요법제를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 화학요법제는 하나 이상의 백금계 화학요법제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 화학요법제는 카르보플라틴 및 페메트렉세드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 화학요법제는 카르보플라틴 및 nab-파클리탁셀을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 화학요법제는 카르보플라틴 및 도세탁셀을 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체의 암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다.
- [0681] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 제제는 하나 이상의 화학요법제이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 화학요법제는 하나 이상의 백금계 화학요법제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 추가 제제를 투여하기 전에 인유두종바이러스(HPV)에 대해 양성 반응을 보였다. 일부 실시형태에서, 대상체의 암은 두경부 편평 세포 암(HNSCC)이다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 대상체가 인유두종바이러스(HPV+)에 대해 양성 반응을 보인 후, IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0682] 투여
- [0683] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 추가 제제를 투여한 후, 대상체는 고형 종양의 면역-관련 반응 평가 기준 (iRECIST)에 의해 측정된 바와 같은 반응을 경험한다.
- [0684] 일부 실시형태에서, 반응은 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환이다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 정맥내, 피하, 근육내, 뇌내, 비강내, 동맥내, 관절내, 피내, 유리체내, 골내 주입, 복강내, 또는 척추강내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 정맥내, 피하 또는 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 피하 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트는 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여된다.
- [0685] 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회, 8주에 1회, 9주에 1회, 10주에 1회, 11주에 1회, 12주에 1회, 13주에 1회, 14주에 1회, 15주에 1회, 16주에 1회, 17주에 1회, 18주에 1회, 19주에 1회, 20주에 1회, 21주에 1회, 22주에 1회, 23주에 1회, 24주에 1회, 25주에 1회, 26주에 1회, 27주에 1회, 또는 28주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 주 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 2주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 3주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 4주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 5주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 6주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 7주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 8주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 9주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 10주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 11주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 12주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 13주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 14주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의

유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 15주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 16주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 17주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 18주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 19주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 20주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 21주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 22주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 23주에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-2 콘주게이트의 유효량은 이를 필요로 하는 대상체에게 24주에 1회 투여된다.

[0686] 일부 실시형태에서, 이러한 양에 상응하는 주어진 제제의 양은 특정 화합물, 질환의 중증도, 치료가 필요한 대상체 또는 숙주의 독자성(예를 들어, 체중)과 같은 인자에 따라 다르지만, 그럼에도 불구하고, 예를 들어 투여되는 특정 제제, 투여 경로, 및 치료받는 대상체 또는 숙주를 비롯한 사례 주변의 특정 상황에 따라 당업계에 알려진 방식으로 통상적으로 결정된다. 일부 경우에, 원하는 용량은 단일 용량으로, 또는 동시에(또는 단기간에 걸쳐) 또는 적절한 간격으로 투여되는 분할 용량으로, 예를 들어 매일 2회, 3회, 4회 이상의 하위용량으로 편리하게 제시된다.

[illegible]

콘주게이트/대상체의 체중(kg), 또는 약 150 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg) 내지 약 200 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 또는 약 160 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg) 내지 약 200 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 또는 약 170 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg) 내지 약 200 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 또는 약 180 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg) 내지 약 200 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 또는 약 190 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg) 내지 약 200 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg)의 범위의 용량으로 이를 필요로 하는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여하는 단계를 포함한다. 개별 치료 요법과 관련된 변수의 수가 많고 이러한 권장 값에서 상당한 편차가 드물지 않기 때문에, 상기 범위는 제안적일 뿐이다. 이러한 투여량은 사용된 화합물의 활성, 치료할 질환 또는 병태, 투여 방식, 개별 대상체의 요건, 치료되는 질환 또는 병태의 중증도, 및 의사의 판단을 비롯한 여러 변수에 따라 달라지지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 이러한 치료 요법의 독성 및 치료 효능은 세포 배양 또는 실험 동물의 표준 제약 절차에 의해 결정된다(LD50(집단의 50%에 치사인 용량) 및 ED50(집단의 50%에 치료 효과적 인 용량)의 결정을 포함하지만, 이에 제한되지 않음). 독성과 치료 효과 간의 용량비는 치료 지수이며, LD50과 ED50 간의 비로 표시된다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다. 세포 배양 분석 및 동물 연구로부터 얻은 데이터는 인간에게 사용하기 위한 투여량의 범위를 정하는 데 사용된다. 이러한 화합물의 투여량은 바람직하게는 최소 독성으로 ED50을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 있다. 투여량은 사용된 투여 형태 및 사용된 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 다양하다.

[0688] 일부 실시형태에서, 방법들은 IL-2 콘주게이트를 이를 필요로 하는 대상체에게 약 1 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 또는 약 2 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 4 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 6 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 8 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 10 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 12 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 14 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 16 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 18 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 20 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 22 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 24 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 26 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 28 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 30 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 32 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 34 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 36 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 38 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 40 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 42 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 44 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 46 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 48 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 50 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 55 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 60 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 65 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 70 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 75 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 80 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 85 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 90 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 95 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 100 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 110 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 120 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 130 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 140 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 150 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 160 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 170 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 180 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 약 190 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg), 또는 약 200 μ g의 IL-2 콘주게이트/대상체의 체중(kg)의 용량으로 투여하는 단계를 포함한다. 개별 치료 요법과 관련된 변수의 수가 많고 이러한 권장 값에서 상당한 편차가 드물지 않기 때문에, 상기 범위는 제안적일 뿐이다. 이러한 투여량은 사용된 화합물의 활성, 치료할 질환 또는 병태, 투여 방식, 개별 대상체의 요건, 치료되는 질환 또는 병태의 중증도, 및 의사의 판단을 비롯한 여러 변수에 따라 달라지지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 이러한 치료 요법의 독성 및 치료 효능은 세포 배양 또는 실험 동물의 표준 제약 절차에 의해 결정된다(LD50(집단의 50%에 치사인 용량) 및 ED50(집단의 50%에 치료 효과적 인 용량)의 결정을 포함하지만, 이에 제한되지 않음). 독성과 치료 효과 간의 용량비는 치료 지수이며, LD50과 ED50 간의 비로 표시된다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다. 세포 배양 분석 및 동물 연구로부터 얻은 데이터는 인간에게 사용하기 위한 투여량의 범위를 정하는 데 사용된다. 이러한 화합물의 투여량은 바람직하게는 최소 독성으로 ED50을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 있다. 투여량은 사용된 투여 형태 및 사용된 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 다양하다.

[0689] 일부 실시형태에서, 추가 제제는 추가 제제에 대해 안전하고 효과적인 것으로 결정된 용량으로, 그리고 투여 요법을 사용하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 펩트블리주맙은 본원에 기재된 방법에 따라 이를 필요로 하는 대상

체에게 3주마다 약 200 mg의 용량으로 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 니볼루맵은 본원에 기재된 방법에 따라 이를 필요로 하는 대상체에게 2주마다 약 240 mg의 용량으로 또는 4주마다 약 480 mg의 용량으로 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 세미플리맵은 본원에 기재된 방법에 따라 이를 필요로 하는 대상체에게 3주마다 30분에 걸쳐 정맥내 주입으로서 약 350 mg의 용량으로 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 아테졸리주맵은 본원에 기재된 방법에 따라 대상체에게 2주마다 840 mg, 3주마다 1200 mg, 또는 4주마다 1680 mg의 용량으로 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 아벨루맵은 본원에 기재된 방법에 따라 대상체에게 2주마다 800 mg의 용량으로 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 더발루맵은 본원에 기재된 방법에 따라 대상체에게 2주마다 10 mg/대상체의 체중(kg)의 용량으로 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 이필리무맵은 총 4회 용량에 대해 3주마다 90분에 걸쳐 약 3 mg/대상체의 체중(kg), 또는 총 4회 용량에 대해 90분에 걸쳐 약 10 mg/대상체의 체중(kg), 이후 최대 3년 동안 10 mg/대상체의 체중(kg)의 용량으로 본원에 기재된 방법에 따라 흑색종의 치료를 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 진행성 신세포 암종의 경우, 이필리무맵은 30분에 걸쳐 1 mg/대상체의 체중(kg)의 용량으로 본원에 기재된 방법에 따라 투여될 수 있다.

[0690] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 집중 치료 시설의 가용성 또는 심폐 또는 집중 치료 의학의 숙련된 전문가의 가용성을 필요로 하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 집중 치료 시설의 가용성 또는 심폐 또는 집중 치료 의학의 숙련된 전문가의 가용성을 필요로 하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 집중 치료 시설의 가용성을 필요로 하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 유효량의 IL-2 콘주게이트를 대상체에게 투여하는 것은 심폐 또는 집중 치료 의학 분야의 숙련된 전문가의 도움을 필요로 하지 않는다.

[0691] 투여 효과

[0692] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2, 등급 3 또는 등급 4 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 3 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 4 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다.

[0693] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 혈관 긴장도의 손실을 야기하지 않는다.

[0694] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체의 혈관의 공간으로의 혈장 단백질 및 유체의 유출을 야기하지 않는다.

[0695] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 저혈압 및 감소된 기관 관류를 야기하지 않는다.

[0696] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 손상된 호중구 기능을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 감소된 주화성을 야기하지 않는다.

[0697] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 파종성 감염의 증가된 위험과 관련이 없다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 파종성 감염은 패혈증 또는 세균성 심내막염이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 파종성 감염은 패혈증이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 파종성 감염은 세균성 심내막염이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 IL-2 콘주게이트의 투여 전에 임의의 기존 세균 감염에 대하여 치료를 받는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 IL-2 콘주게이트의 투여 전에 옥사실린, 나프실린, 시프로플록사신 및 반코마이신으로부터 선택되는 항균제로 치료를 받는다.

[0698] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 자가면역 질환 또는 염증성 장애의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 자가면역 질환의 기

존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 염증성 장애의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 크론병, 경피증, 갑상선염, 염증성 관절염, 진성 당뇨병, 안구-구근 중증 근무력증, 반월상 IgA 사구체신염, 담낭염, 뇌혈관염, 스티븐스-존슨 증후군 및 수포성 유천포창으로부터 선택된다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 크론병이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 경피증이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 갑상선염이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 진성 당뇨병이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 안구-구근 중증 근무력증이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 반월상 IgA 사구체신염이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 담낭염이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 뇌혈관염이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 스티븐스-존슨 증후군이다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 수포성 유천포창이다.

[0699] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 정신 상태의 변화, 언어 장애, 피질맹, 사지 또는 보행 실조증, 환각, 동요, 둔감 또는 혼수 상태를 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 발작을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 공지된 발작 장애를 갖는 대상체에서 금기 사항이 아니다.

[0700] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2, 등급 3 또는 등급 4 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 3 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 4 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는다.

[0701] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 평균 동맥 혈압의 저하를 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 저혈압을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 IL-2 콘주게이트를 대상체에게 투여한 후 대상체가 90 mmHg 미만의 수축기 혈압 또는 기준 수축기 혈압으로부터의 20 mmHg 저하를 경험하는 것을 야기하지 않는다.

[0702] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 부종을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 신장 또는 간 기능의 손상을 야기하지 않는다.

[0703] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 호산구 증가증을 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 수가 μL 당 500개를 초과하지 않도록 한다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 수가 μL 당 500 μL 내지 1500개를 초과하도록 하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 수가 μL 당 1500개 내지 μL 당 5000개를 초과하지 않도록 한다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량

의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 수가 μL 당 5000개를 초과하지 않도록 한다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 기존의 항정신성 약물 요법에 대한 대상체에서의 금기 사항이 아니다.

[0704] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 기존의 신독성, 골수 독성, 심장 독성 또는 간독성 약물 요법에 대한 대상체에서의 금기 사항이 아니다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 기존의 아미노글리코사이드, 세포독성 화학요법, 독소루비신, 메토트렉세이트 또는 아스파라기나아제 요법에 대한 대상체에서의 금기 사항이 아니다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 항신생물제를 함유하는 병용 요법을 받는 대상체에서 금기 사항이 아니다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 항신생물제는 다카르바진, 시스-백금, 타목시펜 및 인터페론-알파로부터 선택된다.

[0705] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 하나 이상의 등급 4 이상 사례를 야기하지 않는다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 상기 하나 이상의 등급 4 이상 사례는 저체온증; 쇼크; 서맥; 심실 주기외수축; 심근 허혈; 실신; 출혈; 심방 부정맥; 정맥염; 2도 AV 차단; 심내막염; 심낭 삼출; 말초 괴저; 혈전증; 관상 동맥 장애; 구내염; 오심 및 구토; 간 기능 검사 비정상; 위장관 출혈; 토혈; 혈성 설사; 위장 장애; 장 천공; 췌장염; 빈혈; 백혈구 감소증; 백혈구 증가증; 저칼슘혈증; 알칼리 포스파타아제 증가; 혈액 요소 질소(BUN) 증가; 고요산혈증; 비-단백질 질소(NPN) 증가; 호흡성 산증; 졸립; 동요; 신경병증; 편집병양 반응; 경련; 대발작 경련; 심방; 천식, 폐 부종; 과호흡; 저산소증; 객혈; 저호흡; 기흉; 산동; 동공 장애; 신장 기능 이상; 신부전; 및 급성 세뇨관 괴사로부터 선택된다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체 군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 1% 이하의 대상체에서 하나 이상의 등급 4 이상 사례를 야기한다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 상기 하나 이상의 등급 4 이상 사례는 저체온증; 쇼크; 서맥; 심실 주기외수축; 심근 허혈; 실신; 출혈; 심방 부정맥; 정맥염; 2도 AV 차단; 심내막염; 심낭 삼출; 말초 괴저; 혈전증; 관상 동맥 장애; 구내염; 오심 및 구토; 간 기능 검사 비정상; 위장관 출혈; 토혈; 혈성 설사; 위장 장애; 장 천공; 췌장염; 빈혈; 백혈구 감소증; 백혈구 증가증; 저칼슘혈증; 알칼리 포스파타아제 증가; 혈액 요소 질소(BUN) 증가; 고요산혈증; 비-단백질 질소(NPN) 증가; 호흡성 산증; 졸립; 동요; 신경병증; 편집병양 반응; 경련; 대발작 경련; 심방; 천식, 폐 부종; 과호흡; 저산소증; 객혈; 저호흡; 기흉; 산동; 동공 장애; 신장 기능 이상; 신부전; 및 급성 세뇨관 괴사로부터 선택된다.

[0706] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체 군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 1% 이하의 대상체에서 하나 이상의 이상 사례를 야기하며, 여기서, 상기 하나 이상의 이상 사례는 심이지장 궤양; 장 괴사; 심근염; 심실상빈맥; 시신경염에 수반되는 영구적 또는 일시적 실명; 일과성 허혈 발작; 수막염; 뇌 부종; 심낭염; 알러지성 간질성 신염; 및 기관식도 누공으로부터 선택된다.

[0707] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체 군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 1% 이하의 대상체에서 하나 이상의 이상 사례를 야기하며, 여기서, 상기 하나 이상의 이상 사례는 악성 고열증; 심정지; 심근 경색증; 폐색전; 뇌졸중; 장 천공; 간부전 또는 신부전; 자살로 이어지는 중증 우울증; 폐 부종; 호흡 정지; 호흡 부전으로부터 선택된다.

[0708] 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 투여는 대상체에서 말초 CD4+ 조절 T 세포의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 말초 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시킨다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 투여는 대상체에서 말초 호산구의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 말초 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시킨다. 본원에 기술된 암의 치료 방법의 일부 실시형태에서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 투여는 대상체에서 종양내 CD4+ 조절 T 세포의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 종양내 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시키지 않으면서, 대상체에서 말초 CD8+ T 및 NK 세포의 수를 증가시킨다.

[0709] **약제학적 조성물 및 제형**

[0710] 본원에 개시된 유효량의 IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 개시된다.

- [0711] 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 사이토카인 콘주게이트(예를 들어, IL-2 콘주게이트)를 포함하는 약제학적 조성물 및 제형은, 비경구, 경구, 흡입, 직장, 설하 또는 경피 투여 경로를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다수의 투여 경로에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 비경구 투여는 정맥내, 피하, 근육내, 뇌내, 비강내, 동맥내, 관절내, 진피내, 유리체내, 골내 주입, 복강내 또는 척수강내 투여를 포함한다. 일부 경우에, 약제학적 조성물은 국소 투여용으로 제형화된다. 다른 경우에, 약제학적 조성물은 전신 투여용으로 제형화된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 약제학적 조성물 및 제형은 정맥내, 피하 및 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 약제학적 조성물 및 제형은 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 약제학적 조성물 및 제형은 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 약제학적 조성물 및 제형은 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여된다.
- [0712] 일부 실시형태에서, 약제학적 제형은 수성 액체 분산액, 자가-유화 분산액, 고체 용액, 리포솜 분산액, 에어로졸, 고체 투여 형태, 산제, 속방형 제형, 제어방출형 제형, 신속 용융 제형, 정제, 캡슐, 알약, 서방형 제형, 지속방출형 제형, 박동방출형 제형, 다중미립자 제형(예를 들어, 나노입자 제형), 및 속방 및 제어방출 혼합형 제형을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0713] 일부 실시형태에서, 약제학적 제형은 본원에 개시된 조성물과의 상용성 및 원하는 투여 형태의 방출 프로파일 특성에 기초하여 선택된 담체 또는 담체 물질을 포함한다. 예시적인 담체 물질은 예를 들어 결합제, 현탁제, 분해제, 충전제, 계면활성제, 가용화제, 안정화제, 활택제, 습윤제, 희석제 등을 포함한다. 약제학적 상용성 담체 물질은 아카시아, 젤라틴, 콜로이드성 이산화규소, 칼슘 글리세로포스페이트, 락트산칼슘, 말토덱스트린, 글리세린, 규산마그네슘, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르, 나트륨 카제이네이트, 대두 레시틴, 타우로콜산, 포스포티딜콜린, 염화나트륨, 인산삼칼슘, 인산이칼슘, 셀룰로스 및 셀룰로스 콘주게이트, 당 나트륨 스테아로일 락틸레이트, 카라기난, 모노글리세라이드, 디글리세라이드, 전호화본 녹말 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 문헌[*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995), Hoover, John E., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975, Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980, and *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999)]를 참조하며, 이들 각각은 본원에 참고로 포함된다.
- [0714] 일부 경우에, 약제학적 조성물은 리포솜의 지질 이중층에 직접 또는 간접적으로 결합된 복수의 IL-2 콘주게이트를 포함하는 면역리포솜으로서 제형화된다. 예시적인 지질은 지방산; 인지질; 콜레스테롤과 같은 스테롤; 스펡고미엘린과 같은 스펡고지질; 강글리오시드, 글로보시드, 및 세레브로시드와 같은 글리코스핑고지질; 스테아릴, 올레일, 및 리놀레일 아민과 같은 계면활성제 아민을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 경우에, 지질은 양이온성 지질을 포함한다. 일부 경우에, 지질은 인지질을 포함한다. 예시적인 인지질은 포스파티드산("PA"), 포스파티딜콜린("PC"), 포스파티딜글리세롤("PG"), 포파티딜에탄올아민("PE"), 포파티딜이노시톨("PI"), 및 포스파티딜세린("PS"), 스펡고미엘린(뇌 스펡고미엘린 포함), 레시틴, 리소레시틴, 리소포스파티딜에탄올아민, 세레브로시드, 디아라키도일포스파티딜콜린("DAPC"), 디테카노일-L-알파-포스파티딜콜린("DDPC"), 디엘라이도일포스파티딜콜린("DEPC"), 디라우로일포스파티딜콜린("DLPC"), 디리놀레오일포스파티딜콜린, 디미리스토일포스파티딜콜린("DMPC"), 디올레오일포스파티딜콜린("DOPC"), 디팔미토일포스파티딜콜린("DPPC"), 디스테아로일포스파티딜콜린("DSPC"), 1-팔미토일-2-올레오일-포스파티딜콜린("POPC"), 디아라키도일포스파티딜글리세롤("DAPG"), 디테카노일-L-알파-포스파티딜글리세롤("DDPG"), 디엘라이도일포스파티딜글리세롤("DEPG"), 디라우로일포스파티딜글리세롤("DLPG"), 디리놀레오일포스파티딜글리세롤, 디미리스토일포스파티딜글리세롤("DMPG"), 디올레오일포스파티딜글리세롤("DOPG"), 디팔미토일포스파티딜글리세롤("DPPG"), 디스테아로일포스파티딜글리세롤("DSPG"), 1-팔미토일-2-올레오일-포스파티딜글리세롤("POPG"), 디아라키도일포스파티딜에탄올아민("DAPE"), 디테카노일-L-알파-포스파티딜에탄올아민("DDPE"), 디엘라이도일포스파티딜에탄올아민("DEPE"), 디라우로일포스파티딜에탄올아민("DLPE"), 디리놀레오일포스파티딜에탄올아민, 디미리스토일포스파티딜에탄올아민("DMPE"), 디올레오일포스파티딜에탄올아민("DOPE"), 디팔미토일포스파티딜에탄올아민("DPPE"), 디스테아로일포스파티딜에탄올아민("DSPE"), 1-팔미토일-2-올레오일-포스파티딜에탄올아민("POPE"), 디아라키도일포스파티딜이노시톨("DAPI"), 디테카노일-L-알파-포스파티딜이노시톨("DDPI"), 디엘라이도일포스파티딜이노시톨("DEPI"), 디라우로일포스파티딜이노시톨("DLPI"), 디리놀레오일포스파티딜이노시톨, 디미리스토일포스파티딜이노시톨("DMPI"), 디올레오일포스파티딜이노시톨("DOPI"), 디팔미토일포스파티딜이노시톨("DPPI"), 디스테아로일포스파티딜이노시톨("DSPI"), 1-팔미토일-2-올레오일-포스파티딜이노시톨("POPI"), 디아라키도일포스파티딜세린("DAPS"), 디테카노일-L-알파-포

스파티딜세린("DDPS"), 디엘라이도일포스파티딜세린("DEPS"), 디라우로일포스파티딜세린("DLPS"), 디리놀레오일포스파티딜세린, 디미리스토일포스파티딜세린("DMPS"), 디올레오일포스파티딜세린("DOPS"), 디팔미토일포스파티딜세린("DPPS"), 디스테아로일포스파티딜세린("DSPS"), 1-팔미토일-2-올레오일-포스파티딜세린("POPS"), 디아라키도일 스펡고미엘린, 디데카노일 스펡고미엘린, 디엘라이도일 스펡고미엘린, 디라우로일 스펡고미엘린, 디리놀레오일 스펡고미엘린, 디미리스토일 스펡고미엘린, 스펡고미엘린, 디올레오일 스펡고미엘린, 디팔미토일 스펡고미엘린, 디스테아로일 스펡고미엘린, 및 1-팔미토일-2-올레오일-스펙고미엘린을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0715] 일부 경우에, 약제학적 제형은 아세트산, 붕산, 시트르산, 락트산, 인산, 및 염산과 같은 산, 수산화나트륨, 인산나트륨, 붕산나트륨, 시트르산나트륨, 아세트산나트륨, 락트산나트륨, 및 트리스-히드록시메틸아미노메탄과 같은 염기, 시트레이트/텍스트로스, 중탄산나트륨, 및 염화암모늄과 같은 완충액을 포함하는 pH 조정제 또는 완충제를 추가로 포함한다. 이러한 산, 염기, 및 완충액은 조성물의 pH를 허용 가능한 범위로 유지하는 데 필요한 양으로 포함된다.

[0716] 일부 경우에, 약제학적 제형은 조성물의 삼투압 농도를 허용 가능한 범위로 만드는 데 필요한 양의 하나 이상의 염을 포함한다. 이러한 염은 나트륨, 칼륨, 또는 암모늄 양이온 및 클로라이드, 시트레이트, 아스코르베이트, 보레이트, 포스페이트, 바이카르보네이트, 술페이트, 티오술페이트, 또는 바이술파이트 음이온을 갖는 것들을 포함하고, 적합한 염은 염화나트륨, 염화칼륨, 티오황산나트륨, 중아황산나트륨, 및 황산암모늄을 포함한다.

[0717] 일부 실시형태에서, 약제학적 제형은 트레할로스, 수크로스, 만니톨, 말토스, 글루코스와 같은 당, 또는 인산칼륨, 시트르산나트륨, 황산암모늄과 같은 염, 및/또는 폴리펩타이드의 용해도 및 생체 내 안정성을 증가시키기 위한 헤파린과 같은 기타 제제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0718] 일부 경우에, 약제학적 제형은 보다 안정한 환경을 제공할 수 있으므로 화합물을 안정화시키기 위해 사용되는 희석제를 추가로 포함한다. (pH 제어 또는 유지를 제공할 수도 있는) 완충 용액에 용해된 염은 당업계에서 희석제(인산염 완충 식염수 용액을 포함하지만, 이에 제한되지 않음)로서 사용된다. 특정한 경우에, 희석제는 압축을 용이하게 하거나 캡슐 충전을 위한 균질한 블렌드를 위한 충분한 벌크를 생성하도록 조성물의 벌크를 증가시킨다. 이러한 화합물은 예를 들어 락토스, 전분, 만니톨, 소르비톨, 텍스트로스, Avicel[®]과 같은 미정질 셀룰로오스, 인산일수소칼슘, 인산이칼슘 이수화물, 인산삼칼슘, 인산칼슘, 무수 락토스, 분무 건조된 락토스, 전호화 전분, 압축성 당, 예컨대 Di-Pac[®](Amstar), 만니톨, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스 아세테이트 스테아레이트, 수크로스 기반 희석제, 제과 설탕, 일염기성 황산칼슘 이수화물, 황산칼슘 이수화물, 락트산칼슘 삼수화물, 텍스트레이트, 가수분해된 시리얼 고체, 아밀로스, 분말 셀룰로오스, 탄산칼슘, 글리신, 카올린, 만니톨, 염화나트륨, 이노시톨, 벤토나이트 등을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트는 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있고 히스티딘, 소르비톨 및 폴리소르베이트 80, 또는 안정한 제형을 제공하는 임의의 조합을 포함하는 약제학적 제형에서 사용될 수 있다. 일 실시형태에서, 본원에 개시된 IL-2 콘주게이트는 다음과 같이 바이알과 같은 적합한 용기에 완제 의약품으로 제공될 수 있다: IL-2 콘주게이트(약 2 mg 내지 약 10 mg); L-히스티딘(약 0.5 mg 내지 약 2 mg); L-히스티딘 히드로클로라이드(약 1 mg 내지 약 2 mg); 소르비톨(약 20 mg 내지 약 80 mg); 및 폴리소르베이트 80(약 0.1 mg 내지 약 0.2 mg); 개시된 방법에 사용하기에 적합한 액체 제형을 제공하기에 충분한 양의 주사용 물.

[0719] 일부 경우에, 약제학적 제형은 물질의 분해 또는 봉해를 촉진하기 위한 봉해 제제 또는 봉해제를 포함한다. 용어 "봉해하다"는 위액과 접촉하는 경우의 투여 형태의 용해 및 분산 둘 다를 포함한다. 봉해제의 예에는 전분, 예를 들어 천연 전분, 예컨대 옥수수 전분 또는 감자 전분, 전호화 전분, 예컨대 National 1551 또는 Amijel[®], 또는 소듐 스타치 글리콜레이트, 예컨대 Promogel[®] 또는 Explotab[®], 셀룰로오스, 예컨대 목재 제품, 메틸크리스탈린 셀룰로오스, 예를 들어 Avicel[®], Avicel[®] PH101, Avicel[®] PH102, Avicel[®] PH105, Elcema[®] P100, Emcocel[®], Vivacel[®], Ming Tia[®], 및 Solka-Floc[®], 메틸셀룰로오스, 크로스카르멜로스, 또는 가교결합된 셀룰로오스, 예컨대 가교결합된 소듐 카르복시메틸셀룰로오스(Ac-Di-Sol[®]), 가교결합된 카르복시메틸셀룰로오스, 또는 가교결합된 크로스카르멜로스, 가교결합된 전분, 예컨대 소듐 스타치 글리콜레이트, 가교결합된 중합체, 예컨대 크로스포비돈, 가교결합된 폴리비닐피롤리돈, 알기네이트, 예컨대 알긴산 또는 알긴산의 염, 예컨대 알긴산나트륨, 점토, 예컨대 Veegum[®] HV(마그네슘 알루미늄 실리케이트), 검, 예컨대 한천, 구아, 로커스트 빈, 카라야, 펙틴 또는 트래거캔스, 소듐 스타치 글리콜레이트, 벤토나이트, 천연 스폰지, 계면활성제, 수지, 예컨대

양이온 교환 수지, 시트러스 펄프, 소듐 라우릴 술페이트, 소듐 라우릴 술페이트가 전분과 조합된 것 등을 포함한다.

[0720] 일부 경우에, 약제학적 제형은 충전제, 예컨대 락토스, 탄산칼슘, 인산칼슘, 이염기성 인산칼슘, 황산칼슘, 미정질 셀룰로오스, 셀룰로오스 분말, 텍스트로스, 텍스트레이트, 텍스트란, 전분, 전호화 전분, 수크로스, 자일리톨, 락티톨, 만니톨, 소르비톨, 염화나트륨, 폴리에틸렌 글리콜 등을 포함한다.

[0721] 활택제 및 글리단트가 또한 재료의 부착 또는 마찰을 방지, 감소 또는 억제하기 위해 본원에 기술된 약제학적 제형에 선택적으로 포함된다. 예시적인 활택제는 예를 들어 스테아르산, 수산화칼슘, 활석, 나트륨 스테아릴 푸마레이트, 탄화수소, 예컨대 광유, 또는 수소화 식물유, 예컨대 수소화 대두유(Sterotex[®]), 고급 지방산 및 이들의 알칼리 금속 및 알칼리 토금속 염, 예컨대 알루미늄, 칼슘, 마그네슘, 아연, 스테아르산, 스테아르산나트륨, 글리세롤, 활석, 왁스, Stearowet[®], 봉산, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 류신, 폴리에틸렌 글리콜(예를 들어 PEG-4000) 또는 메톡시폴리에틸렌글리콜, 예컨대 Carbowax[™], 나트륨 올레에이트, 벤조산나트륨, 글리세릴 베헤네이트, 폴리에틸렌 글리콜, 마그네슘 또는 나트륨 라우릴 술페이트, 콜로이드성 실리카, 예컨대 Syloid[™], Cab-O-Sil[®], 전분, 예컨대 옥수수 전분, 실리콘 오일, 계면활성제 등을 포함한다.

[0722] 가소제는 미세캡슐화 재료 또는 필름 코팅을 연화하여 이들이 덜 취성이 되게 하는 화합물을 포함한다. 적합한 가소제는 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 예컨대 PEG 300, PEG 400, PEG 600, PEG 1450, PEG 3350 및 PEG 800, 스테아르산, 프로필렌 글리콜, 올레산, 트리에틸 셀룰로오스 및 트리아세틴을 포함한다. 가소제는 분산제 또는 습윤제로도 기능할 수 있다.

[0723] 가용화제는 트리아세틴, 트리에틸시트레이트, 에틸 올레에이트, 에틸 카프릴레이트, 나트륨 라우릴 술페이트, 나트륨 도큐세이트, 비타민 E TPGS, 디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, N-히드록시에틸피롤리돈, 폴리비닐피롤리돈, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스, 히드록시프로필 사이클로덱스트린, 에탄올, n-부탄올, 이소프로필 알코올, 콜레스테롤, 담즙 염, 폴리에틸렌 글리콜 200~600, 글리코푸롤, 트랜스쿠톨, 프로필렌 글리콜 및 디메틸 이소소르비드 등과 같은 화합물을 포함한다.

[0724] 안정화제는 임의의 항산화제, 완충액, 산, 보존제 등과 같은 화합물을 포함한다. 예시적인 안정화제는 L-아르기닌 히드록로라이드, 트로메타민, 알부민(인간), 시트르산, 벤질 알코올, 페놀, 이인산이나트륨 이수화물, 프로필렌 글리콜, 메타크레솔 또는 m-크레솔, 아세트산아연, 폴리소르베이트-20 또는 Tween[®] 20, 또는 트로메타몰을 포함한다.

[0725] 현탁제는 폴리비닐피롤리돈, 예를 들어 폴리비닐피롤리돈 K12, 폴리비닐피롤리돈 K17, 폴리비닐피롤리돈 K25 또는 폴리비닐피롤리돈 K30, 비닐 피롤리돈/비닐 아세테이트 공중합체(S630), 폴리에틸렌 글리콜(예를 들어 폴리에틸렌 글리콜은 약 300 내지 약 6000, 또는 약 3350 내지 약 4000, 또는 약 7000 내지 약 5400의 분자량을 가질 수 있음), 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스 아세테이트 스테아레이트, 폴리소르베이트-80, 히드록시에틸셀룰로오스, 알긴산나트륨, 검, 예를 들어 검 트래거캔스 및 검 아카시아, 구아 검, 잔탄(잔탄 검 포함), 당, 셀룰로오스계 물질, 예를 들어 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 폴리소르베이트-80, 알긴산나트륨, 폴리에톡실화 소르비탄 모노라우레이트, 폴리에톡실화 소르비탄 모노라우레이트, 포비돈 등과 같은 화합물을 포함한다.

[0726] 계면활성제는 나트륨 라우릴 술페이트, 도큐세이트 나트륨, Tween 60 또는 80, 트리아세틴, 비타민 E TPGS, 소르비탄 모노올레에이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트, 폴리소르베이트, 플록사머, 담즙염, 글리세릴 모노스테아레이트, 에틸렌 옥사이드와 프로필렌 옥사이드의 공중합체, 예를 들어 Pluronic[®] (BASF) 등과 같은 화합물을 포함한다. 추가의 계면활성제는 폴리옥시에틸렌 지방산 글리세리드 및 식물유, 예를 들어 폴리옥시에틸렌(60) 경화 캐스터 오일, 및 폴리옥시에틸렌 알킬에테르 및 알킬페닐 에테르, 예를 들어 옥톡시놀 10, 옥톡시놀 40을 포함한다. 때때로, 계면활성제는 물리적 안정성을 향상시키기 위해 또는 다른 목적을 위해 포함된다.

[0727] 점도 향상제는 예를 들어, 메틸 셀룰로오스, 잔탄 검, 카르복시메틸 셀룰로오스, 히드록시프로필 셀룰로오스, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스 아세테이트 스테아레이트, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스 프탈레이트, 카보머, 폴리비닐 알코올, 알기네이트, 아카시아, 키토산 및 이들의 조합을 포함한다.

[0728] 습윤제는 올레산, 글리세릴 모노스테아레이트, 소르비탄 모노올레에이트, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레에이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트, 나트륨

도쿠세이트, 나트륨 올레에이트, 나트륨 라우릴 술페이트, 나트륨 도쿠세이트, 트리아세틴, 트윈 80, 비타민 E TPGS, 트윈 80, 비타민 E TPGS, 암모늄 염 등과 같은 화합물을 포함한다.

[0729] 일부 경우에, IL-2 콘주게이트(예컨대, 화학식 I~XVII) 및 면역 관문 억제제를 포함하는 억제학적 조성물은 두 약물을 모두 포함하는 제형으로 투여된다. 일부 경우에, 면역 관문 억제제에 대한 IL-2 콘주게이트의 중량% 또는 그 반대는 10:1 내지 1:10이다. 일부 경우에, 면역 관문 억제제에 대한 IL-2 콘주게이트의 중량% 또는 그 반대는 7:1 내지 1:2이다. 일부 경우에, 면역 관문 억제제에 대한 IL-2 콘주게이트의 중량% 또는 그 반대는 5:1 내지 1:5이다. 일부 경우에, 면역 관문 억제제에 대한 IL-2 콘주게이트의 중량% 또는 그 반대는 3:1 내지 1:3이다. 일부 경우에, 면역 관문 억제제에 대한 IL-2 콘주게이트의 중량% 또는 그 반대는 약 10:1, 또는 약 9:1, 약 8:1, 약 7:1, 약 6:1, 약 5:1, 약 4:1, 약 3:1, 약 2:1, 또는 약 1:1이다. 일부 경우에, 면역 관문 억제제에 대한 IL-2 콘주게이트의 중량% 또는 그 반대는 10:1 내지 1:1, 7:1 내지 2:1, 5:1 내지 1:1, 또는 3:1 내지 1:1이다.

[0730] 특정 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 면역 관문 억제제(예컨대, PD-1 억제제) 및 IL-2 콘주게이트(예컨대, 화학식 I~XVII의 것)의 조합은 순수한 화합물로서 투여된다. 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트의 조합은 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같은 선택된 투여 경로 및 표준 억제학적 관행에 기초하여 선택된 억제학적으로 적합하거나 허용 가능한 담체(또한 본원에서 억제학적으로 적합한(또는 허용 가능한) 부형제, 생리학적으로 적합한(또는 허용 가능한) 부형제, 또는 생리학적으로 적합한(또는 허용 가능한) 담체로서 지칭됨)와 조합된다: *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro, 21st Ed. Mack Pub. Co., Easton, PA (2005)], 본 개시내용은 본원에 참조로서 포함됨). 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트는 각각 개별 조성물로서 투여된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및/또는 IL-2 콘주게이트의 개별 조성물은 적합하거나 허용 가능한 부형제와 조합된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트는 단일 조합 조성물로서 투여된다.

[0731] 본원에 기재된 IL-2 콘주게이트 및 면역 관문 억제제를 하나 이상의 억제학적으로 허용 가능한 담체와 함께 포함하는 억제학적 조성물이 본원에서 제공된다. 담체(들)(또는 부형제(들))는 담체가 조성물의 다른 성분과 상용성이고 조성물의 수혜자(즉, 대상체 또는 환자)에게 유해하지 않은 경우 허용되거나 적합하다. 특정 실시형태에서, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트는 약 5% 미만, 또는 약 1% 미만, 또는 약 0.1% 미만의 다른 유기 소분자, 예컨대 예를 들어 합성 방법의 단계들 중 하나 이상에서 생성되는 미반응 중간체 또는 합성 부산물을 함유한다는 점에서 실질적으로 순수하다. 일부 경우에, 억제학적 조성물은 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트, 및 하나 이상의 억제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다. 일부 경우에, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트, 또는 이들의 조합을 포함하는 억제학적 조성물은 (비제한적인 예로서) 부형제, 예컨대 0.9% 염화나트륨 주사 USP, 탈수 알코올, *dl*-알과 토코페롤, 무수 시트르산, 폴리소르베이트 80, 폴리에틸렌 글리콜 400, 프로필렌 글리콜, 벤질 알코올, 시트르산나트륨, 아황산나트륨, 크레모포어 EL, 알부민, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 억제학적 조성물은 나노입자를 포함한다. 일부 경우에, 억제학적 조성물은 주사가 가능한 조성물에 일반적으로 사용되는 다른 부형제를 포함한다. 일부 경우에, 억제학적 조성물은 억제학적 조성물의 전달의 시작화를 돕기 위한 조영제를 포함한다. 일부 경우에, 억제학적 조성물은 액체, 현탁액, 용액 또는 겔을 포함한다. 일부 경우에, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트, 또는 이들의 조합을 포함하는 억제학적 조성물이 주사가 가능하다. 일부 경우에, 억제학적 조성물은 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트, 또는 이들의 조합을 가용화하는 부형제를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트를 포함하는 억제학적 조성물은 하나 이상의 억제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 비경구 투여용 투여 형태로 제공된다. 일부 경우에, 본원에 기재된 면역 관문 억제제 및 IL-2 콘주게이트, 또는 이들의 조합을 포함하는 억제학적 조성물이 주사가 가능하다. 억제학적 조성물이 정맥내, 피부 또는 피하 주사용으로 제형화되는 경우, 활성 성분은 발열원이 없고 적합한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용 가능한 수용액의 형태로 존재한다. 해당 분야의 관련 숙련자는 예를 들어, 염화나트륨 주사, 링거 주사 또는 젯산 링거 주사와 같은 등장성 비히클을 이용하여 적합한 용액을 충분히 제조할 수 있다. 일부 실시형태에서, 보존제, 안정화제, 부형제, 완충제, 항산화제, 및/또는 기타 첨가제가 포함된다.

[0732] **키트/제조 물품**

[0733] 특정 실시형태에서, 본원에 기술된 하나 이상의 방법 및 조성물과 함께 사용하기 위한 키트 및 제조 물품이 본원에 개시된다. 이러한 키트는 바이알, 튜브 등과 같은 하나 이상의 용기를 수용하도록 구획화된 캐리어, 패키

지, 또는 용기를 포함하고, 각각의 용기는 본원에 기재된 방법에 사용될 개별 요소들 중 하나를 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 주사기, 및 시험관을 포함한다. 일 실시형태에서, 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성된다.

[0734] 전형적으로 키트는 내용물을 열거한 라벨 및/또는 사용 설명서, 및 사용 설명서가 있는 패키지 인서트를 포함한다. 전형적으로 설명서 세트도 포함될 것이다.

[0735] 일 실시형태에서, 라벨은 용기 상에 있거나 용기와 결합되어 있다. 일 실시형태에서, 라벨을 구성하는 글자, 숫자, 또는 다른 문자가 용기 자체에 부착, 성형, 또는 예칭된 경우 라벨은 용기 상에 있고, 라벨이 예를 들어 패키지 삽입물로서, 용기를 또한 수용하는 리셉터클 또는 캐리어 내에 존재하는 경우 라벨은 용기와 결합되어 있다. 일 실시형태에서, 라벨은 내용물이 특정 치료 용도로 사용될 것임을 나타내기 위해 사용된다. 라벨은 또한, 예컨대 본원에 기재된 방법에서 내용물의 사용 지침을 나타낸다.

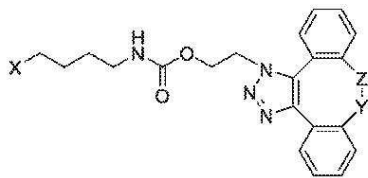
[0736] 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은 본원에 제공된 화합물을 함유하는 하나 이상의 단위 투여 형태를 포함하는 팩 또는 디스펜서 장치에 제공된다. 팩은 예를 들어 금속 또는 플라스틱 호일, 예컨대 블리스터 팩을 포함한다. 일 실시형태에서, 팩 또는 디스펜서 장치에는 투여 설명서가 함께 제공된다. 일 실시형태에서, 팩 또는 디스펜서에는 또한 의약품의 제조, 사용, 또는 판매를 규제하는 정부 기관이 정한 형태로 용기와 관련된 안내문이 함께 제공되며, 이 안내문은 인체 또는 수의학적 투여용 약물 형태에 대한 기관의 승인을 반영한다. 이러한 안내문은, 예를 들어 미국 식품의약국에서 의약품에 대해 승인한 표지, 또는 승인된 제품 삽입물이다. 일 실시형태에서, 적합한 약제학적 담체에 제형화된 본원에 제공된 화합물을 함유하는 조성물이 또한 제조되고, 적절한 용기에 배치되고, 표시된 병태의 치료에 대해 표시된다.

[0737] 예시적인 실시형태

[0738] 본 개시내용은 하기 실시형태에 의해 추가로 설명된다. 각각의 실시형태의 특징은 적절하고 실용적인 경우 다른 실시형태와 결합될 수 있다.

[0739] 실시형태 1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 I의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

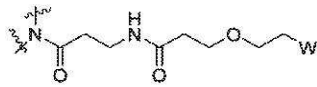
[0740] [화학식 I]



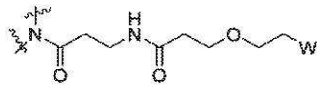
[0741]

[0742] 식 중,

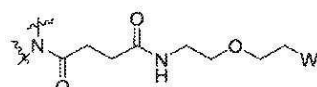
[0743] Z는 CH₂이고 Y는 이거나;

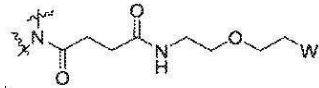


[0744] Y는 CH₂이고 Z는 이거나;



[0745] Z는 CH₂이고 Y는 이거나; 또는

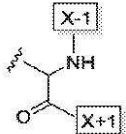




[0746] Y는 CH₂이고 Z는 이며;

[0747] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

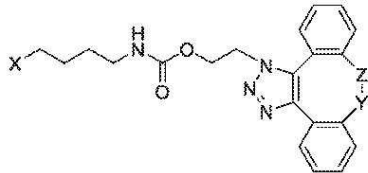
[0748] X는 하기 구조:



[0749] 를 갖는, 방법.

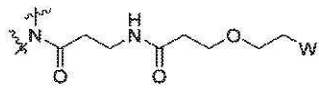
[0750] 실시형태 1.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 I의 구조, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[0751] [화학식 I]

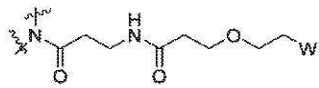


[0752]

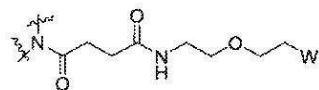
[0753] 식 중,



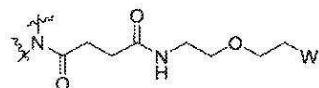
[0754] Z는 CH₂이고 Y는 이거나;



[0755] Y는 CH₂이고 Z는 이거나;



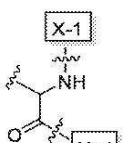
[0756] Z는 CH₂이고 Y는 이거나; 또는



[0757] Y는 CH₂이고 Z는 이며;

[0758] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0759] X는 하기 구조:

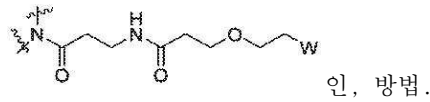


[0760] 를 가지며;

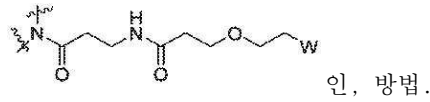
[0761] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0762] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

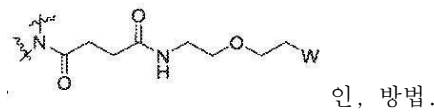
[0763] 실시형태 2. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서 Z는 CH₂이고, Y는



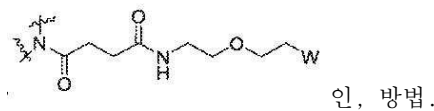
[0764] 실시형태 3. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서 Y는 CH₂이고, Z는



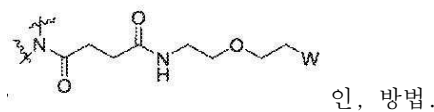
[0765] 실시형태 4. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서 Z는 CH₂이고, Y는



[0766] 실시형태 5. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서 Z는 CH₂이고, Y는



[0767] 실시형태 6. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서 Y는 CH₂이고, Z는



[0768] 실시형태 7. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서 PEG 기는 5 kDa, 10 kDa, 20 kDa 및 30 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는, 방법.

[0769] 실시형태 8. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물에서 PEG 기는 10 kDa, 20 kDa, 또는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

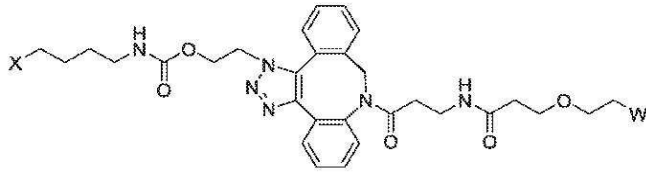
[0770] 실시형태 9. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서 PEG 기는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는, 방법.

[0771] 실시형태 10. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.

[0772] 실시형태 11. 실시형태 1 또는 1.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트에서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 I의 구조의 위치는 F41, E61, 및 P64로부터 선택되는, 방법.

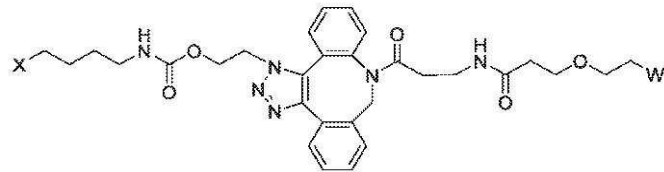
[0773] 실시형태 12. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 15~19 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[0774] [화학식 II]



[0775]

[0776] [화학식 III]

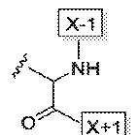


[0777] ;

[0778] 식 중,

[0779] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

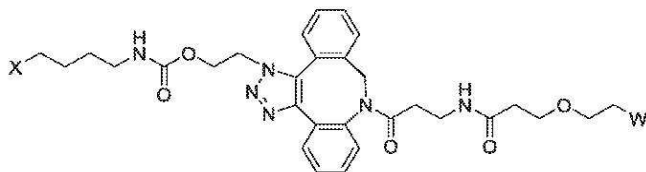
[0780] X는 하기 구조:



[0781] 를 갖는, 방법.

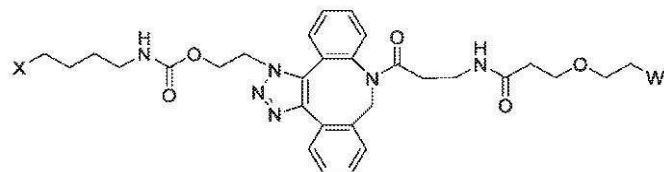
[0782] 실시형태 12.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 15~19 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[0783] [화학식 II]



[0784]

[0785] [화학식 III]

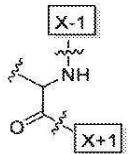


[0786] ;

[0787] 식 중,

[0788] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0789] X는 하기 구조:



[0790] 를 가지며;

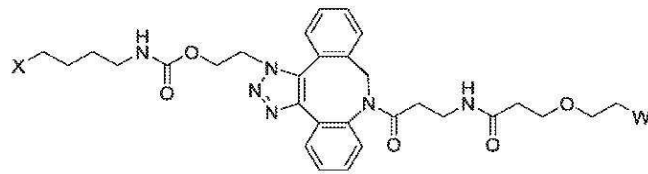
[0791] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0792] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[0793] 실시형태 13. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 [AzK_PEG]는 화학식 II 및 화학식 III의 혼합물인, 방법.

[0794] 실시형태 14. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 [AzK_PEG]는 하기 화학식 II의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[0795] [화학식 II]



[0796]

[0797] 실시형태 15. 실시형태 14에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0798] 실시형태 16. 실시형태 15에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0799] 실시형태 17. 실시형태 16에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0800] 실시형태 18. 실시형태 17에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0801] 실시형태 19. 실시형태 17에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0802] 실시형태 20. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0803] 실시형태 21. 실시형태 20에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0804] 실시형태 22. 실시형태 21에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0805] 실시형태 23. 실시형태 22에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0806] 실시형태 24. 실시형태 22에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0807] 실시형태 25. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0808] 실시형태 26. 실시형태 25에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

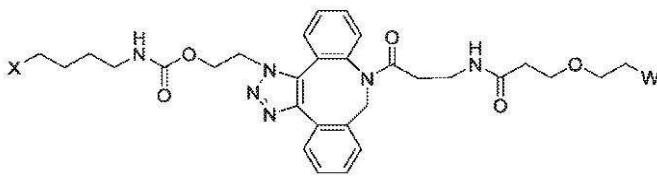
[0809] 실시형태 27. 실시형태 26에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0810] 실시형태 28. 실시형태 27에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0811] 실시형태 29. 실시형태 27에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[0812] 실시형태 30. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

- [0813] 실시형태 31. 실시형태 30에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0814] 실시형태 32. 실시형태 31에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0815] 실시형태 33. 실시형태 32에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0816] 실시형태 34. 실시형태 32에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0817] 실시형태 35. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [0818] 실시형태 36. 실시형태 35에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0819] 실시형태 37. 실시형태 36에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0820] 실시형태 38. 실시형태 37에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0821] 실시형태 39. 실시형태 37에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0822] 실시형태 40. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 [AzK_PEG]는 하기 화학식 III의 구조, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법
- [0823] [화학식 III]

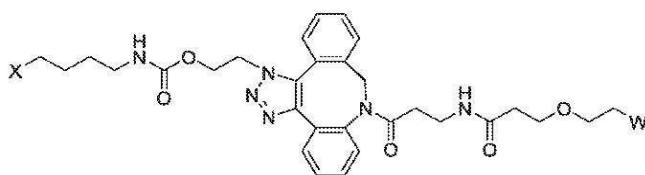


- [0824]
- [0825] 실시형태 41. 실시형태 40에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [0826] 실시형태 42. 실시형태 41에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0827] 실시형태 43. 실시형태 42에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0828] 실시형태 44. 실시형태 43에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0829] 실시형태 45. 실시형태 43에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0830] 실시형태 46. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [0831] 실시형태 47. 실시형태 46에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0832] 실시형태 48. 실시형태 47에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0833] 실시형태 49. 실시형태 48에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0834] 실시형태 50. 실시형태 48에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0835] 실시형태 51. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [0836] 실시형태 52. 실시형태 51에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는

평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

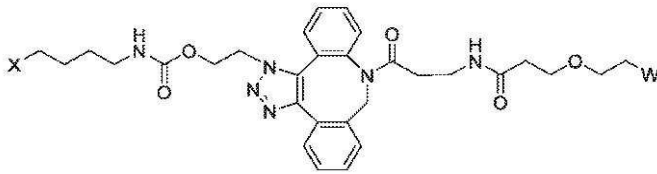
- [0837] 실시형태 53. 실시형태 52에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0838] 실시형태 54. 실시형태 53에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0839] 실시형태 55. 실시형태 53에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0840] 실시형태 56. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [0841] 실시형태 57. 실시형태 56에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0842] 실시형태 58. 실시형태 57에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0843] 실시형태 59. 실시형태 58에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0844] 실시형태 60. 실시형태 58에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0845] 실시형태 61. 실시형태 12 또는 12.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [0846] 실시형태 62. 실시형태 61에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0847] 실시형태 63. 실시형태 62에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0848] 실시형태 64. 실시형태 63에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0849] 실시형태 65. 실시형태 63에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [0850] 실시형태 66. 실시형태 1 내지 65 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 또는 분지형 PEG 기인, 방법.
- [0851] 실시형태 67. 실시형태 1 내지 65 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 PEG 기인, 방법.
- [0852] 실시형태 68. 실시형태 1 내지 65 중 어느 하나에 있어서, W는 분지형 PEG 기인, 방법.
- [0853] 실시형태 69. 실시형태 1 내지 65 중 어느 하나에 있어서, W는 메톡시 PEG 기인, 방법.
- [0854] 실시형태 70. 실시형태 69에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형 또는 분지형인, 방법.
- [0855] 실시형태 71. 실시형태 70에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형인, 방법.
- [0856] 실시형태 72. 실시형태 70에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 분지형인, 방법.
- [0857] 실시형태 73. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 20~24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[0858] [화학식 II]



[0859]

[0860] [화학식 III]

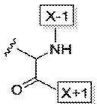


[0861] ;

[0862] 식 중,

[0863] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

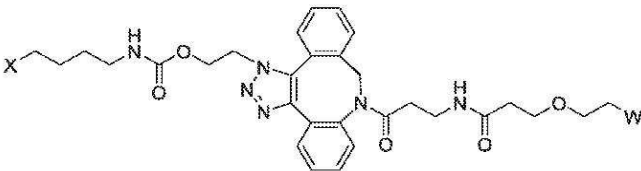
[0864] X는 하기 구조:



[0865] 를 갖는, 방법.

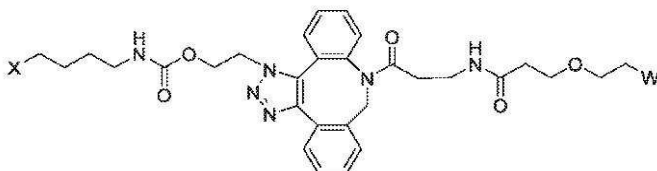
[0866] 실시형태 73.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 20~24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[0867] [화학식 II]



[0868]

[0869] [화학식 III]

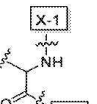


[0870] ;

[0871] 식 중,

[0872] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0873] X는 하기 구조:



[0874] 를 가지며;

[0875] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0876] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[0877] 실시형태 74. 실시형태 73 또는 73.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0878] 실시형태 75. 실시형태 73 또는 73.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0879] 실시형태 76. 실시형태 73 또는 73.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을

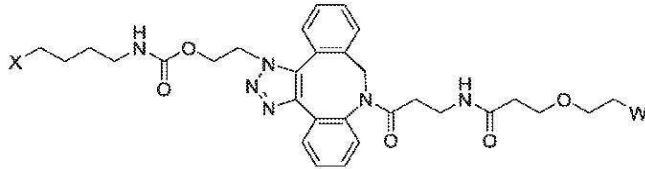
갖는, 방법.

[0880] 실시형태 77. 실시형태 73 또는 73.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0881] 실시형태 78. 실시형태 73 또는 73.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0882] 실시형태 79. 실시형태 73 또는 73.1에 있어서, 상기 [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 II의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[0883] [화학식 II]



[0884]

[0885] 실시형태 80. 실시형태 79에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0886] 실시형태 81. 실시형태 79에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

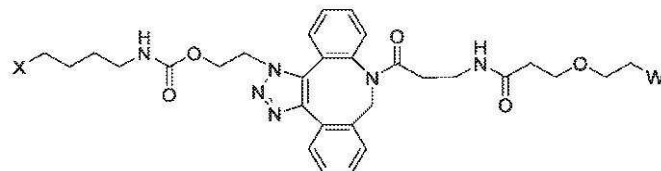
[0887] 실시형태 82. 실시형태 79에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0888] 실시형태 83. 실시형태 79에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0889] 실시형태 84. 실시형태 79에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0890] 실시형태 85. 실시형태 73 또는 73.1에 있어서, 상기 [AzK_PEG5kD]는 하기 화학식 III의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[0891] [화학식 III]



[0892]

[0893] 실시형태 86. 실시형태 85에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0894] 실시형태 87. 실시형태 85에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

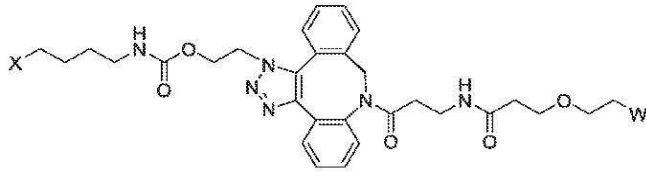
[0895] 실시형태 88. 실시형태 85에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0896] 실시형태 89. 실시형태 85에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0897] 실시형태 90. 실시형태 85에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

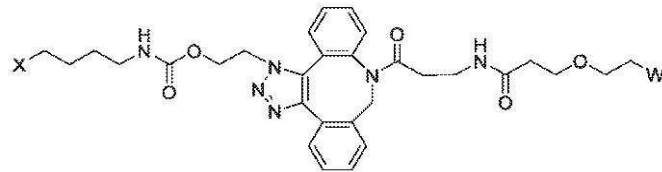
[0898] 실시형태 91. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25-29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조를 갖거나, 또는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0899] [화학식 II]



[0900]

[0901] [화학식 III]

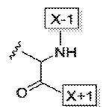


[0902] ;

[0903] 식 중,

[0904] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

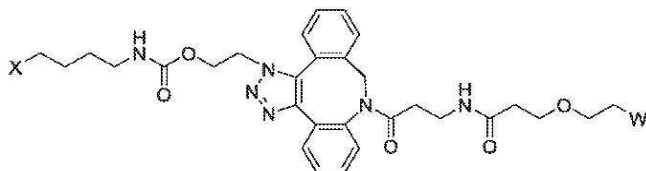
[0905] X는 하기 구조:



[0906] 를 갖는, 방법.

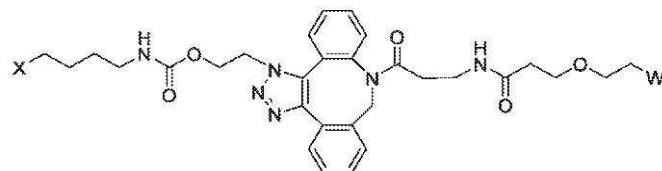
[0907] 실시형태 91.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25~29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 II 또는 화학식 III의 구조를 갖거나, 또는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0908] [화학식 II]



[0909]

[0910] [화학식 III]

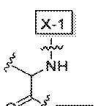


[0911] ;

[0912] 식 중,

[0913] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0914] X는 하기 구조:



[0915] 를 가지며;

[0916] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0917] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[0918] 실시형태 92. 실시형태 91 또는 91.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0919] 실시형태 93. 실시형태 91 또는 91.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

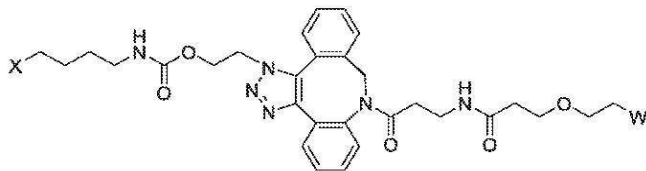
[0920] 실시형태 94. 실시형태 91 또는 91.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0921] 실시형태 95. 실시형태 91 또는 91.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0922] 실시형태 96. 실시형태 91 또는 91.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0923] 실시형태 97. 실시형태 91 또는 91.1에 있어서, 상기 [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 II의 구조 또는 이의 약제학 적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[0924] [화학식 II]



[0925]

[0926] 실시형태 98. 실시형태 97에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0927] 실시형태 99. 실시형태 97에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

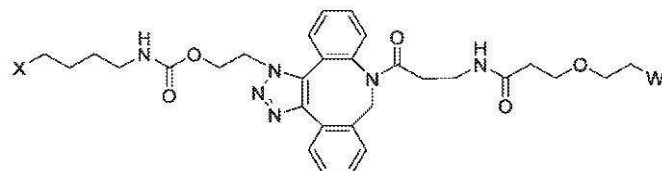
[0928] 실시형태 100. 실시형태 97에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0929] 실시형태 101. 실시형태 97에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0930] 실시형태 102. 실시형태 97에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0931] 실시형태 103. 실시형태 91 또는 91.1에 있어서, 상기 [AzK_PEG30kD]는 하기 화학식 III의 구조, 또는 이의 약 제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[0932] [화학식 III];



[0933]

[0934] 실시형태 104. 실시형태 103에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0935] 실시형태 105. 실시형태 103에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0936] 실시형태 106. 실시형태 103에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

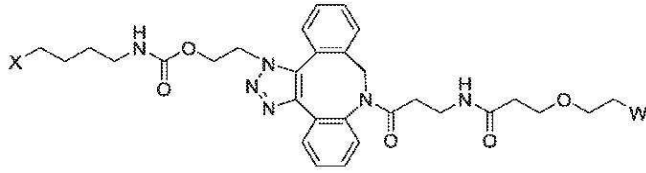
[0937] 실시형태 107. 실시형태 103에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[0938] 실시형태 108. 실시형태 103에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

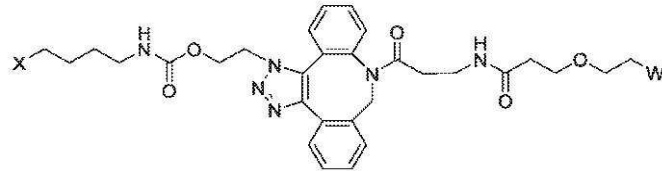
[0939] 실시형태 109. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 15~19 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG]는 화학식 II와 화학식 III의 구조

의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[화학식 II]



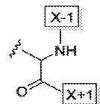
[화학식 III]



식 중,

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

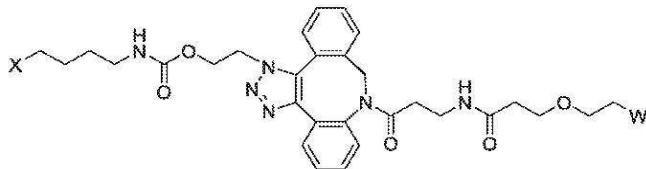
X는 하기 구조:



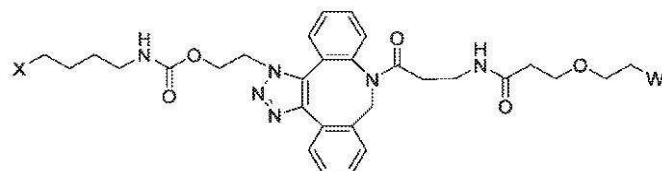
를 갖는, 방법.

실시형태 109.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 15~19 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[화학식 II]



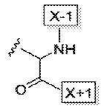
[화학식 III]



식 중,

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

X는 하기 구조:



[0956] 를 가지며;

[0957] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0958] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[0959] 실시형태 110. 실시형태 109 또는 109.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_PEG] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 약 1:1인, 방법.

[0960] 실시형태 111. 실시형태 109 또는 109.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_PEG] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.

[0961] 실시형태 112. 실시형태 109 또는 109.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_PEG] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.

[0962] 실시형태 113. 실시형태 109 내지 112 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 또는 분지형 PEG 기인, 방법.

[0963] 실시형태 114. 실시형태 109 내지 112 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 PEG 기인, 방법.

[0964] 실시형태 115. 실시형태 109 내지 112 중 어느 하나에 있어서, W는 분지형 PEG 기인, 방법.

[0965] 실시형태 116. 실시형태 109 내지 112 중 어느 하나에 있어서, W는 메톡시 PEG 기인, 방법.

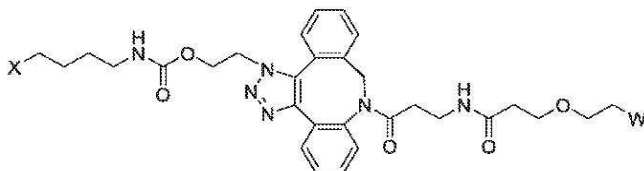
[0966] 실시형태 117. 실시형태 116에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형 또는 분지형인, 방법.

[0967] 실시형태 118. 실시형태 117에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형인, 방법.

[0968] 실시형태 119. 실시형태 117에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 분지형인, 방법.

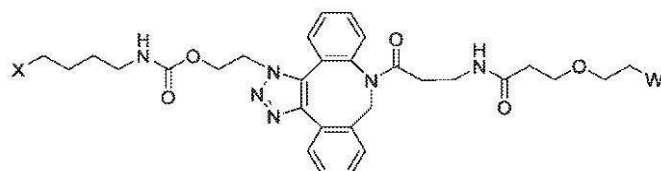
[0969] 실시형태 120. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 20-24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0970] [화학식 II]



[0971]

[0972] [화학식 III]

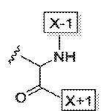


[0973] ;

[0974] 식 중,

[0975] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

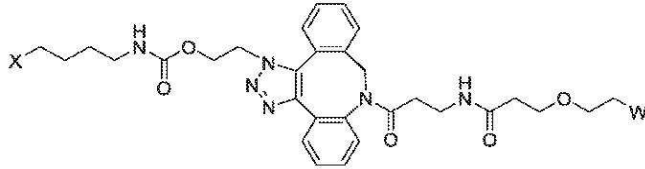
[0976] X는 하기 구조:



[0977] 를 갖는, 방법.

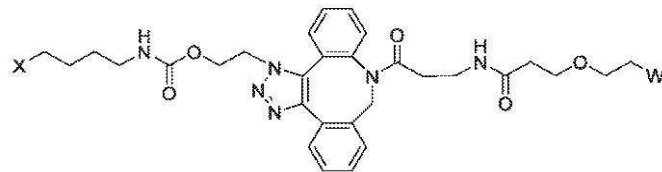
[0978] 실시형태 120.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 20~24 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG5kD]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0979] [화학식 II]



[0980]

[0981] [화학식 III]

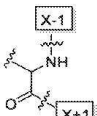


[0982] ;

[0983] 식 중,

[0984] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0985] X는 하기 구조:



[0986] 를 가지며;

[0987] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[0988] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

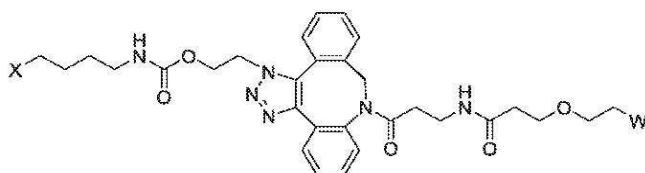
[0989] 실시형태 121. 실시형태 120 또는 120.1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 중 총 [AzK_PEG5kD] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 약 1:1인, 방법.

[0990] 실시형태 122. 실시형태 120 또는 120.1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 중 총 [AzK_PEG5kD] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.

[0991] 실시형태 123. 실시형태 120 또는 120.1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 중 총 [AzK_PEG5kD] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.

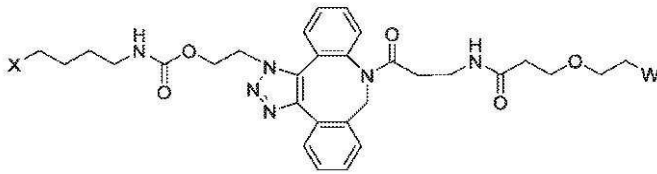
[0992] 실시형태 124. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 25~29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[0993] [화학식 II]



[0994]

[0995] [화학식 III]

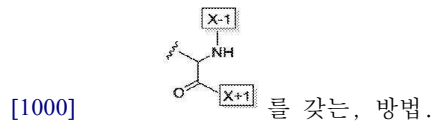


[0996] ;

[0997] 식 중,

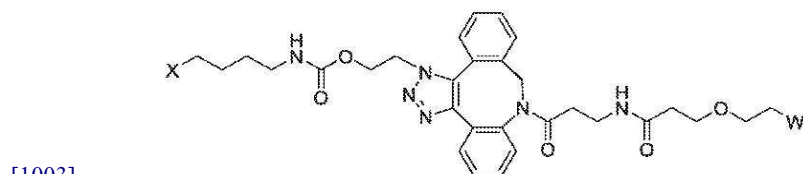
[0998] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[0999] X는 하기 구조:



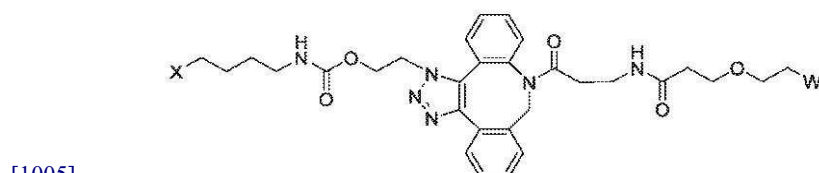
[1001] 실시형태 124.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 25~29 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_PEG30kD]는 화학식 II와 화학식 III의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1002] [화학식 II]



[1003]

[1004] [화학식 III]

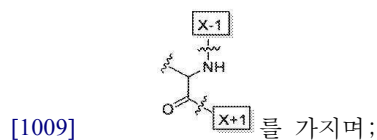


[1005] ;

[1006] 식 중,

[1007] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[1008] X는 하기 구조:



[1010] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1011] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

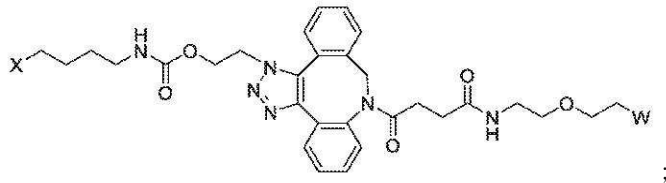
[1012] 실시형태 125. 실시형태 124 또는 124.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_PEG30kD] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 약 1:1인, 방법.

[1013] 실시형태 126. 실시형태 124 또는 124.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_PEG30kD] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.

[1014] 실시형태 127. 실시형태 124 또는 124.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_PEG30kD] 양을 포함하는, 화학식 III의 구조의 양에 대한 화학식 II의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.

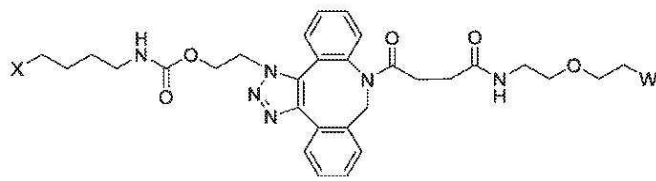
[1015] 실시형태 128. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[1016] [화학식 IV]



[1017] ;

[1018] [화학식 V]

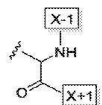


[1019]

[1020] 식 중,

[1021] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

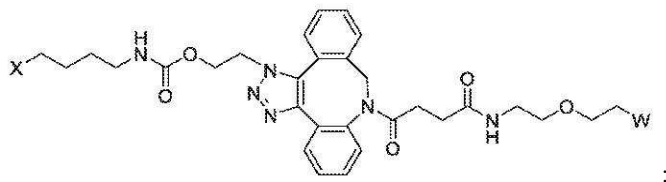
[1022] X는 하기 구조:



[1023] 를 갖는, 방법.

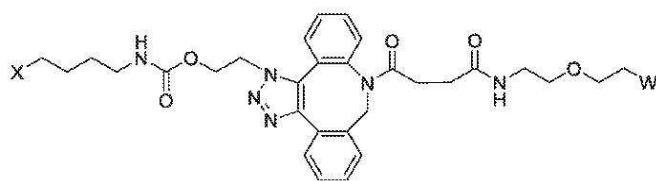
[1024] 실시형태 128.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[1025] [화학식 IV]



[1026] ;

[1027] [화학식 V]



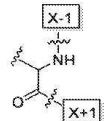
[1028]

[1029] 식 중,

[1030] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[1031] X는 하기 구조:



[1032] 를 가지며;

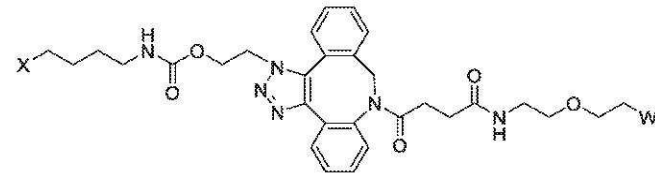
[1033] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1034] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[1035] 실시형태 129. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 [AzK_L1_PEG]는 화학식 IV 및 화학식 V의 혼합물인, 방법.

[1036] 실시형태 130. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 IV의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[1037] [화학식 IV]



[1038] .

[1039] 실시형태 131. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1040] 실시형태 132. 실시형태 131에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1041] 실시형태 133. 실시형태 132에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1042] 실시형태 134. 실시형태 133에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1043] 실시형태 135. 실시형태 133에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1044] 실시형태 136. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1045] 실시형태 137. 실시형태 136에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1046] 실시형태 138. 실시형태 137에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1047] 실시형태 139. 실시형태 138에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1048] 실시형태 140. 실시형태 138에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1049] 실시형태 141. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1050] 실시형태 142. 실시형태 141에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1051] 실시형태 143. 실시형태 142에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1052] 실시형태 144. 실시형태 143에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

- [1053] 실시형태 145. 실시형태 143에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1054] 실시형태 146. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1055] 실시형태 147. 실시형태 146에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1056] 실시형태 148. 실시형태 147에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1057] 실시형태 149. 실시형태 148에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1058] 실시형태 150. 실시형태 148에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1059] 실시형태 151. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1060] 실시형태 152. 실시형태 151에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

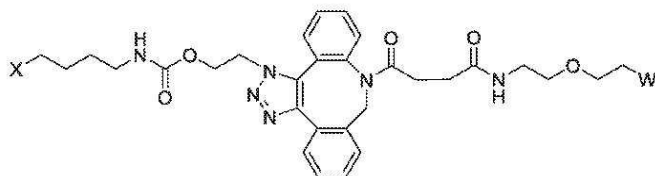
[1061] 실시형태 153. 실시형태 152에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1062] 실시형태 154. 실시형태 153에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1063] 실시형태 155. 실시형태 153에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1064] 실시형태 156. 실시형태 128 또는 128.1에 있어서, 상기 [AzK_L1_PEG]는 하기 화학식 V의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[1065] [화학식 V]



- [1066] 실시형태 157. 실시형태 156에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1068] 실시형태 158. 실시형태 156에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1069] 실시형태 159. 실시형태 158에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1070] 실시형태 160. 실시형태 159에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1071] 실시형태 161. 실시형태 159에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1072] 실시형태 162. 실시형태 156에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1073] 실시형태 163. 실시형태 162에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

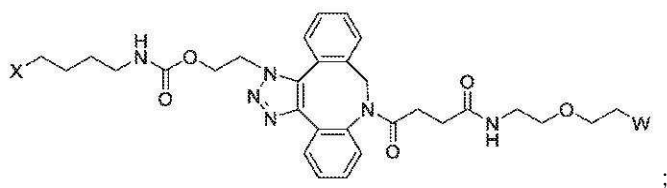
[1074] 실시형태 164. 실시형태 163에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1075] 실시형태 165. 실시형태 164에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

[1076] 실시형태 166. 실시형태 164에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.

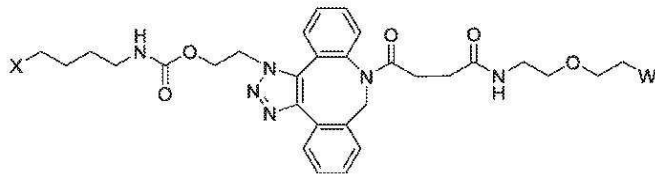
[1077] 실시형태 167. 실시형태 156에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

- [1078] 실시형태 168. 실시형태 167에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1079] 실시형태 169. 실시형태 168에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1080] 실시형태 170. 실시형태 169에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1081] 실시형태 171. 실시형태 169에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1082] 실시형태 172. 실시형태 156에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [1083] 실시형태 173. 실시형태 172에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1084] 실시형태 174. 실시형태 173에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1085] 실시형태 175. 실시형태 174에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1086] 실시형태 176. 실시형태 174에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1087] 실시형태 177. 실시형태 156에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 갖는, 방법.
- [1088] 실시형태 178. 실시형태 177에 있어서, W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1089] 실시형태 179. 실시형태 178에 있어서, W는 5 kDa 및 30 kDa으로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1090] 실시형태 180. 실시형태 179에 있어서, W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1091] 실시형태 181. 실시형태 179에 있어서, W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기인, 방법.
- [1092] 실시형태 182. 실시형태 128 내지 181 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 또는 분지형 PEG 기인, 방법.
- [1093] 실시형태 183. 실시형태 128 내지 181 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 PEG 기인, 방법.
- [1094] 실시형태 184. 실시형태 128 내지 181 중 어느 하나에 있어서, W는 분지형 PEG 기인, 방법.
- [1095] 실시형태 185. 실시형태 128 내지 181 중 어느 하나에 있어서, W는 메톡시 PEG 기인, 방법.
- [1096] 실시형태 186. 실시형태 185에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형 또는 분지형인, 방법.
- [1097] 실시형태 187. 실시형태 186에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형인, 방법.
- [1098] 실시형태 188. 실시형태 186에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 분지형인, 방법.
- [1099] 실시형태 189. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:
- [1100] [화학식 IV]



[1101] ;

[1102] [화학식 V]

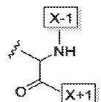


[1103]

[1104] 식 중,

[1105] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

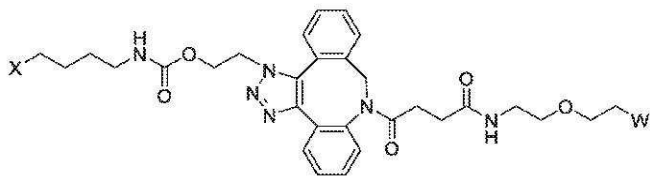
[1106] X는 하기 구조:



[1107] 를 갖는, 방법.

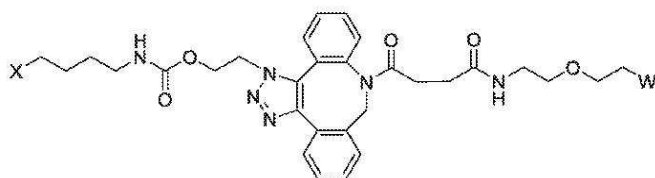
[1108] 실시형태 189.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 가지며:

[1109] [화학식 IV]



[1110]

[1111] [화학식 V]

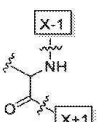


[1112]

[1113] 식 중,

[1114] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[1115] X는 하기 구조:



[1116] 를 가지며;

[1117] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1118] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[1119] 실시형태 190. 실시형태 189 또는 189.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1120] 실시형태 191. 실시형태 189 또는 189.1에 있어서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

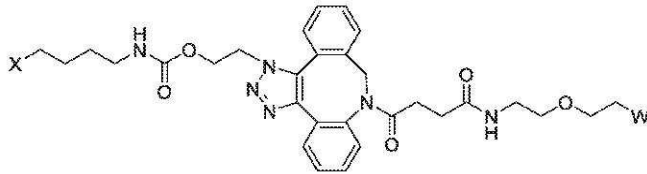
[1121] 실시형태 192. 실시형태 189 또는 189.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1122] 실시형태 193. 실시형태 189 또는 189.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1123] 실시형태 194. 실시형태 189 또는 189.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1124] 실시형태 195. 실시형태 189 또는 189.1에 있어서, 상기 [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 IV의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[1125] [화학식 IV];



[1126]

[1127] 실시형태 196. 실시형태 195에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1128] 실시형태 197. 실시형태 195에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

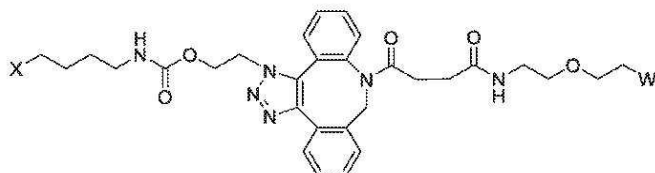
[1129] 실시형태 198. 실시형태 195에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1130] 실시형태 199. 실시형태 195에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1131] 실시형태 200. 실시형태 195에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1132] 실시형태 201. 실시형태 189 또는 189.1에 있어서, 상기 [AzK_L1_PEG5kD]는 하기 화학식 V의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[1133] [화학식 V]



[1134]

[1135] 실시형태 202. 실시형태 201에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1136] 실시형태 203. 실시형태 201에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

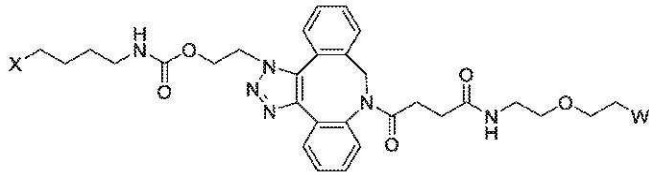
[1137] 실시형태 204. 실시형태 201에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1138] 실시형태 205. 실시형태 201에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1139] 실시형태 206. 실시형태 201에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

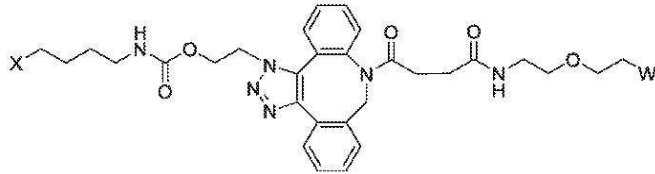
[1140] 실시형태 207. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 갖거나, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1141] [화학식 IV]



[1142] ;

[1143] [화학식 V]

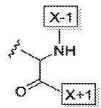


[1144]

[1145] 식 중,

[1146] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

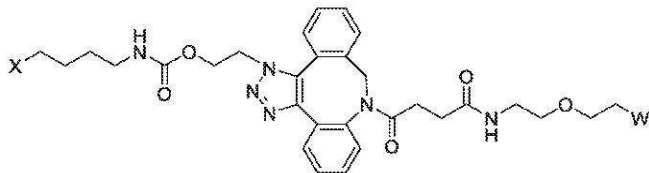
[1147] X는 하기 구조:



[1148] 를 갖는, 방법.

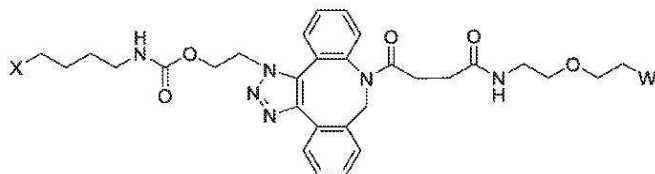
[1149] 실시형태 207.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조를 갖거나, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1150] [화학식 IV]



[1151] ;

[1152] [화학식 V]

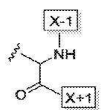


[1153]

[1154] 식 중,

[1155] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[1156] X는 하기 구조:



[1157] 를 갖는, 방법.

[1158] 실시형태 208. 실시형태 207 또는 207.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1159] 실시형태 209. 실시형태 207 또는 207.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 51의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

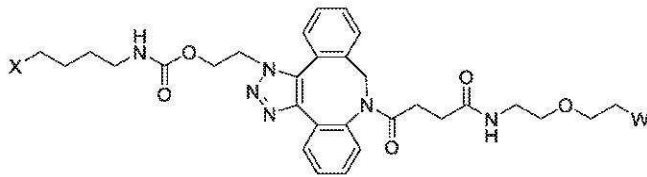
[1160] 실시형태 210. 실시형태 207 또는 207.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 52의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1161] 실시형태 211. 실시형태 207 또는 207.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1162] 실시형태 212. 실시형태 207 또는 207.1에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1163] 실시형태 213. 실시형태 207 또는 207.1에 있어서, 상기 [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 IV의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[1164] [화학식 IV]



[1165]

[1166] 실시형태 214. 실시형태 213에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1167] 실시형태 215. 실시형태 213에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 51의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

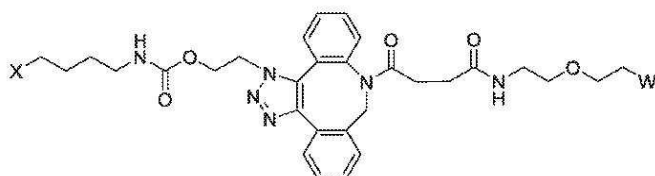
[1168] 실시형태 216. 실시형태 213에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 52의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1169] 실시형태 217. 실시형태 213에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1170] 실시형태 218. 실시형태 213에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1171] 실시형태 219. 실시형태 207 또는 207.1에 있어서, 상기 [AzK_L1_PEG30kD]는 하기 화학식 V의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물을 갖는, 방법:

[1172] [화학식 V]



[1173]

[1174] 실시형태 220. 실시형태 219에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1175] 실시형태 221. 실시형태 219에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 51의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

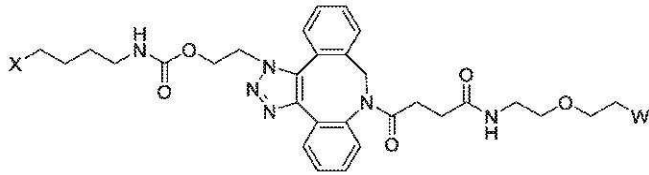
[1176] 실시형태 222. 실시형태 219에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 52의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1177] 실시형태 223. 실시형태 219에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

[1178] 실시형태 224. 실시형태 219에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 갖는, 방법.

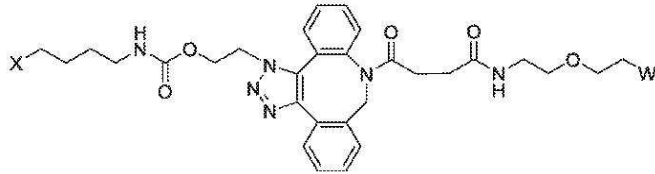
[1179] 실시형태 225. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [Azk_L1_PEG]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1180] [화학식 IV]



[1181] ;

[1182] [화학식 V]

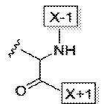


[1183]

[1184] 식 중,

[1185] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

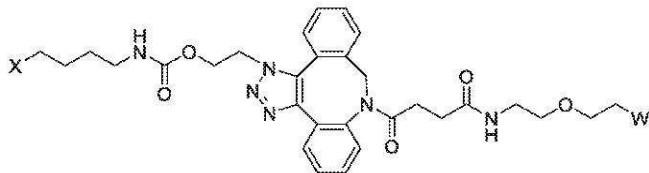
[1186] X는 하기 구조:



[1187] 를 갖는, 방법.

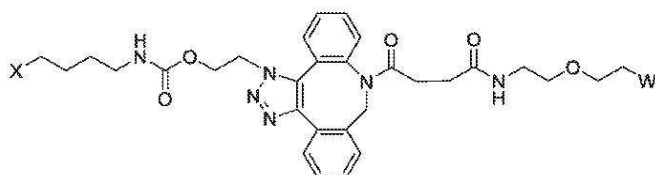
[1188] 실시형태 225.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 40~44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [Azk_L1_PEG]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1189] [화학식 IV]



[1190] ;

[1191] [화학식 V]

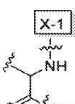


[1192]

[1193] 식 중,

[1194] W는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa로부터 선택되는 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

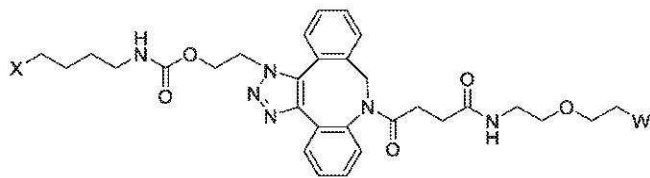
[1195] X는 하기 구조:



[1196] 를 가지며;

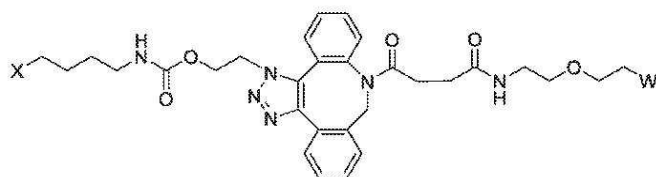
- [1197] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고
- [1198] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.
- [1199] 실시형태 226. 실시형태 225 또는 225.1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 중 총 [AzK_L1_PEG] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 약 1:1인, 방법.
- [1200] 실시형태 227. 실시형태 225 또는 225.1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 중 총 [AzK_L1_PEG] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.
- [1201] 실시형태 228. 실시형태 225 또는 225.1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 중 총 [AzK_L1_PEG] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.
- [1202] 실시형태 229. 실시형태 225 내지 228 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 또는 분지형 PEG 기인, 방법.
- [1203] 실시형태 230. 실시형태 225 내지 228 중 어느 하나에 있어서, W는 선형 PEG 기인, 방법.
- [1204] 실시형태 231. 실시형태 225 내지 228 중 어느 하나에 있어서, W는 분지형 PEG 기인, 방법.
- [1205] 실시형태 232. 실시형태 225 내지 228 중 어느 하나에 있어서, W는 메톡시 PEG 기인, 방법.
- [1206] 실시형태 233. 실시형태 232에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형 또는 분지형인, 방법.
- [1207] 실시형태 234. 실시형태 233에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 선형인, 방법.
- [1208] 실시형태 235. 실시형태 233에 있어서, 상기 메톡시 PEG 기는 분지형인, 방법.
- [1209] 실시형태 236. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1210] [화학식 IV]



[1211] ;

[1212] [화학식 V]

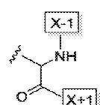


[1213]

[1214] 식 중,

[1215] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

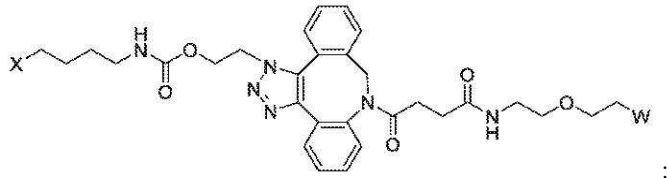
[1216] X는 하기 구조:



[1217] 를 갖는, 방법.

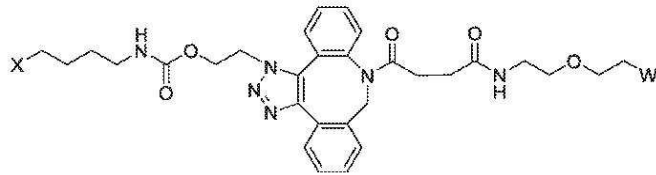
[1218] 실시형태 236.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘쥬게이트는 SEQ ID NO: 45~49 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG5kD]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1219] [화학식 IV]



[1220] ;

[1221] [화학식 V]

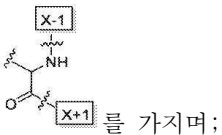


[1222]

[1223] 식 중,

[1224] W는 5 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[1225] X는 하기 구조:



[1226] 를 가지며;

[1227] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1228] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

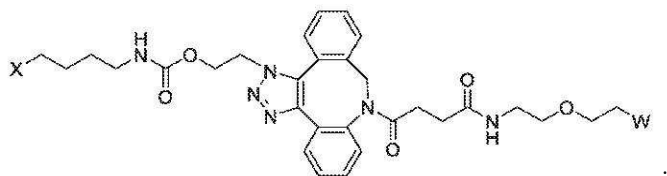
[1229] 실시형태 237. 실시형태 236 또는 236.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_L1_ PEG5kD] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 약 1:1인, 방법.

[1230] 실시형태 238. 실시형태 236 또는 236.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_L1_ PEG5kD] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.

[1231] 실시형태 239. 실시형태 236 또는 236.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_L1_ PEG5kD] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.

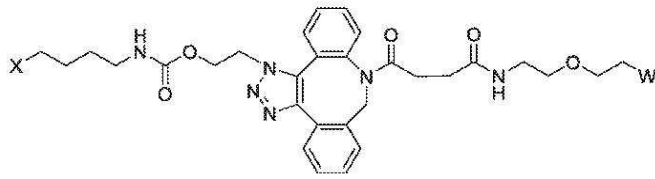
[1232] 실시형태 240. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_ PEG30kD]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1233] [화학식 IV]



[1234] ;

[1235] [화학식 V]

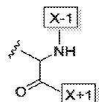


[1236]

[1237] 식 중,

[1238] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

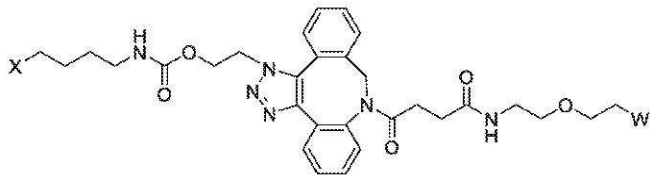
[1239] X는 하기 구조:



[1240] 를 갖는, 방법.

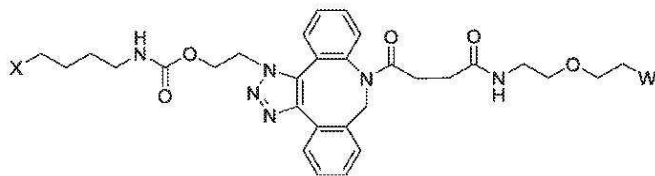
[1241] 실시형태 240.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 50~54 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서, [AzK_L1_PEG30kD]는 화학식 IV와 화학식 V의 구조의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이며:

[1242] [화학식 IV]



[1243]

[1244] [화학식 V]

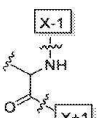


[1245]

[1246] 식 중,

[1247] W는 30 kDa의 평균 분자량을 갖는 PEG 기이며;

[1248] X는 하기 구조:



[1249] 를 가지며;

[1250] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1251] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

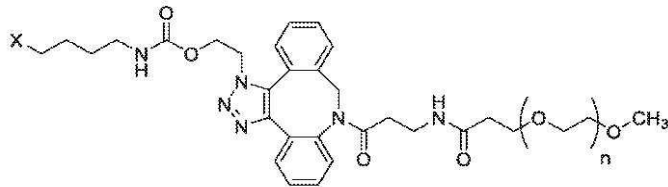
[1252] 실시형태 241. 실시형태 240 또는 240.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_L1_PEG30kD] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 약 1:1인, 방법.

[1253] 실시형태 242. 실시형태 240 또는 240.1에 있어서, IL-2 콘주게이트 중 총 [AzK_L1_PEG30kD] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.

[1254] 실시형태 243. 실시형태 240 또는 240.1에 있어서, IL-2 콘쥬게이트 중 총 [AzK_L1_PEG30kD] 양을 포함하는, 화학식 V의 구조의 양에 대한 화학식 IV의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.

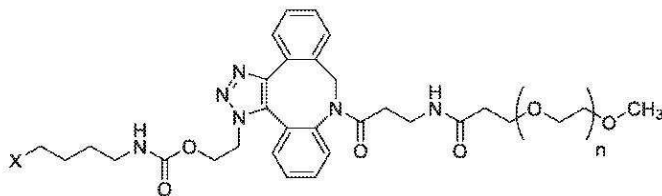
[1255] 실시형태 244. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1256] [화학식 VI]



[1257]

[1258] [화학식 VII]

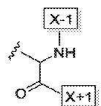


[1259]

[1260] 식 중,

[1261] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

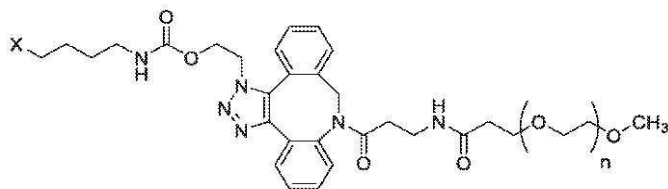
[1262] X는 하기 구조:



[1263] 를 갖는 방법.

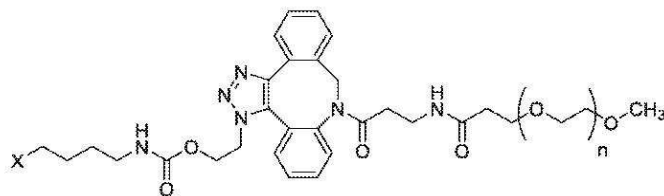
[1264] 실시형태 244.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1265] [화학식 VI]



[1266]

[1267] [화학식 VII]

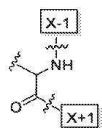


[1268]

[1269] 식 중,

[1270] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[1271] X는 하기 구조:



[1272] 를 가지며;

[1273] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1274] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[1275] 실시형태 245. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, 화학식 VI 및 VII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위인, 방법.

[1276] 실시형태 246. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수인, 방법.

[1277] 실시형태 247. 실시형태 244 내지 246 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.

[1278] 실시형태 248. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 K34에 있는, 방법.

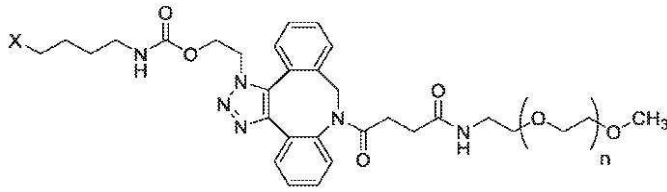
[1279] 실시형태 249. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 F41에 있는, 방법.

- [1280] 실시형태 250. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 F43에 있는, 방법.
- [1281] 실시형태 251. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 K42에 있는, 방법.
- [1282] 실시형태 252. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 E61에 있는, 방법.
- [1283] 실시형태 253. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 P64에 있는, 방법.
- [1284] 실시형태 254. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 R37에 있는, 방법.
- [1285] 실시형태 255. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 T40에 있는, 방법.
- [1286] 실시형태 256. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 E67에 있는, 방법.
- [1287] 실시형태 257. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 Y44에 있는, 방법.
- [1288] 실시형태 258. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 V68에 있는, 방법.
- [1289] 실시형태 259. 실시형태 247에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VI, 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물의 위치는 L71에 있는, 방법.
- [1290] 실시형태 260. 실시형태 244 내지 259 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 VII의 구조의 양에 대한 화학식 VI의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.
- [1291] 실시형태 261. 실시형태 244 내지 259 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 VII의 구조의 양에 대한 화학식 VI의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.
- [1292] 실시형태 262. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1293] 실시형태 263. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1294] 실시형태 264. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1295] 실시형태 265. 실시형태 264에 있어서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1296] 실시형태 266. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1297] 실시형태 267. 실시형태 266에 있어서, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1298] 실시형태 268. 실시형태 266에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 500 내지 약 1000의 정수인, 방법.
- [1299] 실시형태 269. 실시형태 266에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 550 내

지 약 800의 정수인, 방법.

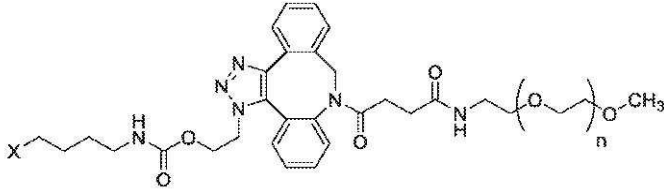
- [1300] 실시형태 270. 실시형태 267에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 681인, 방법.
- [1301] 실시형태 271. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1302] 실시형태 272. 실시형태 271에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1303] 실시형태 273. 실시형태 271에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 500 내지 약 1000의 정수인, 방법.
- [1304] 실시형태 274. 실시형태 273에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 550 내지 약 800의 정수인, 방법.
- [1305] 실시형태 275. 실시형태 271에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 681인, 방법.
- [1306] 실시형태 276. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 내지 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1307] 실시형태 277. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1308] 실시형태 278. 실시형태 244 또는 244.1에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1309] 실시형태 279. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1310] [화학식 VIII]



[1311]

[1312] [화학식 IX]

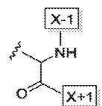


[1313]

[1314] 식 중,

[1315] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

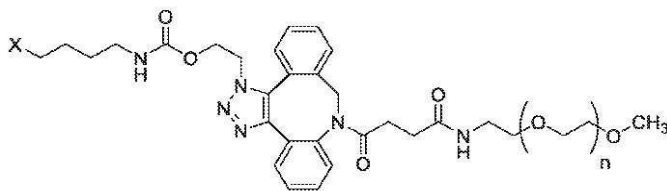
[1316] X는 하기 구조:



[1317] 를 갖는, 방법.

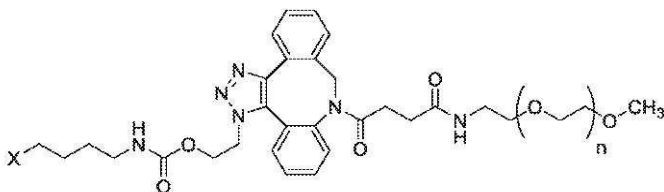
[1318] 실시형태 279.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘쥬게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘쥬게이트는 IL-2 콘쥬게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1319] [화학식 VIII]



[1320]

[1321] [화학식 IX]

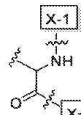


[1322]

[1323] 식 중,

[1324] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[1325] X는 하기 구조:



[1326] 를 가지며;

[1327] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1328] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[1329] 실시형태 280. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위인, 방법.

[1330] 실시형태 281. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수인, 방법.

[1331] 실시형태 282. 실시형태 279 내지 281 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.

[1332] 실시형태 283. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K34에 있는, 방법.

[1333] 실시형태 284. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 F41에 있는, 방법.

[1334] 실시형태 285. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 F43에 있는, 방법.

[1335] 실시형태 286. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 K42에 있는, 방법.

[1336] 실시형태 287. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 E61에 있는, 방법.

[1337] 실시형태 288. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 P64에 있는, 방법.

[1338] 실시형태 289. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 R37에 있는, 방법.

- [1339] 실시형태 290. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 T40에 있는, 방법.
- [1340] 실시형태 291. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 E67에 있는, 방법.
- [1341] 실시형태 292. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 Y44에 있는, 방법.
- [1342] 실시형태 293. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 V68에 있는, 방법.
- [1343] 실시형태 294. 실시형태 282에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 VIII, 화학식 IX의 구조, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물의 위치는 L71에 있는, 방법.
- [1344] 실시형태 295. 실시형태 279 내지 294 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 IX의 구조의 양에 대한 화학식 VIII의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.
- [1345] 실시형태 296. 실시형태 279 내지 294 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 IX의 구조의 양에 대한 화학식 VIII의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.
- [1346] 실시형태 297. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1347] 실시형태 298. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1348] 실시형태 299. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1349] 실시형태 300. 실시형태 299에 있어서, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1350] 실시형태 301. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1351] 실시형태 302. 실시형태 300에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1352] 실시형태 303. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 500 내지 약 1000의 정수인, 방법.
- [1353] 실시형태 304. 실시형태 303에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 550 내지 약 800의 정수인, 방법.
- [1354] 실시형태 305. 실시형태 302에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 681인, 방법.
- [1355] 실시형태 306. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1356] 실시형태 307. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, 화학식 VIII 및 화학식 IX의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.

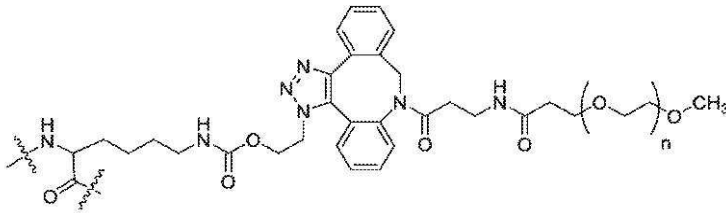
[1357] 실시형태 308. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 500 내지 약 1000의 정수인, 방법.

[1358] 실시형태 309. 실시형태 279 또는 279.1에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 550 내지 약 800의 정수인, 방법.

[1359] 실시형태 310. 실시형태 307에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 681인, 방법.

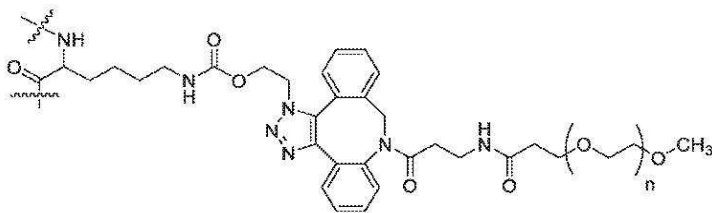
[1360] 실시형태 311. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1361] [화학식 X]



[1362]

[1363] [화학식 XI]



[1364]

[1365] 식 중,

[1366] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[1367] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타내는, 방법.

[1368] 실시형태 312. 실시형태 311에 있어서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위인, 방법.

[1369] 실시형태 313. 실시형태 311에 있어서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021,

1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수인, 방법.

- [1370] 실시형태 314. 실시형태 311 내지 313 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.
- [1371] 실시형태 315. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 K34에 있는, 방법.
- [1372] 실시형태 316. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 F41에 있는, 방법.
- [1373] 실시형태 317. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 F43에 있는, 방법.
- [1374] 실시형태 318. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 K42에 있는, 방법.
- [1375] 실시형태 319. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 E61에 있는, 방법.
- [1376] 실시형태 320. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 P64에 있는, 방법.
- [1377] 실시형태 321. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 R37에 있는, 방법.
- [1378] 실시형태 322. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 T40에 있는, 방법.
- [1379] 실시형태 323. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 E67에 있는, 방법.
- [1380] 실시형태 324. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 Y44에 있는, 방법.
- [1381] 실시형태 325. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 V68에 있는, 방법.
- [1382] 실시형태 326. 실시형태 314에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 X, 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X과 화학식 XI의 혼합물의 위치는 L71에 있는, 방법.
- [1383] 실시형태 327. 실시형태 311 내지 326 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 XI의 구조의 양에 대한 화학식 X의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.
- [1384] 실시형태 328. 실시형태 311 내지 326 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 XI의 구조의 양에 대한 화학식 X의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.
- [1385] 실시형태 329. 실시형태 311에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1386] 실시형태 330. 실시형태 311에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1387] 실시형태 331. 실시형태 311에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909

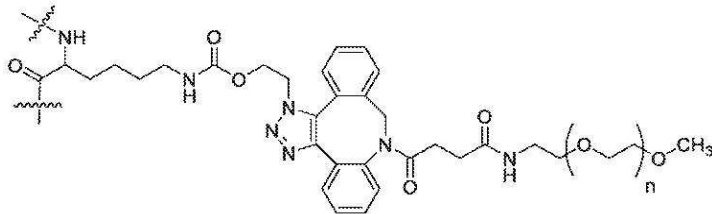
의 정수인, 방법.

- [1388] 실시형태 332. 실시형태 330에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1389] 실시형태 333. 실시형태 311에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1390] 실시형태 334. 실시형태 311에 있어서, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1391] 실시형태 335. 실시형태 311에 있어서, n은 약 500 내지 약 1000인, 방법.
- [1392] 실시형태 336. 실시형태 335에 있어서, n은 약 550 내지 약 800인, 방법.
- [1393] 실시형태 337. 실시형태 332에 있어서, n은 681인, 방법.
- [1394] 실시형태 338. 실시형태 311에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1395] 실시형태 339. 실시형태 311에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, 화학식 X 및 화학식 XI의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1396] 실시형태 340. 실시형태 311에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 500 내지 약 1000의 정수인, 방법.
- [1397] 실시형태 341. 실시형태 340에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 550 내지 약 800의 정수인, 방법.
- [1398] 실시형태 342. 실시형태 339에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 681인, 방법.
- [1399] 실시형태 343. 실시형태 311에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 내지 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1400] 실시형태 344. 실시형태 311에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

[1401] 실시형태 345. 실시형태 311에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

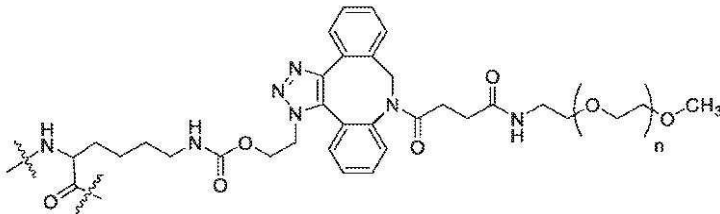
[1402] 실시형태 346. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조 또는 화학식 XII과 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1403] [화학식 XII]



[1404]

[1405] [화학식 XIII]



[1406]

[1407] 식 중,

[1408] n은 약 2 내지 약 5000의 범위의 정수이며;

[1409] 물결선은 대체되지 않은 SEQ ID NO: 3 내의 아미노산 잔기에 대한 공유 결합을 나타내는, 방법.

[1410] 실시형태 347. 실시형태 346에 있어서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 약 5 내지 약 4600, 또는 약 10 내지 약 4000, 또는 약 20 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 3000, 또는 약 100 내지 약 2900, 또는 약 150 내지 약 2900, 또는 약 125 내지 약 2900, 또는 약 100 내지 약 2500, 또는 약 100 내지 약 2000, 또는 약 100 내지 약 1900, 또는 약 100 내지 약 1850, 또는 약 100 내지 약 1750, 또는 약 100 내지 약 1650, 또는 약 100 내지 약 1500, 또는 약 100 내지 약 1400, 또는 약 100 내지 약 1300, 또는 약 100 내지 약 1250, 또는 약 100 내지 약 1150, 또는 약 100 내지 약 1100, 또는 약 100 내지 약 1000, 또는 약 100 내지 약 900, 또는 약 100 내지 약 750, 또는 약 100 내지 약 700, 또는 약 100 내지 약 600, 또는 약 100 내지 약 575, 또는 약 100 내지 약 500, 또는 약 100 내지 약 450, 또는 약 100 내지 약 내지 약 350, 또는 약 100 내지 약 275, 또는 약 100 내지 약 230, 또는 약 150 내지 약 475, 또는 약 150 내지 약 340, 또는 약 113 내지 약 340, 또는 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 340 내지 약 795, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909, 또는 약 227 내지 약 1500, 또는 약 225 내지 약 2280, 또는 약 460 내지 약 2160, 또는 약 460 내지 약 2050, 또는 약 341 내지 약 1820, 또는 약 341 내지 약 1710, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 225 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1250, 또는 약 341 내지 약 1136, 또는 약 341 내지 약 1023, 또는 약 341 내지 약 910, 또는 약 341 내지 약 796, 또는 약 341 내지 약 682, 또는 약 341 내지 약 568, 또는 약 114 내지 약 1000, 또는 약 114 내지 약 950, 또는 약 114 내지 약 910, 또는 약 114 내지 약 800, 또는 약 114 내지 약 690, 또는 약 114 내지 약 575의 범위인, 방법.

[1411] 실시형태 348. 실시형태 346에 있어서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 2, 5, 10, 11, 22, 23, 113, 114, 227, 228, 340, 341, 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 1249, 1250, 1251, 1362, 1363, 1364, 1476, 1477, 1478, 1589, 1590, 1591, 1703, 1704, 1705, 1817, 1818, 1819, 1930, 1931, 1932, 2044, 2045, 2046, 2158, 2159, 2160, 2271, 2272, 2273, 2839, 2840, 2841, 2953, 2954, 2955, 3408, 3409, 3410, 3976, 3977, 3978, 4544, 4545, 및 4546으로부터 선택되는 정수인, 방법.

- [1412] 실시형태 349. 실시형태 346 내지 348 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K34, F41, F43, K42, E61, P64, R37, T40, E67, Y44, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.
- [1413] 실시형태 350. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K34에 있는, 방법.
- [1414] 실시형태 351. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 F41에 있는, 방법.
- [1415] 실시형태 352. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 F43에 있는, 방법.
- [1416] 실시형태 353. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 K42에 있는, 방법.
- [1417] 실시형태 354. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 E61에 있는, 방법.
- [1418] 실시형태 355. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 P64에 있는, 방법.
- [1419] 실시형태 356. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 R37에 있는, 방법.
- [1420] 실시형태 357. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 T40에 있는, 방법.
- [1421] 실시형태 358. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 E67에 있는, 방법.
- [1422] 실시형태 359. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 Y44에 있는, 방법.
- [1423] 실시형태 360. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 V68에 있는, 방법.
- [1424] 실시형태 361. 실시형태 349에 있어서, IL-2 콘주게이트의 아미노산 서열에서의 화학식 XII, 화학식 XIII의 구조, 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물의 위치는 L71에 있는, 방법.
- [1425] 실시형태 362. 실시형태 346 내지 361 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 XIII의 구조의 양에 대한 화학식 XII의 구조의 양의 비가 1:1 초과인, 방법.
- [1426] 실시형태 363. 실시형태 346 내지 361 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 중의 총 양을 포함하는, 화학식 XIII의 구조의 양에 대한 화학식 XII의 구조의 양의 비가 1:1 미만인, 방법.
- [1427] 실시형태 364. 실시형태 346에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1428] 실시형태 365. 실시형태 346에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 910, 1021, 1022, 1023, 1135, 1136, 1137, 및 1249로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1429] 실시형태 366. 실시형태 346에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61, 및 P64로부터 선택되고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1430] 실시형태 367. 실시형태 365에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 F41, F43, K42, E61, 및 P64로부터 선택되고, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.

- [1431] 실시형태 368. 실시형태 346에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 E61이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1432] 실시형태 369. 실시형태 346에 있어서, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1433] 실시형태 370. 실시형태 346에 있어서, n은 약 500 내지 약 1000인, 방법.
- [1434] 실시형태 371. 실시형태 370에 있어서, n은 약 550 내지 약 800인, 방법.
- [1435] 실시형태 372. 실시형태 369에 있어서, n은 681인, 방법.
- [1436] 실시형태 373. 실시형태 346에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 450 내지 약 800, 또는 약 454 내지 약 796, 또는 약 454 내지 약 682, 또는 약 568 내지 약 909의 정수인, 방법.
- [1437] 실시형태 374. 실시형태 346에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, 화학식 XII 및 화학식 XIII의 화합물에서의 n은 454, 455, 568, 569, 680, 681, 682, 794, 795, 796, 908, 909, 및 910으로부터 선택되는 정수인, 방법.
- [1438] 실시형태 375. 실시형태 346에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 약 500 내지 약 1000의 정수인, 방법.
- [1439] 실시형태 376. 실시형태 375에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 550 내지 약 800의 정수인, 방법.
- [1440] 실시형태 377. 실시형태 374에 있어서, 대체되는 SEQ ID NO: 3에서의 아미노산 잔기는 P64이고, n은 681인, 방법.
- [1441] 실시형태 378. 실시형태 346에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 1,000 달톤 내지 약 200,000 달톤, 또는 약 2,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 3,000 달톤 내지 약 125,000 달톤, 또는 약 4,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 100,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 90,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 80,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 70,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 65,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 60,000 달톤, 또는 약 5,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 6,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 7,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 8,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 9,500 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 10,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 15,000 달톤 내지 약 30,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 50,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 45,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 35,000 달톤, 또는 약 20,000 달톤 내지 약 30,000 달톤의 범위가 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1442] 실시형태 379. 실시형태 346에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 약 50,000 달톤, 약 60,000 달톤, 약 70,000 달톤, 약 80,000 달톤, 약 90,000 달톤, 약 100,000 달톤, 약 125,000 달톤, 약 150,000 달톤, 약 175,000 달톤 또는 약 200,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1443] 실시형태 380. 실시형태 346에 있어서, n은 PEG 모이어티의 분자량이 약 5,000 달톤, 약 7,500 달톤, 약 10,000 달톤, 약 15,000 달톤, 약 20,000 달톤, 약 25,000 달톤, 약 30,000 달톤, 약 35,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 45,000 달톤, 또는 약 50,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1444] 실시형태 381. 실시형태 1 내지 380 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 추가 제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제

제, PD-L2 억제제, CTLA-4 억제제, OX40 작용제 및 4-1BB 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 면역 관문 억제제인, 방법.

- [1445] 실시형태 382. 실시형태 381에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1446] 실시형태 383. 실시형태 382에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 팜브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 램브롤리주맙, AMP-224, 신틸리맙, 토리팔리맙, 캄렐리주맙, 티슬렐리주맙, 도스타리맙(GSK), PDR001(Novartis), MGA012(MacroGenics/Incyte), GLS-010(Arcus/Wuxi), AGEN2024(Agenus), 세트렐리맙(Janssen), ABBV-181(Abbvie), AMG-404(Amgen), BI-754091(Boehringer Ingelheim), CC-90006(Celgene), JTX-4014(Jounce), PF-06801591(Pfizer), 및 케놀립주맙(Apollomics/Genor BioPharma)으로부터 선택되는, 방법.
- [1447] 실시형태 384. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 팜브롤리주맙인, 방법.
- [1448] 실시형태 385. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 니볼루맙인, 방법.
- [1449] 실시형태 386. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 세미플리맙인, 방법.
- [1450] 실시형태 387. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 램브롤리주맙인, 방법.
- [1451] 실시형태 388. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 AMP-224인, 방법.
- [1452] 실시형태 389. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 신틸리맙인, 방법.
- [1453] 실시형태 390. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 토리팔리맙인, 방법.
- [1454] 실시형태 391. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 캄렐리주맙인, 방법.
- [1455] 실시형태 392. 실시형태 383에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 티슬렐리주맙인, 방법.
- [1456] 실시형태 393. 실시형태 381에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-L1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1457] 실시형태 394. 실시형태 393에 있어서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 더발루맙, ASC22(Alphamab/Ascletis), CX-072(Cytomx), CS1001(Cstone), 코시벨리맙(Checkpoint Therapeutics), INCB86550(Incyte), 및 TG-1501(TG Therapeutics)로부터 선택되는, 방법.
- [1458] 실시형태 395. 실시형태 394에 있어서, 하나 이상의 PD-L1 억제제가 아테졸리주맙인, 방법.
- [1459] 실시형태 396. 실시형태 394에 있어서, 하나 이상의 PD-L1 억제제가 아벨루맙인, 방법.
- [1460] 실시형태 397. 실시형태 394에 있어서, 하나 이상의 PD-L1 억제제가 더발루맙인, 방법.
- [1461] 실시형태 398. 실시형태 381에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1462] 실시형태 399. 실시형태 398에 있어서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 트레멜리무맙, 이필리무맙, 및 AGEN-1884(Agenus)로부터 선택되는, 방법.
- [1463] 실시형태 400. 실시형태 399에 있어서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제가 트레멜리무맙인, 방법.
- [1464] 실시형태 401. 실시형태 399에 있어서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제가 이필리무맙인, 방법.
- [1465] 실시형태 402. 실시형태 1 내지 401 중 어느 하나에 있어서, 대상체에서의 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 고전적 호지킨 림프종(cHL), 원발성 종격동 거대 B 세포 림프종(PMBCL), 요로상피 암종, 현미부수체 불안정 암, 현미부수체 안정 암, 위암, 자궁경부암, 간세포 암종(HCC), 메르켈 세포 암종(MCC), 흑색종, 소세포폐암(SCLC), 식도암, 교모세포종, 중피종, 유방암, 삼중 음성 유방암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암, 전이성 거세 저항성 전립선암, 또는 DNA 손상 반응(DDR) 결함이 있는 전이성 거세 저항성 전립선암, 방광암, 난소암, 중등도 내지 저 돌연변이 부담 종양, 피부 편평 세포 암종(CSCC), 편평 세포 피부암(SCSC), 저 발현 내지 비-발현 PD-L1 종양, 해부학적 원발 기원 부위를 넘어 간 및 CNS에 전신적으로 파종된 종양, 및 미만성 거대 B 세포 림프종으로부터 선택되는, 방법.
- [1466] 실시형태 403. 실시형태 402에 있어서, 대상체에서의 암은 신장 세포 암종(RCC), 비소세포 폐암(NSCLC), 요로상피 암종 및 흑색종으로부터 선택되는, 방법.
- [1467] 실시형태 404. 실시형태 1 내지 403 중 어느 하나에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트가 이를 필요로 하는 대상체에게 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회 또는 8주에 1회

투여되는, 방법.

- [1468] 실시형태 405. 실시형태 404에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 이를 필요로 하는 대상체에게 1주에 1회, 2주에 1회, 또는 3주에 1회 투여되는, 방법.
- [1469] 실시형태 406. 실시형태 405에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 이를 필요로 하는 대상체에게 2주에 1회 투여되는, 방법.
- [1470] 실시형태 407. 실시형태 405에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 이를 필요로 하는 대상체에게 3주에 1회 투여되는, 방법.
- [1471] 실시형태 408. 실시형태 1 내지 407 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1472] 실시형태 409. 실시형태 408에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2, 등급 3 또는 등급 4 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1473] 실시형태 410. 실시형태 409에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1474] 실시형태 411. 실시형태 409에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 3 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1475] 실시형태 412. 실시형태 409에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 4 혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1476] 실시형태 413. 실시형태 1 내지 412 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 혈관 긴장도의 손실을 야기하지 않는, 방법.
- [1477] 실시형태 414. 실시형태 1 내지 413 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 혈관의 공간으로의 혈장 단백질 및 유체의 유출을 야기하지 않는, 방법.
- [1478] 실시형태 415. 실시형태 1 내지 414 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 저혈압 및 감소된 기관 관류를 야기하지 않는, 방법.
- [1479] 실시형태 416. 실시형태 1 내지 415 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 손상된 호중구 기능을 야기하지 않는, 방법.
- [1480] 실시형태 417. 실시형태 1 내지 415 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 감소된 주화성을 야기하지 않는, 방법.
- [1481] 실시형태 418. 실시형태 1 내지 417 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 파종성 감염의 증가된 위험과 관련이 없는, 방법.
- [1482] 실시형태 419. 실시형태 418에 있어서, 상기 파종성 감염은 패혈증 또는 세균성 심내막염인, 방법.
- [1483] 실시형태 420. 실시형태 419에 있어서, 상기 파종성 감염은 패혈증인, 방법.
- [1484] 실시형태 421. 실시형태 419에 있어서, 상기 파종성 감염은 세균성 심내막염인, 방법.
- [1485] 실시형태 422. 실시형태 1 내지 421 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 IL-2 콘주게이트의 투여 전에 임의의 기존 세균 감염에 대하여 치료를 받는, 방법.
- [1486] 실시형태 423. 실시형태 422에 있어서, 대상체는 IL-2 콘주게이트의 투여 전에 옥사실린, 나프실린, 시프로플록사신 및 반코마이신으로부터 선택되는 항균제로 치료를 받는, 방법.
- [1487] 실시형태 424. 실시형태 1 내지 423 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 자가면역 질환 또는 염증성 장애의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는, 방법.
- [1488] 실시형태 425. 실시형태 424에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 자가면역 질환의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는, 방법.
- [1489] 실시형태 426. 실시형태 424에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 염증성

장애의 기존 또는 초기 증상을 악화시키지 않는, 방법.

- [1490] 실시형태 427. 실시형태 424에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 크론병, 경피증, 갑상선염, 염증성 관절염, 진성 당뇨병, 안구-구근 중증 근무력증, 반월상 IgA 사구체신염, 담낭염, 뇌혈관염, 스티븐스-존슨 증후군 및 수포성 유천포창으로부터 선택되는, 방법.
- [1491] 실시형태 428. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 크론병인, 방법.
- [1492] 실시형태 429. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 경피증인, 방법.
- [1493] 실시형태 430. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 갑상선염인, 방법.
- [1494] 실시형태 431. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 염증성 관절염인, 방법.
- [1495] 실시형태 432. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 진성 당뇨병인, 방법.
- [1496] 실시형태 433. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 안구-구근 중증 근무력증인, 방법.
- [1497] 실시형태 434. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 반월상 IgA 사구체신염인, 방법.
- [1498] 실시형태 435. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 담낭염인, 방법.
- [1499] 실시형태 436. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 뇌혈관염인, 방법.
- [1500] 실시형태 437. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 스티븐스-존슨 증후군인, 방법.
- [1501] 실시형태 438. 실시형태 427에 있어서, 대상체에서의 자가면역 질환 또는 염증성 장애는 수포성 유천포창인, 방법.
- [1502] 실시형태 439. 실시형태 1 내지 438 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 정신 상태의 변화, 언어 장애, 피질맹, 사지 또는 보행 실조증, 환각, 동요, 둔감 또는 혼수 상태를 야기하지 않는, 방법.
- [1503] 실시형태 440. 실시형태 1 내지 439 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 발작을 야기하지 않는, 방법.
- [1504] 실시형태 441. 실시형태 1 내지 440 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 공지된 발작 장애를 갖는 대상체에서 금기 사항이 아닌, 방법.
- [1505] 실시형태 442. 실시형태 1 내지 441 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1506] 실시형태 443. 실시형태 442에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2, 등급 3 또는 등급 4 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1507] 실시형태 444. 실시형태 443에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 2 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1508] 실시형태 445. 실시형태 443에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 3 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1509] 실시형태 446. 실시형태 443에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에서 등급 4 모세혈관 누출 증후군을 야기하지 않는, 방법.
- [1510] 실시형태 447. 실시형태 1 내지 446 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 평균 동맥 혈압의 저하를 야기하지 않는, 방법.
- [1511] 실시형태 448. 실시형태 1 내지 447 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 저혈압을 야기하지 않는, 방법.

- [1512] 실시형태 449. 실시형태 448에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 IL-2 콘주게이트를 대상체에게 투여한 후 대상체가 90 mm Hg 미만의 수축기 혈압 또는 기준 수축기 혈압으로부터의 20 mm Hg 저하를 경험하는 것을 야기하지 않는, 방법.
- [1513] 실시형태 450. 실시형태 1 내지 449 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 부종을 야기하지 않는, 방법.
- [1514] 실시형태 451. 실시형태 1 내지 450 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 신장 또는 간 기능의 손상을 야기하지 않는, 방법.
- [1515] 실시형태 452. 실시형태 1 내지 451 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 호산구 증가증을 야기하지 않는, 방법.
- [1516] 실시형태 453. 실시형태 452에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 μL 당 500개를 초과하도록 하지 않는, 방법.
- [1517] 실시형태 454. 실시형태 452에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 μL 당 500개 내지 μL 당 1500개를 초과하도록 하지 않는, 방법.
- [1518] 실시형태 455. 실시형태 452에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 μL 당 1500개 내지 μL 당 5000개를 초과하도록 하지 않는, 방법.
- [1519] 실시형태 456. 실시형태 452에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체의 말초 혈액 중 호산구 카운트가 μL 당 5000개를 초과하도록 하지 않는, 방법.
- [1520] 실시형태 457. 실시형태 1 내지 456 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 기존의 항정신성 약물 요법에 대한 대상체에서의 금기 사항이 아닌, 방법.
- [1521] 실시형태 458. 실시형태 1 내지 457 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 기존의 신독성, 골수 독성, 심장 독성 또는 간독성 약물 요법에 대한 대상체에서의 금기 사항이 아닌, 방법.
- [1522] 실시형태 459. 실시형태 458에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 기존의 아미노글리코시드, 세포독성 화학요법, 독소루비신, 메토틱세이트 또는 아스파라기나아제 요법에 대한 대상체에서의 금기 사항이 아닌, 방법.
- [1523] 실시형태 460. 실시형태 1 내지 459 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 항신생물제를 함유하는 병용 요법을 받는 대상체에서 금기 사항이 아닌, 방법.
- [1524] 실시형태 461. 실시형태 460에 있어서, 항신생물제는 다카르바진, 시스-백금, 타목시펜 및 인터페론-알파로부터 선택되는, 방법.
- [1525] 실시형태 462. 실시형태 1 내지 461 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 대상체에서 하나 이상의 등급 4 이상 사례를 야기하지 않는, 방법.
- [1526] 실시형태 463. 실시형태 462에 있어서, 하나 이상의 등급 4 이상 사례는 저체온증; 쇼크; 서맥; 심실 주기외수축; 심근 허혈; 실신; 출혈; 심방 부정맥; 정맥염; 2도 AV 차단; 심내막염; 심낭 삼출; 말초 괴저; 혈전증; 관상 동맥 장애; 구내염; 오심 및 구토; 간 기능 검사 비정상; 위장관 출혈; 토혈; 혈성 설사; 위장 장애; 장 천공; 체장염; 빈혈; 백혈구 감소증; 백혈구 증가증; 저칼슘혈증; 알칼리 포스파타아제 증가; 혈액 요소 질소(BUN) 증가; 고요산혈증; 비-단백질 질소(NPN) 증가; 호흡성 산증; 졸립; 동요; 신경병증; 편집병양 반응; 경련; 대발작 경련; 심방; 천식, 폐 부종; 과호흡; 저산소증; 객혈; 저호흡; 기흉; 산동; 동공 장애; 신장 기능 이상; 신부전; 및 급성 세뇨관 괴사로부터 선택되는, 방법.
- [1527] 실시형태 464. 실시형태 1 내지 463 중 어느 하나에 있어서, 대상체 군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 1% 초과 대상체에서 하나 이상의 등급 4 이상 사례를 야기하지 않는, 방법.
- [1528] 실시형태 465. 실시형태 464에 있어서, 하나 이상의 등급 4 이상 사례는 저체온증; 쇼크; 서맥; 심실 주기외수축; 심근 허혈; 실신; 출혈; 심방 부정맥; 정맥염; 2도 AV 차단; 심내막염; 심낭 삼출; 말초 괴저; 혈전증; 관

상 동맥 장애; 구내염; 오심 및 구토; 간 기능 검사 비정상; 위장관 출혈; 토혈; 혈성 설사; 위장 장애; 장 천공; 채장염; 빈혈; 백혈구 감소증; 백혈구 증가증; 저칼슘혈증; 알칼리 포스파타아제 증가; 혈액 요소 질소(BUN) 증가; 고요산혈증; 비-단백질 질소(NPN) 증가; 호흡성 산증; 졸립; 동요; 신경병증; 편집병양 반응; 경련; 대발작 경련; 섬망; 친식, 폐 부종; 과호흡; 저산소증; 객혈; 저호흡; 기흉; 산동; 동공 장애; 신장 기능 이상; 신부전; 및 급성 세뇨관 괴사로부터 선택되는, 방법.

- [1529] 실시형태 466. 실시형태 1 내지 실시형태 465 중 어느 하나에 있어서, 대상체 군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 1% 초과 대상체에서 하나 이상의 이상 사례를 야기하지 않으며, 여기서, 상기 하나 이상의 이상 사례는 십이지장 궤양; 장 괴사; 심근염; 심실상빈맥; 시신경염에 수반되는 영구적 또는 일시적 실명; 일과성 허혈 발작; 수막염; 뇌 부종; 심낭염; 알러지성 간질성 신염; 및 기관식도 누공으로부터 선택되는, 방법.
- [1530] 실시형태 467. 실시형태 1 내지 실시형태 466 중 어느 하나에 있어서, 대상체 군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 대상체에게 IL-2 콘주게이트를 투여한 후 1% 초과 대상체에서 하나 이상의 이상 사례를 야기하지 않으며, 여기서, 상기 하나 이상의 이상 사례는 악성 고열증; 심정지; 심근 경색증; 폐색전; 뇌졸중; 장 천공; 간부전 또는 신부전; 자살로 이어지는 중증 우울증; 폐 부종; 호흡 정지; 호흡 부전으로부터 선택되는, 방법.
- [1531] 실시형태 468. 실시형태 1 내지 467 중 어느 하나에 있어서, 대상체군에 대한 IL-2 콘주게이트의 투여는 대상체에서 말초 CD4⁺ 조절 T 세포의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 말초 CD8⁺ T 및 NK 세포의 수를 증가시키는, 방법.
- [1532] 실시형태 469. 실시형태 1 내지 468 중 어느 하나에 있어서, 대상체군에 대한 IL-2 콘주게이트의 투여는 대상체에서 말초 호산구의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 말초 CD8⁺ T 및 NK 세포의 수를 증가시키는, 방법.
- [1533] 실시형태 470. 실시형태 1 내지 469 중 어느 하나에 있어서, 대상체군에 대한 IL-2 콘주게이트의 투여는 대상체에서 종양내 CD4⁺ 조절 T 세포의 수를 증가시키지 않으면서 대상체에서 종양내 CD8⁺ T 및 NK 세포의 수를 증가시키는, 방법.
- [1534] 실시형태 471. 실시형태 1 내지 470 중 어느 하나에 있어서, 대상체군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 집중 치료 시설 또는 심폐 또는 집중 치료 의학 분야의 숙련된 전문가의 가용성을 필요로 하지 않는, 방법.
- [1535] 실시형태 472. 실시형태 471에 있어서, 대상체군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 집중 치료 시설의 가용성을 필요로 하지 않는, 방법.
- [1536] 실시형태 473. 실시형태 471에 있어서, 대상체군에 대한 IL-2 콘주게이트의 유효량의 투여는 심폐 또는 집중 치료 의학 분야의 숙련된 전문가의 가용성을 필요로 하지 않는, 방법.
- [1537] 실시형태 474. 실시형태 1 내지 473 중 어느 하나에 있어서, 상기 암이 고형 종양의 형태인, 방법.
- [1538] 실시형태 475. 실시형태 1 내지 473 중 어느 하나에 있어서, 상기 암이 액체 종양의 형태인, 방법.
- [1539] 실시형태 476. 실시형태 381 내지 475 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제를 대상체에게 투여하기 전에 IL-2 콘주게이트가 대상체에게 투여되는, 방법.
- [1540] 실시형태 477. 실시형태 381 내지 475 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트를 대상체에게 투여하기 전에 하나 이상의 면역 관문 억제제가 대상체에게 투여되는, 방법.
- [1541] 실시형태 478. 실시형태 381 내지 475 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 면역 관문 억제제가 대상체에게 동시에 투여되는, 방법.
- [1542] 실시형태 479. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 체제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 PEG 기에 공유결합된 시스테인으로 대체된 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, 또는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.
- [1543] 실시형태 480. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 5 kDa, 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 및 60 kDa으로부터 선택된 분자량을 갖는, 방법.
- [1544] 실시형태 481. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 5 kDa의 분자량을 갖는, 방법.

- [1545] 실시형태 482. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 10 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1546] 실시형태 483. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 15 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1547] 실시형태 484. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 20 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1548] 실시형태 485. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 25 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1549] 실시형태 486. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 30 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1550] 실시형태 487. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 35 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1551] 실시형태 488. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 40 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1552] 실시형태 489. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 45 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1553] 실시형태 490. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 50 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1554] 실시형태 491. 실시형태 479에 있어서, PEG 기는 60 kDa의 분자량을 갖는, 방법.
- [1555] 실시형태 492. 실시형태 479 내지 491 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 K34, T36, R37, T40, F41, K42, F43, Y44, E60, E61, E67, K63, P64, V68, L71, 및 Y106으로부터 선택되는, 방법.
- [1556] 실시형태 493. 실시형태 479 내지 491 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 K34, T40, F41, K42, Y44, E60, E61, E67, K63, P64, V68, 및 L71로부터 선택되는, 방법.
- [1557] 실시형태 494. 실시형태 479 내지 491 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하며, 시스테인으로 대체된 IL-2 콘주게이트에서의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 K35, T37, R38, T41, F42, K43, F44, Y45, E61, E62, E68, K64, P65, V69, L72, 및 Y107로부터 선택되는, 방법.
- [1558] 실시형태 495. 실시형태 479 내지 494 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 추가 제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, PD-L2 억제제, CTLA-4 억제제, OX40 작용제 및 4-1BB 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 면역 관문 억제제인, 방법.
- [1559] 실시형태 496. 실시형태 495에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1560] 실시형태 497. 실시형태 496에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펌프롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 램브롤리주맙, AMP-224, 신틸리맙, 토리팔리맙, 캄델리주맙, 티슬렐리주맙, 도스타리맙(GSK), PDR001(Novartis), MGA012(MacroGenics/Incyte), GLS-010(Arcus/Wuxi), AGEN2024(Agenus), 세트렐리맙(Janssen), ABBV-181(Abbvie), AMG-404(Amgen), BI-754091(Boehringer Ingelheim), CC-90006(Celgene), JTX-4014(Jounce), PF-06801591(Pfizer), 및 게놀립주맙(Apollomics/Genor BioPharma)으로부터 선택되는, 방법.
- [1561] 실시형태 498. 실시형태 495에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-L1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1562] 실시형태 499. 실시형태 498에 있어서, 하나 이상의 PD-L1 억제제는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 더발루맙, ASC22(Alphamab/Ascletis), CX-072(Cytomx), CS1001(Cstone), 코시벨리맙(Checkpoint Therapeutics), INCB86550(Incyte), 및 TG-1501(TG Therapeutics)로부터 선택되는, 방법.
- [1563] 실시형태 500. 실시형태 495에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1564] 실시형태 501. 실시형태 500에 있어서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 트레렐리무맙, 이필리무맙, 및 AGEN-1884(Agenus)로부터 선택되는, 방법.
- [1565] 실시형태 502. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 적어도 하나의 비-리신 잔기가 링커 및 수용성 중합체를 포함하는 리신으로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.
- [1566] 실시형태 503. 실시형태 502에 있어서, 상기 수용성 중합체가 PEG 기인, 방법.
- [1567] 실시형태 504. 실시형태 502 또는 503에 있어서, 하나 이상의 추가 제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, PD-L2

억제제, CTLA-4 억제제, OX40 작용제 및 4-1BB 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 면역 관문 억제제인, 방법.

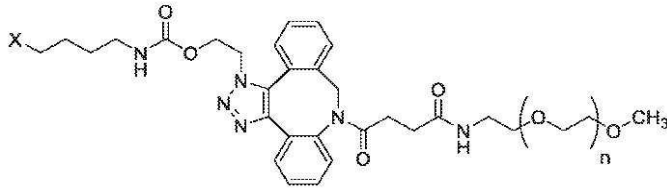
- [1568] 실시형태 505. 실시형태 504에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1569] 실시형태 506. 실시형태 505에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 팜브롤리주맙, 니볼루맙, 세미폴리맙, 람브롤리주맙, AMP-224, 신틸리맙, 토리팔리맙, 캄렐리주맙, 티슬렐리주맙, 도스타리맙(GSK), PDR001(Novartis), MGA012(MacroGenics/Incyte), GLS-010(Arcus/Wuxi), AGEN2024(Agenus), 세트렐리맙(Janssen), ABBV-181(Abbvie), AMG-404(Amgen), BI-754091(Boehringer Ingelheim), CC-90006(Celgene), JTX-4014(Jounce), PF-06801591(Pfizer), 및 케놀립주맙(Apollomics/Genor BioPharma)으로부터 선택되는, 방법.
- [1570] 실시형태 507. 실시형태 506에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-L1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1571] 실시형태 508. 실시형태 507에 있어서, PD-L1 억제제는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 더발루맙, ASC22(Alphamab/Ascletis), CX-072(Cytomx), CS1001(Cstone), 코시벨리맙(Checkpoint Therapeutics), INCB86550(Incyte), 및 TG-1501(TG Therapeutics)로부터 선택되는, 방법.
- [1572] 실시형태 509. 실시형태 508에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1573] 실시형태 510. 실시형태 509에 있어서, 하나 이상의 CTLA-4 억제제는 트레멜리무맙, 이필리무맙, 및 AGEN-1884(Agenus)로부터 선택되는, 방법.
- [1574] 실시형태 511. 실시형태 1 내지 510 중 어느 하나에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 비-방출성 연결을 통해 공유결합된 PEG 기를 포함하는, 방법.
- [1575] 실시형태 512. 실시형태 11 내지 511 중 어느 하나에 있어서, 상기 IL-2 콘주게이트는 비-방출성, 공유결합된 PEG 기를 포함하는, 방법.
- [1576] 실시형태 513. 실시형태 1 내지 512 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 추가 제제를 투여한 후, 대상체는 고형 종양의 면역-관련 반응 평가 기준(iRECIST)에 의해 측정된 바와 같은 반응을 경험하는, 방법.
- [1577] 실시형태 514. 실시형태 513에 있어서, 상기 반응은 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환인, 방법.
- [1578] 실시형태 515. 실시형태 1 내지 514 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트는 정맥내, 피하, 근육내, 뇌내, 비강내, 동맥내, 관절내, 피내, 유리체내, 골내 주입, 복강내, 또는 척추강내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.
- [1579] 실시형태 516. 실시형태 515에 있어서, IL-2 콘주게이트는 정맥내, 피하 또는 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.
- [1580] 실시형태 517. 실시형태 515에 있어서, IL-2 콘주게이트가 정맥내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.
- [1581] 실시형태 518. 실시형태 515에 있어서, IL-2 콘주게이트가 피하 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.
- [1582] 실시형태 519. 실시형태 515에 있어서, IL-2 콘주게이트가 근육내 투여에 의해 대상체에게 투여되는, 방법.
- [1583] 실시형태 520. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 SEQ ID NO: 3을 갖는 IL-2 콘주게이트이며, IL-2 콘주게이트 내의 비-리신 아미노산은 리신 잔기로 대체되며, 상기 리신 잔기는 하나 이상의 수용성 중합체 및 공유 링커를 포함하는, 방법.
- [1584] 실시형태 521. 실시형태 520에 있어서, 리신 잔기는 SEQ ID NO: 3의 영역 K34-Y106에 위치되어 있는, 방법.
- [1585] 실시형태 522. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 K34에 위치되어 있는, 방법.
- [1586] 실시형태 523. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 F41에 위치되어 있는, 방법.
- [1587] 실시형태 524. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 F43에 위치되어 있는, 방법.
- [1588] 실시형태 525. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 K42에 위치되어 있는, 방법.
- [1589] 실시형태 526. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 E61에 위치되어 있는, 방법.

- [1590] 실시형태 527. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 P64에 위치되어 있는, 방법.
- [1591] 실시형태 528. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 R37에 위치되어 있는, 방법.
- [1592] 실시형태 529. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 T40에 위치되어 있는, 방법.
- [1593] 실시형태 530. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 E67에 위치되어 있는, 방법.
- [1594] 실시형태 531. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 Y44에 위치되어 있는, 방법.
- [1595] 실시형태 532. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 V68에 위치되어 있는, 방법.
- [1596] 실시형태 533. 실시형태 521에 있어서, 리신 잔기는 L71에 위치되어 있는, 방법.
- [1597] 실시형태 534. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 여기서 IL-2 콘주게이트는 인터류킨-2(IL-2) 변이체이며, IL-2 변이체의 아미노산 서열 내의 비-리신 아미노산은 (a) 리신; (b) 공유 링커; 및 (3) 및 하나 이상의 수용성 중합체를 포함하는 아미노산에 의해 대체되는, 방법.
- [1598] 실시형태 535. 실시형태 520 내지 534 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 수용성 중합체가 PEG 기를 포함하는, 방법.
- [1599] 실시형태 536. 실시형태 535에 있어서, PEG 기가 분지형 또는 선형 PEG 기인, 방법.
- [1600] 실시형태 537. 실시형태 520 내지 536 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 추가 제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, PD-L2 억제제, CTLA-4 억제제, OX40 작용제 및 4-1BB 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 면역 관문 억제제인, 방법.
- [1601] 실시형태 538. 실시형태 537에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1602] 실시형태 539. 실시형태 538에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제는 펌브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 람브롤리주맙, AMP-224, 신틸리맙, 토리팔리맙, 캄렐리주맙, 티슬렐리주맙, 도스타리맙(GSK), PDR001(Novartis), MGA012(Macrogenics/Incyte), GLS-010(Arcus/Wuxi), AGEN2024(Agenus), 세트렐리맙(Janssen), ABBV-181(Abbvie), AMG-404(Amgen), BI-754091(Boehringer Ingelheim), CC-90006(Celgene), JTX-4014(Jounce), PF-06801591(Pfizer), 및 게놀림주맙(Apollomics/Genor BioPharma)으로부터 선택되는, 방법.
- [1603] 실시형태 540. 실시형태 539에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-L1 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1604] 실시형태 541. 실시형태 540에 있어서, PD-L1 억제제는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 더발루맙, ASC22(Alphamab/Ascletis), CX-072(Cytomx), CS1001(Cstone), 코시렐리맙(Checkpoint Therapeutics), INCB86550(Incyte), 및 TG-1501(TG Therapeutics)로부터 선택되는, 방법.
- [1605] 실시형태 542. 실시형태 541에 있어서, 하나 이상의 면역 관문 억제제는 CTLA-4 억제제로부터 선택되는, 방법.
- [1606] 실시형태 543. 실시형태 542에 있어서, CTLA-4 억제제는 트레렐리무맙, 이필리무맙, 및 AGEN-1884(Agenus)로부터 선택되는, 방법.
- [1607] 실시형태 544. 실시형태 381 내지 543 중 어느 하나에 있어서, 상기 방법은 라파마이신의 포유동물 표적(mTOR) 억제제 또는 하나 이상의 혈관 내피 세포 성장 인자(VEGF) 경로의 치료학적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [1608] 실시형태 545. 실시형태 544에 있어서, 대상체는 하나 이상의 VEGF 경로 억제제를 투여받는, 방법.
- [1609] 실시형태 546. 실시형태 545에 있어서, 하나 이상의 VEGF 경로 억제제는 혈관 내피 세포 성장 인자 수용체(VEGFR) 티로신 키나제 억제제(TKI) 및 항-VEGF 단클론성 항체로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.
- [1610] 실시형태 547. 실시형태 546에 있어서, 하나 이상의 VEGF 경로 억제제는 하나 이상의 VEGFR TKI로부터 선택되는, 방법.
- [1611] 실시형태 548. 실시형태 547에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI는 카보잔티닙, 악시티닙, 파조파닙, 수니티닙 또는 소라페닙으로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.
- [1612] 실시형태 549. 실시형태 548에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI가 카보잔티닙인, 방법.

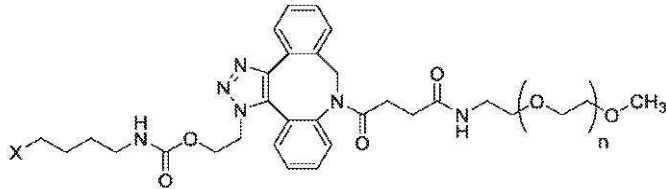
- [1613] 실시형태 550. 실시형태 548에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI가 악시티닙인, 방법.
- [1614] 실시형태 551. 실시형태 548에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI가 파조파닙인, 방법.
- [1615] 실시형태 552. 실시형태 548에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI가 수니티닙인, 방법.
- [1616] 실시형태 553. 실시형태 548에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI가 소라페닙인, 방법.
- [1617] 실시형태 554. 실시형태 546에 있어서, 하나 이상의 VEGF 경로 억제제는 하나 이상의 항-VEGF 단클론성 항체로부터 선택되는, 방법.
- [1618] 실시형태 555. 실시형태 554에 있어서, 하나 이상의 항-VEGF 단클론성 항체가 베마시주맙인, 방법.
- [1619] 실시형태 556. 실시형태 544에 있어서, 하나 이상의 mTOR 억제제는 라파마이신, 에베롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스 및 데포롤리무스로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.
- [1620] 실시형태 557. 실시형태 556에 있어서, 하나 이상의 mTOR 억제제가 라파마이신인, 방법.
- [1621] 실시형태 558. 실시형태 556에 있어서, 하나 이상의 mTOR 억제제가 에베롤리무스인, 방법.
- [1622] 실시형태 559. 실시형태 556에 있어서, 하나 이상의 mTOR 억제제가 템시롤리무스인, 방법.
- [1623] 실시형태 560. 실시형태 556에 있어서, 하나 이상의 mTOR 억제제가 리다포롤리무스인, 방법.
- [1624] 실시형태 561. 실시형태 556에 있어서, 하나 이상의 mTOR 억제제가 데포롤리무스인, 방법.
- [1625] 실시형태 562. 실시형태 544 내지 561 중 어느 하나에 있어서, 대상체의 암이 신세포 암종(RCC)인, 방법.
- [1626] 실시형태 563. 실시형태 562에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI가 악시티닙 또는 카보잔티닙인, 방법.
- [1627] 실시형태 564. 실시형태 562에 있어서, 하나 이상의 VEGFR TKI가 카보잔티닙인, 방법.
- [1628] 실시형태 565. 실시형태 381 내지 543 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 추가 제제는 하나 이상의 화학요법제를 추가로 포함하는, 방법.
- [1629] 실시형태 566. 실시형태 565에 있어서, 하나 이상의 화학요법제는 하나 이상의 백금계 화학요법제를 포함하는, 방법.
- [1630] 실시형태 567. 실시형태 565에 있어서, 하나 이상의 화학요법제가 카보플라틴 및 페메트렉세드를 포함하는, 방법.
- [1631] 실시형태 568. 실시형태 565에 있어서, 하나 이상의 화학요법제가 카보플라틴 및 nab-파클리탁셀을 포함하는, 방법.
- [1632] 실시형태 569. 실시형태 565에 있어서, 하나 이상의 화학요법제가 카보플라틴 및 도세탁셀을 포함하는, 방법.
- [1633] 실시형태 570. 실시형태 565 내지 569 중 어느 하나에 있어서, 대상체의 암이 비-소세포 폐암(NSCLC)인, 방법.
- [1634] 실시형태 571. 실시형태 1 내지 570 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 추가 제제는 하나 이상의 화학요법제인, 방법.
- [1635] 실시형태 572. 실시형태 571에 있어서, 하나 이상의 화학요법제는 하나 이상의 백금계 화학요법제를 포함하는, 방법.
- [1636] 실시형태 573. 실시형태 1 내지 572 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 추가 제제를 투여하기 전에 인유두종바이러스(HPV)에 대해 양성 반응을 보인, 방법.
- [1637] 실시형태 574. 실시형태 572에 있어서, 대상체의 암은 두경부 편평 세포 암(HNSCC)인, 방법.
- [1638] 실시형태 575. 실시형태 1 내지 572 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 인유두종바이러스(HPV+)에 대해 양성 반응을 보인 후, IL-2 콘주게이트 및 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [1639] 실시형태 576. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 PD-1 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노

산 서열을 포함하며:

[화학식 VIII]



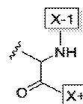
[화학식 IX]



식 중,

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

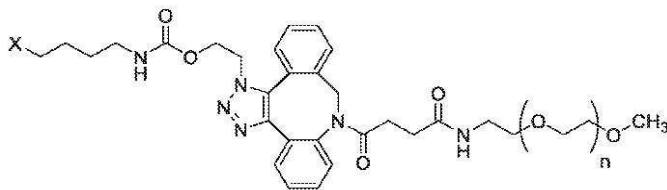
X는 하기 구조:



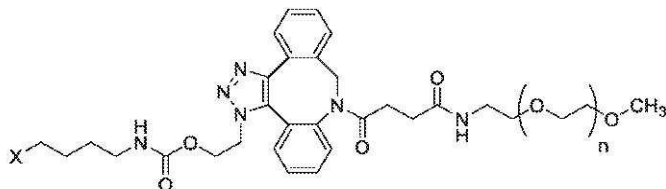
를 갖는, 방법.

실시형태 576.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 PD-1 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 화학식 VIII 또는 화학식 IX, 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[화학식 VIII]



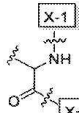
[화학식 IX]



식 중,

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

X는 하기 구조:



[1656] 를 가지며;

[1657] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1658] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[1659] 실시형태 577. 실시형태 576 또는 576.1에 있어서, IL-2 콘주게이트에서 E61에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

[1660] 실시형태 578. 실시형태 577에 있어서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

[1661] 실시형태 579. 실시형태 577 또는 578에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 팜브롤리주맙 또는 니볼루맙인, 방법.

[1662] 실시형태 580. 실시형태 579에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 팜브롤리주맙인, 방법.

[1663] 실시형태 581. 실시형태 579에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 니볼루맙인, 방법.

[1664] 실시형태 582. 실시형태 576 또는 576.1에 있어서, IL-2 콘주게이트에서 P64에서의 아미노산 잔기는 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

[1665] 실시형태 583. 실시형태 582에 있어서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

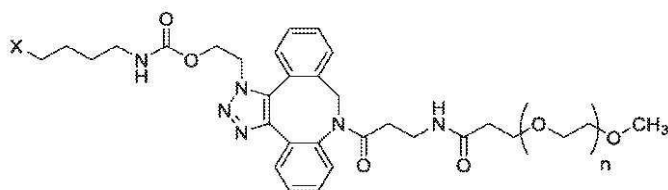
[1666] 실시형태 584. 실시형태 582 또는 583에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 팜브롤리주맙 또는 니볼루맙인, 방법.

[1667] 실시형태 585. 실시형태 584에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 팜브롤리주맙인, 방법.

[1668] 실시형태 586. 실시형태 584에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 니볼루맙인, 방법.

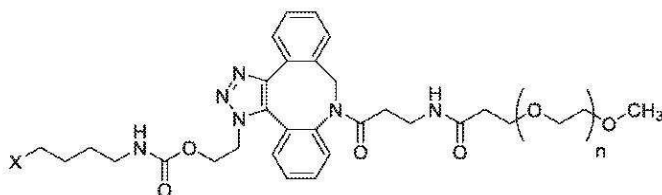
[1669] 실시형태 587. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 PD-1 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1670] [화학식 VI]



[1671]

[1672] [화학식 VII]

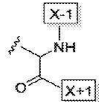


[1673]

[1674] 식 중,

[1675] n은 PEG 기의 분자량이 약 15,000 달톤 내지 약 60,000 달톤이 되도록 하는 정수이며;

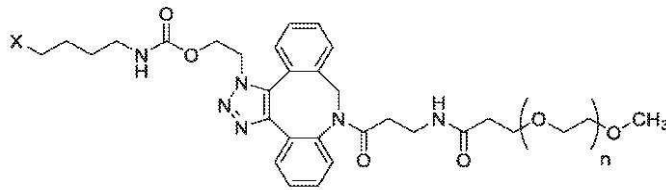
[1676] X는 하기 구조:



[1677] 를 갖는, 방법.

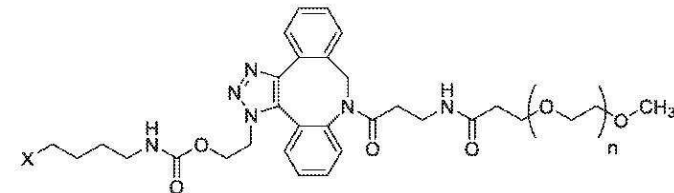
[1678] 실시형태 587.1. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 (a) IL-2 콘주게이트, 및 (b) 하나 이상의 PD-1 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 IL-2 콘주게이트는 IL-2 콘주게이트 내의 E61 또는 P64에서의 아미노산 잔기가 화학식 VI 또는 화학식 VII, 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로 대체된 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하며:

[1679] [화학식 VI]



[1680]

[1681] [화학식 VII]

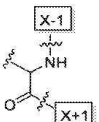


[1682]

[1683] 식 중,

[1684] n은 PEG 기의 분자량이 약 15,000 달톤 내지 약 60,000 달톤이 되도록 하는 정수이며;

[1685] X는 하기 구조:



[1686] 를 가지며;

[1687] X-1은 선행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내고; 그리고

[1688] X+1은 후행 아미노산 잔기에 대한 부착점을 나타내는, 방법.

[1689] 실시형태 588. 실시형태 587 또는 587.1에 있어서, IL-2 콘주게이트에서 E61에서의 아미노산 잔기는 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

[1690] 실시형태 589. 실시형태 588에 있어서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

[1691] 실시형태 590. 실시형태 588 또는 589에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 팜브롤리주맙 또는 니볼루맙인, 방법.

[1692] 실시형태 591. 실시형태 590에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 팜브롤리주맙인, 방법.

[1693] 실시형태 592. 실시형태 590에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 니볼루맙인, 방법.

[1694] 실시형태 593. 실시형태 587 또는 587.1에 있어서, IL-2 콘주게이트에서 P64에서의 아미노산 잔기는 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조 또는 화학식 VI과 화학식 VII의 혼합물로 대체되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 20,000 달톤 내지 약 40,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.

- [1695] 실시형태 594. 실시형태 593에 있어서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30,000 달톤이 되도록 하는 정수인, 방법.
- [1696] 실시형태 595. 실시형태 593 또는 594에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 펩트올리주맙 또는 니볼루맙인, 방법.
- [1697] 실시형태 596. 실시형태 595에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 펩트올리주맙인, 방법.
- [1698] 실시형태 597. 실시형태 595에 있어서, 하나 이상의 PD-1 억제제가 니볼루맙인, 방법.
- [1699] 실시형태 598. 실시형태 1 내지 597 중 어느 하나에 있어서, IL-2 콘주게이트가 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물인, 방법.
- [1700] 실시형태 599. 실시형태 1 내지 598 중 어느 하나의 방법에서 사용하기 위한 IL-2 콘주게이트.
- [1701] 실시형태 600. 실시형태 1 내지 598 중 어느 하나의 방법에 따른 암 치료용 약제의 제조를 위한 IL-2 콘주게이트의 용도.
- [1702] **실시예**
- [1703] 이들 실시예는 예시 목적으로만 제공되며, 본원에 제공된 청구범위의 범위를 제한하기 위한 것은 아니다.
- [1704] 실시예 2 내지 8에 개시된 각각의 화합물은 SEQ ID NO: 4 및 [AzK-PEG] 모이어티를 사용하였으며, 여기서, IL-2 콘주게이트에서의 치환된 아미노산의 위치는 SEQ ID NO: 4에서의 위치를 참조한다.
- [1705] 예를 들어, **표 3A** 및 **3B**에 "P65_5kD"로 표시된 화합물을 실시예 2에 개시된 것과 유사한 방법을 사용하여 제조하였으며, 여기서, 위치 65에서의 프롤린이 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)로 대체된 SEQ ID NO: 4을 갖는 단백질(SEQ ID NO: 10)을 먼저 제조하였다. 그 후 AzK-함유 단백질을 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 5 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켜 화학식 II, 화학식 III, 또는 화학식 II와 III의 혼합물을 포함하는 SEQ ID NO: 20을 갖는 생성물을 수득하였으며, 여기서, W는 평균 분자량이 5 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기이다.
- [1706] 또 다른 예에서, 실시예 4, 실시예 5, 실시예 6 및 실시예 11에서 사용된 **표 3A** 및 **3B**에 "P65_30kD"로 표시된 화합물을 (실시예 11에서 "IL-2_P65[AzK-PEG30kD]"로 칭해지고, 실시예 11 및 도면에서 "화합물 A"로 지칭됨), 위치 65에서의 프롤린이 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신 (AzK)로 대체된 SEQ ID NO: 4를 갖는 단백질 (SEQ ID NO: 10)을 먼저 제조함으로써 제조하였다. 그 후 AzK-함유 단백질을 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켜 화학식 II, 화학식 III, 또는 화학식 II와 III의 혼합물을 포함하는 SEQ ID NO: 25을 갖는 생성물을 수득하였으며, 여기서, W는 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기이다. 이 화합물은 또한 위치 65에서의 프롤린(P65)이 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 VI와 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다. 이 화합물은 또한 위치 65에서의 프롤린(P65)이 화학식 X 또는 XI의 구조, 또는 X와 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.
- [1707] 또 다른 예에서, **표 3A** 및 **3B**에서 "E62_5kD"로 표시된 화합물은 위치 62에서의 글루탐산이 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신 AzK로 대체된 SEQ ID NO: 4를 갖는 단백질(SEQ ID NO: 11)을 먼저 제조함으로써 제조하였다. 그 후 AzK-함유 단백질을 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 5 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켜 화학식 II, 화학식 III, 또는 화학식 II와 III의 혼합물을 포함하는 SEQ ID NO: 21을 갖는 생성물을 수득하였으며, 여기서, W는 평균 분자량이 5 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기이다.
- [1708] 또 다른 예에서, **표 3A** 및 **3B**에서 "E62_30kD"로 표시되고 실시예 4에서도 사용된 화합물은 위치 62에서의 글루탐산이 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)로 대체된 SEQ ID NO: 4를 갖는 단백질(SEQ ID NO: 11)을 먼저 제조함으로써 제조하였다. 그 후 AzK-함유 단백질을 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켜 화학식 II, 화학식 III, 또는 화학식 II와 III의 혼합물을 포함하는 SEQ ID NO: 26을 갖는 생성물을 수득하였으며, 여기서, W는 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기이다. 이 화합물은 또한 위치 62에서의 글루탐산(E62)이 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 VI와 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다. 이 화합물은 또한 위치 62에서의 글루탐산(E62)이 화학식 X 또는 XI의 구조, 또는 X와 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n

은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.

[1709] 또 다른 예에서, "K35_30kD"로 라벨링되고 실시예 8에서 사용된 화합물은 위치 35에서의 리신이 M6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신 (AzK)로 대체된 SEQ ID NO: 4를 갖는 단백질(SEQ ID NO: 14)을 먼저 제조함으로써 제조하였다. 그 후 AzK-함유 단백질을 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켜 화학식 II, 화학식 III, 또는 화학식 II와 III의 혼합물을 포함하는 SEQ ID NO: 29을 갖는 생성물을 수득하였으며, 여기서, W는 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기이다. 이 화합물은 또한 위치 35에서의 리신(K35)이 화학식 VI 또는 VII의 구조, 또는 VI와 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다. 이 화합물은 또한 위치 35에서의 리신(K35)이 화학식 X 또는 XI의 구조, 또는 X와 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.

[1710] 실시예 9 및 10은 위치 64에서의 프롤린이 AzK_L1_PEG30kD로 대체된 SEQ ID NO: 50을 포함하는 화합물 "IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1"을 사용하였으며, 여기서 AzK_L1_PEG30kD는 화학식 IV 또는 화학식 V의 구조, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물, 및 30 kDa, 선형 mPEG 사슬로 정의된다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 또한 위치 64에서의 프롤린 잔기(P64)가 화학식 VIII 또는 IX의 구조 또는 VIII과 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 또한 위치 64에서의 프롤린 잔기(P64)가 화학식 XII 또는 XIII의 구조 또는 XII와 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 또한 실시예 12 이하 및 도면에서는 "화합물 B"로 지칭된다. 실시예 2에 개시된 것과 유사한 방법을 사용하여 화합물을 제조하였으며, 여기서, 위치 64에서의 프롤린이 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신 AzK로 대체된 SEQ ID NO: 3을 갖는 단백질(SEQ ID NO: 35)을 먼저 제조하였다. 그 후, AzK-함유 단백질은 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켰다.

[1711] 실시예 11은 상기 기재된 바와 같은 화합물 "IL-2_P65[AzK_PEG30kD]"(본원에서 "P65_30kD"로도 지칭됨)을 이용하였다.

[1712] 실시예 1

[1713] 키나아제 및 사이토카인 수용체 이량체화 분석

[1714] 세포 취급

[1715] PathHunter 세포주는 표준 절차에 따라 냉동 스톱으로부터 확장시켰다. 세포를 총 부피 20 μ L로 흰 벽의 384웰 마이크로플레이트에 집중하고 테스트 전에 적절한 시간 동안 인큐베이션하였다.

[1716] 작용제 형식

[1717] 작용제 결정을 위해, 세포를 샘플과 함께 인큐베이션하여 반응을 유도하였다. 샘플 스톱의 중간 희석을 수행하여 분석 완충액 중 5X 샘플을 생성하였다. 약 5 μ L의 5X 샘플을 세포에 첨가하고 분석에 따라 37°C에서 6 내지 16시간 동안 인큐베이션하였다. 비히클 농도는 1%였다.

[1718] 신호 검출

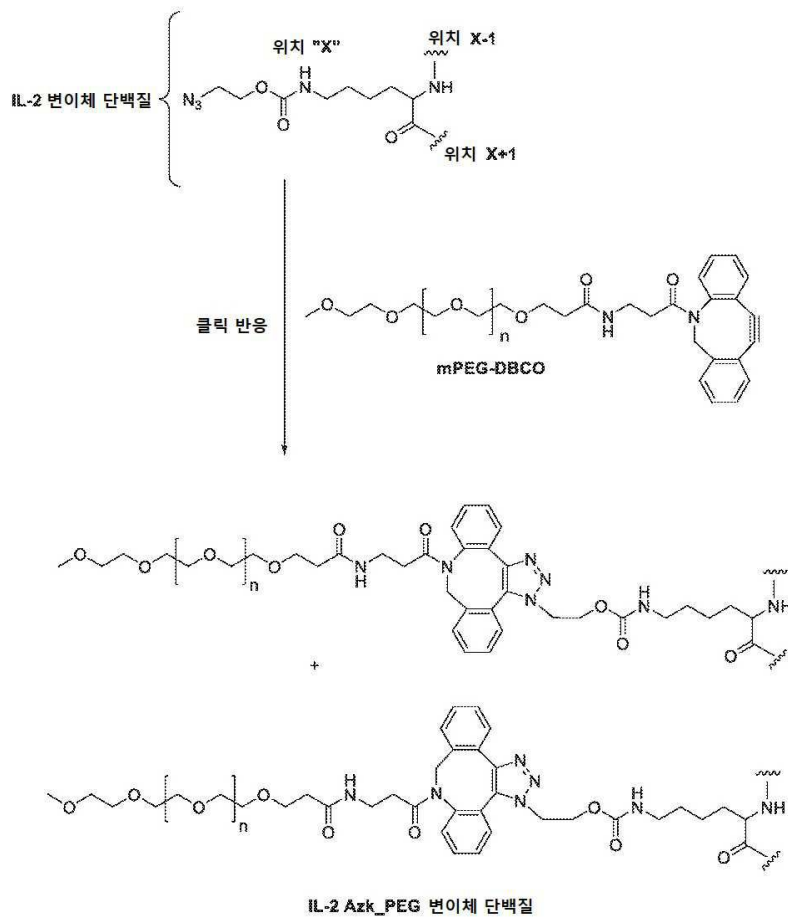
[1719] 각각 작용제 및 길항제 분석을 위한 PathHunter Detection 시약 각테일의 12.5 또는 15 μ L(50% v/v)의 단회 첨가, 이어서 실온에서의 1시간 인큐베이션을 통해 분석 신호를 생성하였다. 일부 분석의 경우, 분석 성능을 개선하기 위해 고감도 검출 시약(PathHunter Flash Kit)을 사용하여 활성을 검출하였다. 이 분석에서 동일한 부피의 검출 시약(25 또는 30 μ L)을 웰에 첨가한 다음 실온에서 1시간 인큐베이션하였다. 화학 발광 신호 검출을 위해 PerkinElmer Envision™ 기기로 신호 생성 후 마이크로플레이트를 판독하였다.

[1720] 데이터 분석

[1721] CBIS 데이터 분석 스위트(ChemInnovation, CA)를 사용하여 화합물 활성을 분석하였다. 작용제 모드 분석의 경우, 다음 공식을 사용하여 활성 백분율을 계산하였다.

[1722] $\text{활성}(\%) = 100\% \times (\text{테스트 샘플의 평균 RLU} - \text{비히클 대조군의 평균 RLU}) / (\text{평균 MAX RLU 대조군 리간드} - \text{비히클 대조군의 평균 RLU})$.

- [1723] 길항제 모드 분석의 경우, 다음 공식을 사용하여 억제 백분율을 계산하였다.
- [1724]
$$\text{억제(\%)} = 100\% \times (1 - (\text{테스트 샘플의 평균 RLU} - \text{비히클 대조군의 평균 RLU}) / (\text{EC80 대조군의 평균 RLU} - \text{비히클 대조군의 평균 RLU}))$$
- [1725] 실시예 2
- [1726] IL-2R α 결합이 없는 PEG화된 IL-2 화합물의 확인을 위한 세포 기반 스크리닝
- [1727] 예시적인 IL-2 콘주게이트를 다음과 같이 기능 분석에 적용하였다: K35, F42, K43, E62 및 P65. (a) 비천연 아미노산 M6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)이 혼입되는 원하는 위치에 코돈을, 그리고 tRNA에 매칭 안티코돈을 제공하기 위한, 제1 비천연 뉴클레오타이드 및 제2 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 비천연 염기쌍, (b) 메타노사르시카 마제이(*M. Mazei*) Pyl로부터 유래된 tRNA를 코딩하고, 그의 천연 서열 대신 매칭 안티코돈을 제공하기 위한 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 플라스미드 (c) 메타노사르시카 바케리(*M. barkeri*) 유래 피롤리실-tRNA 신테타아제(Mb PylRS)를 코딩하는 플라스미드, 및 (d) M6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)이 함유된, 원하는 아미노산 서열을 갖는 단백질을 코딩하는 발현 플라스미드가 제조된, 본원에 개시된 방법을 사용하여 *이. 콜라이(E. coli)*에서 봉입체로서 IL-2 콘주게이트가 발현되었다. 원하는 IL-2 변이체의 아미노산 서열을 코딩하는 이중 가닥 올리고 뉴클레오타이드는 예를 들어 SEQ ID NO: 3을 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 위치 34, 37, 40, 41, 42, 43, 44, 61, 64, 68 또는 71에서, 또는 SEQ ID NO: 4를 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 위치 35, 38, 41, 42, 43, 45, 62, 65, 69 또는 72에서 코돈 AXC를 함유하였으며, 여기서 X는 본원에 개시된 비천연 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, 세포는 천연 서열 대신 AXC-매칭 안티코돈 GYT를 포함하는 엠. 마제이로부터의 직교성 tRNA를 코딩하는, 단백질 발현 플라스미드 또는 다른 플라스미드일 수 있는 플라스미드를 추가로 포함하고, 여기서 Y는 본원에 개시된 비천연 뉴클레오타이드이며, 코돈의 비천연 뉴클레오타이드와 동일하거나 상이할 수 있다. X 및 Y는 본원에 개시된 바와 같이 비천연 뉴클레오타이드 dTPT3, dNaM 및 dCNMO로부터 선택되었다. 발현된 단백질을 정제하고, 표준 절차를 사용하여 다시 폴딩시키고, 그 후 DBCO-매개 구리 무함유 클릭 화학을 사용하여 AzK-함유 IL-2 생성물을 부위-특이적으로 PEG화하여 안정한 공유 mPEG 모이어티를 AzK에 부착하였다(반응식 1).
- [1728] **반응식 1.** AzK-PEG 인터류킨 변이체의 예시적인 합성(여기서 n은 반복되는 PEG 단위의 수를 나타냄). AzK 모이어티와 DBCO 알키닐 모이어티의 반응은 하나의 위치이성질체 생성물 또는 위치이성질체 생성물의 혼합물을 제공할 수 있다.



[1729]

[1730]

IL-2 콘쥬게이트는 PathHunter IL-2 사이토카인 수용체 분석을 사용하여 Discoverx(Fremont, CA)에서 기능적 활성에 대해 스크리닝하였다. 이 분석은 각각 분할 리포터 효소 β-갈락토시다아제의 절반에 융합된 IL-2 수용체 β(IL-2Rβ) 및 γ(IL-2Rγ) 서브유닛을 발현하는 재조합 인간 U2OS 세포주를 사용한다. 두 번째 세포주는 IL-2Rα 서브유닛을 발현하도록 추가로 조작하였다. 이 두 세포주를 사용한 동시 테스트를 통해 IL-2 수용체 α β γ 및 기저 β γ 복합체의 변이체 활성화를 평가할 수 있다. IL-2 β γ 수용체 복합체에 대한 IL-2 작용제 활성은 수용체 이량체화 및 리포터 β-갈락토시다아제 재구성을 자극하여 화학 발광 신호를 생성한다. 분석은 각 테스트 물품의 EC₅₀을 결정하기 위해 작용제 모드에서 실행하였으며, IL2Rα 양성 세포 유형과 음성 세포 유형 사이의 용량 반응 곡선 프로파일을 비교하면 관찰된 활성에 대한 IL2Rα의 기여도를 결정할 수 있다.

[1731]

표 2는 10 kD(표시된 경우 제외) PEG화 IL-2 콘쥬게이트에 대한 세포 기반 스크린에서 IL-2 수용체 아고니즘에 대한 EC₅₀ 데이터를 보여준다.

[1732] [표 2]

부위	$\beta\gamma$ EC50 (nM)	$\alpha\beta\gamma$ EC50 (nM)	$\beta\gamma/\alpha\beta\gamma$ 비율
천연	1.68	0.074	23
이상적	1.68	1.68	1
K35	6.75	0.15	45
F42	6.09	0.515	12
K43	9.84	0.131	75
E62	3	1.5	2
P65*	23.8	4.44	5
R38	4.16	0.165	25
T41	6.37	0.0489	130
E68	7.70	0.0893	86
Y45*	9.06	0.110	83
V69*	9.99	0.083	121

* 30 kD PEG화 IL-2 콘주게이트를 나타냄.

[1733]

[1734] 인간 IL-2 수용체 서브유닛과 PEG화된 IL-2의 생화학적 상호작용

[1735] 인간 IL-2 수용체 서브유닛과 PEG화된 IL-2 화합물의 상호작용의 동역학은 Biosensor Tools LLC(Salt Lake City, UT)에서 표면 플라즈몬 공명(SPR: Surface Plasmon Resonance)를 사용하여 측정하였다. 이 연구를 위해, 인간 IgG1 Fc-융합된 IL-2 α (Sino Biological #10165-H02H) 및 β (Sino Biological #10696-H02H) 세포의 도메인을 Biacore 단백질 A-코팅된 CM4 센서 칩의 표면에서 포획하였다. 이러한 표면은 Biacore 2000 SPR 기기를 사용하여 천연 IL-2(야생형 IL-2; Thermo #PHC0021), P65_30kD, P65_5kD, E62_30kD, 또는 E62_5kD의 2 μ M에서 시작하는 2배 희석 시리즈로 이중으로 프로빙하였다. 결합을 측정하기 위해 테스트 샘플을 60초 동안 주입한 다음, 해리를 측정하기 위해 30초 동안 완충액만(세척)을 주입하였다. 반응 단위(RU, Y축)는 시간(s, X축)에 대해 플롯팅한다.

[1736] β 에 대한 IL-2 결합에 미치는 IL-2 수용체 α 서브유닛의 효과를 평가하기 위해, α 를 β 에 비해 약 2배 과량으로 포획하였다. 이러한 표면에, 천연 IL-2(야생형 IL-2), P65_30kD, P65_5kD, E62_30kD, 또는 E62_5kD를 2.5 μ M에서 시작하는 3배 희석 시리즈에 적용하였다. 결합 데이터는 벌크 이동을 포함하는 1:1 상호작용 모델에 피팅시켰으며 추출된 동역학 파라미터는 표 3A 및 표 3B에 요약되어 있다. 표 3A 및 표 3B에 나타난 바와 같이, 작은 PEG는 IL2R 알파 결합을 없애지만 IL2R 베타 결합에 대한 비특이적 영향이 더 적다.

[1737] [표 3A]

개별 IL-2 수용체 서브유닛 표면과의 IL-2 변이체의 상호작용에 대한 동역학 파라미터 - IL-2 수용체 α 표면.

	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (μ M)
IL-2 천연	$4.5 \pm 0.3 \times 10^7$	0.410 ± 0.01	0.009 ± 0.002
P65_30kD	$114 \pm 36 \times 10^7$	0.018 ± 0.008	158 ± 21
P65_5kD	$797 \pm 226 \times 10^7$	0.033 ± 0.004	42 ± 7
E62_30kD	$333 \pm 88 \times 10^7$	0.050 ± 0.01	162 ± 7
E62_5kD	$1010 \pm 41 \times 10^7$	0.035 ± 0.002	34.4 ± 0.3

[1738]

[1739] [표 3B]

개별 IL-2 수용체 서브유닛 표면과의 IL-2 변이체의 상호작용에 대한 동역학 파라미터 - IL-2 수용체 β 표면.

	$k_a (M^{-1}s^{-1})$	$k_d (s^{-1})$	$K_D (\mu M)$
IL-2 천연	$1.3 \pm 0.2 \times 10^6$	0.185 ± 0.009	0.145 ± 0.005
P65_30kD	$1.8 \pm 0.2 \times 10^5$	0.370 ± 0.01	2.09 ± 0.09
P65_5kD	$9.0 \pm 0.4 \times 10^5$	0.270 ± 0.01	0.305 ± 0.002
E62_30kD	$1.8 \pm 0.4 \times 10^5$	0.208 ± 0.006	1.14 ± 0.01
E62_5kD	$6.6 \pm 0.8 \times 10^5$	0.281 ± 0.004	0.428 ± 0.00

[1740]

[1741] 1차 인간 백혈구 감소 시스템(LRS: leukocyte reduction system) 유래 PBMC 샘플에서 IL-2 화합물의 생체 면역 반응 프로파일링

[1742]

IL-2 P65_30kD, K64_30kD, K43_30kD, K35_30kD, 및 F42_30kD의 차별적 수용체 특이성이 어떻게 1차 면역 세포 하위 집단의 활성화에 영향을 미치는지 결정하기 위해, 인간 LRS 유래 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 샘플에서 림프구 활성화의 농도-반응 프로파일링을 다색 유세포 분석법을 사용하여 수행하였다. 이 연구는 PrimityBio LLC(Fremont, CA)에서 수행하였다. 신선한 LRS 유래 샘플은 30 $\mu g/mL$ 의 최고 농도로 시작하는 5배 희석 시리즈의 천연 IL-2, L-2 P65_30kD, K64_30kD, K43_30kD, K35_30kD, 및 F42_30kD로 처리하였다. 45분 인큐베이션 후 샘플을 고정하고 항체로 염색하여 IL-2 수용체 신호전달 복합체의 상류 결합 및 활성화 마커인 전사 인자 STAT5(pSTAT5)의 인산화된 형태, 및 특정 T 세포 및 자연 살해(NK) 세포 하위 집단에서 pSTAT5 형성을 추적하는 표면 마커 패널을 검출하였다. LRS 유래 PBMC 샘플의 유세포 분석 연구를 위한 염색 패널에는 이펙터 T 세포(Teff: CD3+, CD4+, CD8+, CD127+), NK 세포(CD3-, CD16+) 및 조절 T 세포(Treg: CD3+, CD4+, CD8-, IL-2R α +, CD127-1)에 대한 마커가 포함된다.

[1743]

천연 IL-2로 처리한 후 pSTAT5 축적을 관측하면서 농도-반응 모드에서 상이한 T 및 NK 세포 서브세트의 활성화에 대해 유세포 분석 데이터를 분석하였다. IL-2 R α 의 Treg-특이적 발현의 결과, 천연 IL-2는 CD8 Teff 및 NK 세포에 비해 Treg에서 pSTAT5 자극에 대한 증가된 효력을 보여주었다. 천연 화합물과 비교하여, PEG화된 변이체는 CD8 T 세포 및 NK 세포 집단에서 적당하게 감소된 효력을 보여주지만, 천연 IL-2에 대해 IL-2 R α 발현 Treg 세포에서 효력의 차별적 감소를 보여주었다.

[1744]

표 4는 표시된 IL-2 변이체로 처리된 인간 LRS 샘플 또는 CTLL-2 증식에서의 pSTAT5 신호전달에 대한 용량 반응 EC50(EC50)을 제공한다.

[1745]

[표 4]

표시된 IL-2 변이체로 처리된 인간 LRS 샘플 또는 CTLL-2 증식에서의 pSTAT5 신호전달에 대한 용량 반응 EC50(EC50).

처리	NK 세포	Treg 세포	CD8+ T 세포	CD8/Treg 비율	CTLL-2
천연 IL-2	5150.5	62.5	25703.5	411.3	846
E62_30kD	12834	37213	66644	1.8	398,012
E62_5kD	5327.5	18146	41552.5	2.3	275,590
E62K	10305	11086	64037	5.8	58,213
P65_30kD	15741	40740.5	113638	2.8	677,198
P65_5kD	1920	6324.5	13769.5	2.2	194,924
K35_30kD	14021	358	63023	176.0	N.D.
F42_30kD	16397	36856	107944	2.9	123,936
K43_30kD	9004	4797	50504	10.5	N.D.

N.D. = 결정되지 않음.

[1746]

[1747]

EC50 값(pg/mL)은 MFI 플롯에서 생성된 용량 반응 곡선으로부터 계산하였다.

[1748]

실시예 3

[1749] PEG 및 잔기 치환은 무-알파 약리학에 기여한다

[1750] PEG 및 잔기 치환이 IL-2 E62의 무-알파 약리학에 영향을 미치는지의 여부를 결정하기 위해, 인간 LRS 유래 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 샘플에서 림프구 활성화의 농도-반응 프로파일링을 다색 유세포 분석법을 사용하여 수행하였다. 이 연구는 PrimityBio LLC(Fremont, CA)에서 수행하였다. 신선한 LRS 유래 샘플을 30 μ g/mL의 최고 농도로 시작하는 5배 희석 시리즈의 천연 IL-2, E62K, 또는 E62_30kD로 처리하였다. 45분 인큐베이션 후, 샘플을 고정하고 항체로 염색하여 IL-2 수용체 신호전달 복합체의 상류 결합 및 활성화 마커인 전사 인자 STAT5(pSTAT5)의 인산화된 형태, 및 특정 T 세포 및 자연 살해(NK) 세포 하위 집단에서 pSTAT5 형성을 추적하는 표면 마커 패널을 검출하였다. LRS 유래 PBMC 샘플의 유세포 분석 연구를 위한 염색 패널에는 마커인 CD4, CD4+ 기억 중심, CD4+ 기억 이펙트, CD4+ 기억 T 세포, CD4+ 나이브 T 세포, CD4+ T 세포, CD8, CD8+ 기억 중심, CD8+ 기억 이펙트, CD8+ 기억 T 세포, CD8+ 나이브 T 세포, CD8+ T 세포, NK 세포, 및 T 조절 세포가 포함된다.

[1751] 실시예 4

[1752] 나이브(E3826-U1704) 및 B16-F10 종양 보유(E3826-U1803) C57BL/6 마우스에서의 PK/PD 연구

[1753] 연구 설계는 표 5 및 표 6에 요약되어 있으며, 여기서 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산하였다. 표시된 지점에서 심장 천자를 통해 말단 혈액 샘플을 수집하였다. 연구 E3826-U1704는 각 시점당 3마리의 마우스를 희생시키는 13개 시점(0.13, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 및 120시간)을 포함하였으며, 연구 E3826-U1803은 각 시점당 4~7마리의 마우스를 희생시키는 9개 시점(2, 8, 12, 24, 48, 72, 120, 168 및 240시간)을 포함하였다. PK 및 PD 분석을 위해 혈장 및 혈액 세포(두 연구 모두에서)를 수집하고, 연구 E3826-U1803에서 종양을 수집하였다.

[1754] 적격 인간 IL-2 ELISA 분석(Abcam, Cambridge, UK)을 사용하여 혈장 샘플의 생물 분석을 수행하였다. 알데스류킨, E62_30kD 및 P65_30kD와 혈장으로부터 유래된 샘플의 내부 표준의 농도는 ELISA 분석을 사용하여 결정하였다. PK 데이터 분석은 NW Solutions(Seattle, WA)에서 수행하였다. 분석을 위해 Phoenix WinNonlin v6.4(Certara/Pharsight, Princeton, NJ)로 PK 데이터를 불러왔다. 군 평균 혈장 농도 대 시간 데이터는 IV 볼루스 투여 모델을 사용하여 비구획 방법으로 분석하였다.

[1755] [표 5]

PK/PD 연구 번호 E3826-U1704 -나이브 C57/BL6 마우스에서 대조군 및 테스트 처리 군.

처리	용량*(mg/Kg)	경로, 일정	시점	N
대조군	0	IV, 단회 용량	13	3
알데스류킨	0.3	IV, 단회 용량	13	3
P65_30kD	0.3	IV, 단회 용량	13	3
E62_30kD	0.3	IV, 단회 용량	13	3

* 용량은 P65_30kD IL-2 폴리펩타이드 양을 참조한다(여기서, 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산함)

[1756]

[1757] [표 6]

PK/PD 연구 번호 E3826-U1803 - 대조군 및 테스트 처리 군 - B16F-10 흑색종 보유 마우스 (여기서, 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산함).

처리	용량 (mg/kg)	경로, 일정	시점	N
없음(투약 전)	0 mg/kg	없음	1	6
비히클 대조군	0 mg/kg	IV, 단회 용량	9	3
P65_30kD	1 mg/kg	IV, 단회 용량	9	4
P65_30kD	3 mg/kg	IV, 단회 용량	9	4

[1758]

[1759] 연구 E3826-U1704에서, P65_30kD 및 E62_30kD는 모두 표 7에 요약된 바와 같이 알데스류킨에 비해 우수한 PK 프로파일을 나타낸다. 알데스류킨의 단회 IV 볼루스 투여 후, Tmax는 투약 후 0.03시간(투약 후 최초 측정

시점)에 관찰되었고 평균 혈장 농도는 투약 후 4시간까지 측정할 수 있었다. P65_30kD 및 E62_30kD의 단회 IV 볼루스 투약 후, Tmax는 투여 후 0.03시간에 관찰하였고 평균 혈장 농도는 투여 후 120시간까지 측정할 수 있었다(마지막 측정 시점). 별개의 연구에서, E62_5kD의 IV 투약 후 Tmax는 투약 후 0.133시간에 관찰되었고 평균 혈장 농도는 투약 후 12시간까지 측정 가능하였다.

[1760] Cmax 및 AUC_{0-t}를 기준으로 한 노출은 다음과 같다: P65_30kD >E62_30kD >> E62_5kD> 알테스류킨. PEG가 더 작은 E62_5kD는 rIL-2에 더 가까운 PK 프로파일을 가졌다(표 7). P65_30kD 노출은 각각 Cmax와 AUC_{0-t}를 기준으로 알테스류킨보다 5.5배 및 200배 높았다. 또한, P65_30kD는 알테스류킨에 비해 23배 확장된 t_{1/2}(13.3 h 대 0.57 h) 및 약 198배 감소된 CL(6.58 대 1300 mL/h/Kg)을 보였다. P65_30kD 및 E62_30kD 둘 모두의 경우, 분포 부피(각각 82.4 및 92.3 mL/Kg)는 알테스류킨에 비해 약 4.2 내지 4.7배 감소했으며 마우스의 혈액 부피와 유사하였다(85 mL/Kg; [Boersen 2013]). 이는 P65_30kD와 E62_30kD가 대부분 전신 순환에 분포되어 있음을 시사한다.

[1761] [표 7]

C57BL/6 암컷 마우스에서의 P65_30kD PK 파라미터.

파라미터	단위	P65_30kD	E62_30kD	E62_5kD	알테스류킨
T _{max}	h	0.030	0.030	0.133	0.030
C _{max}	ng/mL	4,870	4,230	936	884
AUC _{0-t}	h*ng/mL	45,600	37,100	798	229
R ²		0.992	0.986	0.851	0.900
AUC _{INF}	h*ng/mL	45,600	37,100	807	230
t _{1/2}	h	13.300	14.500	2.56	0.573
CL	mL/h/Kg	6.580	8.07	372	1300
V _{ss}	mL/Kg	82.4	92.3	404	390

주: R²는 최종 단계의 각 농도 대 시간 프로파일에 대한 적합도 파라미터이다.
모든 파라미터는 3개의 유효 숫자까지 나타낸다.

[1762]

[1763] 실시예 5

[1763]

[1764] 말초 혈액 구획에서의 약력학적 관찰

[1764]

[1765] STAT5 인산화 및 세포 증식 유도(초기 분자 마커 Ki-67 및 세포 카운트)를 약력학 관독값으로 사용하여 P65_30kD의 약동학에 대한 그의 약리학적 프로파일을 평가하였다. pSTAT5 PD 마커는 CD8+ 이펙터 T 세포에서 P65_30kD 및 알테스류킨 둘 다에 대해 PK와 좋은 상관관계를 나타냈다(표 7). pSTAT5의 지속적인 상승은 NK 및 CD8+ T 세포에서 72시간까지, Treg에서 24시간까지 관찰되었다. pSTAT5 유도는 알테스류킨을 투약한 마우스에서 단지 2시간 후에 기준선으로 돌아왔다. STAT5 인산화는 CD8+ 이펙터 T 세포 및 NK 세포의 증식 반응(72~120시간)으로 번역되었지만 T reg에서는 그렇지 않았으며, CD8+ 이펙터 T 세포의 표현형 분석에 의하면 이 집단 내에서 CD44+ 기억 세포의 상당한 확장이 나타났다.

[1766] B16-F10 종양-보유(E3826-U1803) C57BL/6 마우스의 종양 구획에서의 약력학적 관찰

[1766]

[1767] 표 8은 B16-F10 종양 보유 마우스에서 3 mg/kg의 P65_30kD 단회 용량 후 혈장 및 종양 약물 농도를 보여주며, 여기서 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산하였다. 종양 반감기는 혈장 반감기(24.4 대 12.6)의 2배였으며, 이는 P65_30kD가 종양을 투과하고 종양 내에 유지됨을 나타낸다. 곡선의 꼬리 끝 교차는 혈장이 종양보다 빠르게 제거함을 보여준다(데이터는 미제시). 종양:혈장 AUC 비는 각각 1 및 3 mg/kg 용량에 대해 9.7% 및 8.4%였다.

[1767]

[1768] [표 8]

B16-F10 종양 보유 C57BL/6 암컷 마우스에서의
P65_30kD 혈장 및 종양 PK 파라미터

파라미터	P65_30kD (3 mg/kg)	
	혈장	종양
T _{max} (h)	*2.00	8
C _{max} (ng/mL)	40000	1550
t _{1/2} (h)	12.60	24.4
AUC ₀₋₄ (h*ng/mL)	656,000	55200
R ²	0.974	0.988
AUC _{INF} (h*ng/mL)	656,000	55200

[1769]

[1770] Balb/c 마우스 E3826-U1802에서의 MTD 연구

[1771] P65_30kD의 용량 범위 연구는 Crown Biosciences, Inc.(미국 캘리포니아 주 샌디에고)의 나이브 암컷 Balb/c 마우스에서 수행하였다. 연구 설계는 표 9에 나타내며, 여기서 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산하였다. 혈액 샘플은 8개의 시점(0.25, 1, 4, 12, 24, 34, 48 및 72시간)에 하악 정맥을 통해 채취하였다. PK 및 PD 분석을 위해 혈장 및 혈액 세포를 모두 수집하였다.

[1772] 모든 혈장 샘플은 시판되는 ELISA 키트를 사용하여 인간 IL-2뿐만 아니라 마우스 IL-2, TNF- α , IFN γ , IL-5, 및 IL-6 사이토카인에 대해서도 분석하였다.

[1773] [표 9]

PK/PD 및 MTD 연구 번호 E3826-U1802 - 나이브 Balb/C 마우스에서의 대조군 및 테스트 처리 군

처리	용량 (mg/kg)	경로, 일정	시점	N
나이브	0 mg/kg		0	3
비히클 대조군	0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
알데스류킨	0.01 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
알데스류킨	0.03 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
알데스류킨	0.1 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
알데스류킨	1.0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
알데스류킨	3.0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
알데스류킨	5.0 mg/kg	IV, BID x 3	3	3
P65_30kD	0.01 mg/kg	IV, 단회 용량	3	3
P65_30kD	0.03 mg/kg	IV, 단회 용량	3	3
P65_30kD	0.1 mg/kg	IV, 단회 용량	3	3
P65_30kD	1.0 mg/kg	IV, 단회 용량	3	3
P65_30kD	3.0 mg/kg	IV, 단회 용량	3	3
P65_30kD	5.0 mg/kg	IV, 단회 용량	3	3
#P65_30kD	0.3 mg/kg	IV, 단회 용량	8	3

* 72 시간 시점 혈액 수집을 제외한 모든 시점은 하악 정맥을 통해 이루어졌다. 72 시간 시점은 말기 혈액 수집이었다.

PK / PD 평가에는 0.3 mg/kg 용량의 P65_30kD만을 사용하였다.

[1774]

[1775] Balb/c 마우스를 사용한 MTD 연구에서의 독성 관찰

[1776] 고용량 알데스류킨과 관련된 독성의 대다수는 혈관 누출 증후군 및 관련 사이토카인 방출 증후군(CRS: Cytokine Release Syndrome)이다. 마우스에서 이 효과의 가능성을 평가하기 위해, 0.01~5.0 mg/kg 용량 범위의 용량으로 P65_30kD의 단회 용량 IV 투여를 수행하였으며(표 9), 여기서 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산하였다. 수행한 분석은 혈액학, 조직병리학, 장기 중량, 및 사이토카인 분석이었다. P65_30kD 또는 알데스류킨 둘 다에 의해 비히클 대조군 마우스에 비해 혈액학, 조직병리학 또는 체중에서 이상이 관찰되지 않았다. 사이토카인 분석과 관련하여, 알데스류킨이 1 mg/kg 내지 5 mg/kg으로 시작하여 혈장 IL-5 수준을 상승시키는 것으로 관찰되었다. P65_30kD의 경우, IL-5의 중간 정도의 증가(그러나 알데스류킨에 비해 적음)는 5 mg/kg 용량에서만 나타났다. 알데스류킨과 P65_30kD 모두에서 IFN γ 의 전신 수준의 일시적인 상승이 관찰되었다.

[1777] 실시예 6

[1778] 시노몰구스 원숭이의 PK/PD - 연구 번호: 20157276

[1779] P65_30kD의 약동학적 및 약력학적 프로파일은 0.3 mg/kg의 단회 정맥내 용량을 투여한 후 비-나이브 시노몰구스 원숭이에서 평가하였으며, 여기서 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산하였다. 이 연구는 Charles River Laboratories, Inc.(Reno, NV)에서 수행하였으며 PK 데이터 분석은 NW Solutions(Seattle, WA)에서 수행하였다. 혈액 샘플은 투여 전과 15개의 시점(투약 후 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 120, 144, 168, 192 및 240시간)에 수집하였다. PK 및 PD 분석을 위해 혈장 및 혈액 세포 모두를 수집하였다. PK, PD, 세포 집단 및 혈액학적 분석에 선택한 시점을 사용하였다.

[1780] 모든 혈장 샘플은 시판되는 ELISA 키트를 사용하여 인간 IL-2(PK 판독)에 대해 분석하였다.

[1781] 표 10은 시노몰구스 원숭이에서의 P65_30kD PK 파라미터를 보여준다.

[1782] [표 10]

			0.3 mg/kg		
			동물 2699	동물 2705	평균
ROA	파라미터	단위	추정치		
IV	T _{max}	hr	0.500	0.500	0.500
	C _{max}	ng/mL	11000	11400	11200
	AUC ₀₋₄	hr*ng/mL	121000	120000	121000
	t _{1/2}	hr	13.4	13.9	13.6
	CL	mL/hr/kg	2.47	2.49	2.48
	V _{ss}	mL/kg	29.0	32.1	30.5

[1783]

[1784] 단회 IV 볼루스 투여 후, T_{max}는 투약 후 0.5시간(투약 후 최초 측정 시점)에 관찰되었고 평균 혈장 농도는 투약 후 168시간(최종 측정)까지 측정할 수 있었다. P65_30kD에 대한 t_{1/2} 및 AUC는 각각 13.6시간 및 121000시간*ng/mL이었다.

[1785] 혈액학적 파라미터 - 시노몰구스 원숭이-연구 번호: 20157276

[1786] 혈액학적 파라미터의 경우 평가 시점은 투약 전 제-1일 및 투약 후 제1일, 제3일, 제6일, 제8일, 제10일, 제12일, 제14일, 제17일, 제19일, 제21일에 해당 해당한다.

[1787] 실시예 7

[1788] 1차 인간 백혈구 감소 시스템(LRS) 유래 PBMC 샘플에서 예시적인 IL-2 화합물의 생체 외 면역 반응 프로파일링

[1789] 예시적인 IL-2 화합물의 차별적 수용체 특이성이 1차 면역 세포 하위 집단의 활성화에 어떻게 영향을 미치는지 결정하기 위해, 인간 LRS 유래 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 샘플에서 림프구 활성화의 농도-반응 프로파일링을 다색 유세포 분석법을 사용하여 수행하였다. 표 12의 콘쥬게이트는 SEQ NO. 1을 변형하여 합성하였다. 이 연구는 PrimityBio LLC(Fremont CA)에서 수행하였다. 인간 LRS 샘플로부터 유래된 1차 림프구를 예시적인 IL-2 화합물의 희석 시리즈로 처리하고 표 11에 제시된 패널을 사용하여 각 림프구 세포 유형에서 pSTAT5 신호전달에

기초하여 정량화하였다.

[표 11]

세포 집단을 나타내는 키

마커	세포 집단
CD3	T 세포
CD4	Th 세포
CD8	T 이펙터 세포
CD45RA	나이프 T 세포
CD56	NK 세포
CD14/19	단핵구/ B 세포
CD25	Treg 또는 경험 T 세포
CD127	비-Treg
CD62L	기억 T 대 이펙터 기억 T 세포
pSTAT5 (Y694)	활성화 마커

예시적인 IL-2 변이체 K9_30kD로 처리한 후 pSTAT5 축적을 관독하면서 농도-반응 모드에서 상이한 T 및 NK 세포 서브세트의 활성화에 대해 유세포 분석 데이터를 분석하였다.

표 12는 표시된 IL-2 변이체로 처리된 인간 LRS 샘플 또는 CTLL-2 증식에서 pSTAT5 신호전달에 대한 용량 반응 EC50(EC50)을 보여준다.

[표 12]

표시된 IL-2 변이체로 처리된 인간 LRS 샘플 또는 CTLL-2 증식에서의 pSTAT5 신호전달에 대한 용량 반응 EC50(EC50).

화합물	NK 세포	CD8+ T세포	Treg 세포	CD8+/Treg 비율	천연 IL-2에 대한 Treg EC50의 증가 배수	CTLL-2 증식
천연 IL-2	4586	31024	75	414	1	455.8
K9_30kD	169578	1100679	2217	496	30	504
H16_30kD	2545257	12070108	34976	345	466	80755
L19_30kD	6756768	22436430	93205	241	1243	3510
D20_30kD	2643930	9505217	1129455	8	15059	689939
M23_30kD	143620	539824	1030	524	14	1102
N26_30kD	258531	1188859	2459	483	33	2594
N88_30kD	3298113	11111537	323201	34	4309	66606
E100_30kD	35088	195823	483	405	6	1676
N119_30kD	34010	143380	535	268	11	1215
T123_30kD	33396	152928	269	569	6	255
Q126_30kD	3676807	19722480	29454	670	393	3584
S127_30kD	20210	92190	150	615	3	123
T131_30kD	24207	132922	258	515	3	641
N88R/D109_30kD	2780819	12503386	175805	71	3663	59577
V91K	20537	102255	142	720	3	99.5
N88R	2312847	15025734	11082	1356	148	363

* 각 개별 실험에서 실행된 천연 IL-2(야생형 IL-2)와 비교한 Treg 효력 변화.

EC50 값(pg/ml)은 MFI 플롯에서 생성된 용량 반응 곡선에서 계산하였다.

실시예 8

C57BL/6 마우스에서의 PK 연구

실험 세부 사항은 표 13에 요약되어 있으며, 여기서 용량은 PEG 모이어티의 질량을 포함하지 않는 단백질 성분의 질량을 참조하여 계산하였다.

[1800] [표 13]

그룹	동물 수	테스트/대조 물품(용량)	경로, 투약 요법	중점(들)
1	9	천연 IL-2 (야생형) (3.0 mg/kg) 농도: 0.6 mg/mL	IV, 제 0일, T=0, 5 mL/kg 단회 용량	투약 후 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 및 24 시간에 혈액 수집
2	9	K35_30kD (3.0 mg/kg) 농도: 0.6 mg/mL	IV, 제 0일, T=0, 5 mL/kg 단회 용량	
3	9	K35_30kD (0.3 mg/kg) 농도: 0.6 mg/mL	IV, 제 0일, T=0, 5 mL/kg 단회 용량	
추가	6	해당 없음	해당 없음	블랭크 매트릭스 수집 (시간 제약 없음)
합계	33			

[1801]

[1802] 2가지 용량 수준에서 예시적인 PEG화된 IL-2 화합물 K35_30kD의 약동학적 특성을 평가하였다. 동결건조된 테스트 물품을 PBS에서 재구성하고, 9마리의 수컷 C57BL/6 마우스에게 각 용량 군에 대해 정맥내 꼬리 정맥 주사를 통해 0.3 및 3 mg/kg을 투약하였다(아래 수집 세부 사항 참조). 혈액 샘플은 투약 후 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 및 24시간에 수집하였다. 천연 마우스 IL-2와 교차 반응하지 않는 Abcam(ab100566)의 hIL-2 ELISA 키트를 테스트 물품의 검출 및 정량화에 사용하였다. 천연 및 PEG화 화합물의 키트 검출 민감도의 ELISA 특이적 차이를 조정하기 위해, 테스트 물품 희석 완충액을 사용하여 천연 IL-2 및 K35_30kD 테스트 물품 표준 곡선을 생성하고 각 표준 곡선에 대한 데이터를 분석하였다. 플롯팅된 데이터는 전술한 3개의 개별 샘플(생물학적 복제)의 평균 및 SEM을 나타내며, K35_30kD 테스트 물품에 대한 PK 파라미터를 추출하여 표 14에 요약하였다.

[1803] [표 14]

피분석물		단위	용량	
			0.3 mg/kg	3 mg/kg
			추정치	
IL-2 K35-mPEG30kD	T _{max}	hr	0.250	0.250
	C _{max}	ng/mL	6080	57700
	AUC ₀₋₄	hr*ng/mL	38500	425000
	R ²		0.994	0.947
	AUC _{0-∞} extrap	%	35.3	37.4
	AUC _{0-∞}	h*ng/mL	59600	679000
	t _{1/2}	hr	18.2	19.5
	C _{max} /D	kg*ng/mL/mg	20300	19200
	AUC _{0-t} /D	hr*ng/mL	128000	142000

[1804]

[1805] 실시예 9

[1806] 인간 IL-2R 알파 및 IL-2R 베타에 대한 결합의 특성화

[1807] 예시적인 IL-2 콘주게이트 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1의 인간 IL-2R 알파 및 IL-2R 베타에 대한 결합을 특성화하기 위한 연구를 수행하였다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 앞서 기재된 바와 같고, 위치 64에서의 프롤린이 AzK_L1_PEG30kD로 대체된 SEQ ID NO: 50을 포함하며, 여기서 AzK_L1_PEG30kD는 화학식 IV 또는 화학식 V, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물, 및 30 kDa, 선형 mPEG 사슬로 정의된다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 또한 위치 64에서의 프롤린 잔기(P64)가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 또한 위치 64에서의 프롤

린 잔기(P64)가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다.

[1808] 실시예 2에 개시된 것과 유사한 방법을 사용하여 화합물을 제조하였으며, 여기서, 위치 64에서의 프롤린이 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신 AzK로 대체된 SEQ ID NO: 3을 갖는 단백질(SEQ ID NO: 35)을 먼저 제조하였다. 그 후, AzK-함유 단백질은 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켰다. 간략하게, 생체접합에 사용된 IL-2는 하기를 사용하여, 본원에 기술된 방법들을 사용하여 *이. 콜라이(E. coli)*에서 봉입체로서 발현되었다: (a) (i) 원하는 아미노산 서열을 갖는 단백질로서, 상기 유전자가 비천연 아미노산 N6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)이 혼입된 원하는 위치에 코돈을 제공하는 제1 비천연 염기쌍을 함유하는, 단백질 및 (ii) *메타노사르시카 마제이(M. Mazei)* Pyl로부터 유래된 tRNA로서, 상기 유전자가 그의 천연 서열 대신 매칭 안티코돈을 제공하는 제2 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 것을 코딩하는 발현 플라스미드; (b) *메타노사르시카 바케리(M. barkeri)* 유래 피롤리실-tRNA 신테타아제(*Mb* PylRS)를 코딩하는 플라스미드, (c) AzK; 및 (d) 전장 단백질의 처음 65개의 아미노산 잔기가 결실된 뉴클레오타이드 트리포스페이트 수용체 PtNTT2의 절단된 변이체. IL-2 변이체의 아미노산 서열을 코딩하는 이중가닥 올리고뉴클레오타이드는 P64가 본원에 기재된 비천연 아미노산으로 대체된 SEQ ID NO: 3을 갖는 단백질을 코딩하는 서열의 코돈 64로서 코돈 AXC를 함유하였다. *엠. 마제이(M. mazei)*로부터의 직교성 tRNA 유전자를 코딩하는 플라스미드는, 그의 천연 서열 대신 AXC-매칭 안티코돈 GYT를 포함하며, 여기서 Y는 본원에 개시된 비천연 뉴클레오타이드이다. X 및 Y는 본원에 개시된 바와 같이 비천연 뉴클레오타이드 dTPT3 및 dNaM으로부터 선택되었다. 발현된 단백질을 봉입체로부터 추출하고, 표준 절차를 사용하여 다시 폴딩시키고, 그 후 DBCO-매개 구리 무함유 클릭 화학을 사용하여 AzK-함유 IL-2 생성물을 부위-특이적으로 PEG화하여 안정한 공유 mPEG 모이어티(30 kDa의 평균 분자량을 갖는 메톡시, 선형 PEG 기)를 AzK에 부착하였다(상기 반응식 S6에 요약된 바와 같음).

[1809] **IL-2R 알파에 결합하는 테스트 물품 샘플.** 용액의 테스트 물품 샘플을 IL-2R 알파 수용체 표면에 대한 결합에 대해 테스트하였다. 반응 데이터는 Scrubber-2(Biologic Software Pty Ltd)를 사용하여 완충액 주입의 평균뿐만 아니라 수용체가 없는 참조 표면에서 신호를 차감하여 처리하였다. rhIL-2 농도 시리즈에 대한 반응을 매스 수송을 위한 단계를 포함하여 1:1 상호작용 모델에 전체적으로 피팅하였다). 결합 상수에 대한 요약은 표 15에 제공한다.

[1810] [표 15]

	K _D (nM)	
	IL-2 R 알파	IL-2 R 베타
rhIL-2	11 ± 1	0.7 ± 1
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1	n.d.	3.1 ± 0.3

[1811]

[1812] **단백질 코팅된 CM4 센서 칩 상의 Fc-태그된 IL-2R 베타의 포획.** CM4 센서 칩을 Biacore 4000 광학 바이오 센서에 도킹하고 기기를 HBS-P 실행 완충액으로 3회 프라이밍하였다(HBS-P는 0.005% Tween-20이 추가된 1X HBS-N임). 단백질 A는 표준 NHS/EDC 커플링 조건을 사용하여 커플링하였다. IL-2R 베타-Fc를 물에 0.1 mg/ml의 농도로 용해시킨 다음 1/1000으로 HBS-P 실행 완충액에 희석하였다. IL-2R 베타-Fc는 2개의 다른 밀도 수용체 표면을 생성하기 위해 다른 기간 동안 주입하였다(대략 750 RU 및 1500 RU, 데이터는 미제시).

[1813] **IL-2R 베타에 결합하는 샘플의 특성화.** 용액의 테스트 물품 샘플을 IL-2R 베타 수용체 표면에 대한 결합에 대해 테스트하였다. 반응 데이터는 Scrubber-2(Biologic Software Pty Ltd)를 사용하여 완충액 주입의 평균뿐만 아니라 수용체가 없는 참조 표면에서도 신호를 차감하여 처리하였다. 이중으로 테스트된 rhIL-2(4 uM 최고 농도 2배 희석) 및 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 샘플(8 uM 최고 농도 2배 희석)에 대한 반응을 매스 수송을 위한 단계를 포함하여 1:1 상호작용 모델에 전체적으로 피팅시켰다. 결합 상수에 대한 요약은 표 15에 제공한다.

[1814] **결과.** His-태그된 IL-2R 알파는 Biacore SPR 바이오센서 시스템 내의 니켈 충전 NTA 센서 칩 상에서 상이한 밀도로 포획되었다. Fc-태그된 IL-2R 베타는 단백질 A 코팅된 CM4 센서 칩 상에서 상이한 밀도로 포획되었다. 반응 데이터를 1:1 상호작용 모델에 피팅시켜 각 상호작용에 대한 결합 상수를 결정하였다. 제조한 인간 IL-2(rhIL-2)는 대략 11 nM의 친화도로 IL-2R 알파에 결합된 반면, IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 샘플의 결합은 IL-2R 알파에 대해 검출할 수 없었다. rhIL-2는 대략 700 nM의 친화도로 IL-2R 베타에 결합하였고, IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 대략 3 uM의 친화도로 IL-2R 베타에 결합하였다(이 테스트 조건 하에서).

[1815] **실시예 10**

[1816] 전사 인자 STAT5(pSTAT5) 신호전달 효력 인간 1차 면역 세포 유형의 인산화된 형태에 대한 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 대 재조합 인간 인터류킨-2(hIL-2)의 효력 및 차별적인 세포 유형 특이성을 결정하기 위한 연구를 수행하였다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 앞서 기재된 바와 같고, 위치 64에서의 프롤린이 AzK_L1_PEG30kD로 대체된 SEQ ID NO: 50을 포함하며, 여기서 AzK_L1_PEG30kD는 화학식 IV 또는 화학식 V, 또는 화학식 IV와 화학식 V의 혼합물, 및 30 kDa, 선형 mPEG 사슬로 정의된다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 또한 위치 64에서의 프롤린 잔기(P64)가 화학식 VIII 또는 화학식 IX의 구조 또는 화학식 VIII과 화학식 IX의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다. 화합물 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1은 또한 위치 64에서의 프롤린 잔기(P64)가 화학식 XII 또는 화학식 XIII의 구조 또는 화학식 XII와 화학식 XIII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 3을 포함하는 화합물로 정의되며, 여기서, n은 PEG 기의 분자량이 약 30 kDa이도록 하는 정수이다. 실시예 2에 개시된 것과 유사한 방법을 사용하여 화합물을 제조하였으며, 여기서, 위치 64에서의 프롤린이 N^G-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신 AzK로 대체된 SEQ ID NO: 3을 갖는 단백질(SEQ ID NO: 35)을 먼저 제조하였다. 그 후, AzK-함유 단백질은 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켰다.

[1817] **인간 PBMC 샘플 처리 방법.** IL-2(대조군, 1 mg/mL) 및 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1("로트 1": 1.27 mg/mL; "로트 2": 2.29 mg/mL)의 스톡은 동결된 스톡 용액으로 -20℃에 보관하였다.

[1818] IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 로트 1 및 로트 2 화합물을 PBS에 희석하고 IL-2를 PBS + 0.1% BSA를 사용하여 희석하여 10X 스톡을 생성하였다. 10X IL-2 스톡 농도는 5 ug/ml이었고 GLP-1 및 GLP-2 스톡은 실험에 따라 6~300 µg/ml 사이였다. 10X 스톡을 연속 5배 희석으로 희석하여 10 포인트 용량 적정을 생성하였다. IL-2의 최고 용량은 5 µg/ml이었고 로트 1 및 로트 2 스톡은 실험에 따라 6~300 µg/ml 사이였다. 각 스톡의 10 µl를 90 µl의 세포 샘플에 첨가하여 500 ng/ml의 IL-2에 대한 최종 최고 용량 및 로트 1 및 로트 2 각각에 대해 0.6~30 µg/ml을 달성하였다.

[1819] **샘플 자극.** 자극을 위해, 위에서 개략적으로 설명한 용량 적정의 10 µl를 37℃까지 미리 평형화된 혈액 샘플 90 µl에 첨가하였다. 샘플을 37℃에서 45분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 기간 마지막에 적혈구를 용해시키고 세포를 다음과 같이 동시에 고정하였다.

[1820] 100 µl의 세포를 900 µl의 BD Lyse/Fix 완충액(Beckton Dickinson, 카탈로그 번호 558049)로 옮기고 즉시 볼텍싱하였다. BD Lyse/Fix는 첨가 직전에 스톡을 세포 배양수로 1:5로 희석하여 준비하였다. 샘플을 실온에서 10분 동안 인큐베이션한 다음, 450 x g에서 5분 동안 원심 분리하여 세포를 펠렛화하였다. 펠렛화 세포를 PBS+0.5% BSA로 세척하고 분석할 때까지 -37℃에서 보관하였다.

[1821] **염색 프로토콜.**

[1822] 단계 1. 실온에서 세포를 해동시켰다. 단계 2. Fc Block(TruStain FcX™)을 첨가하였다. 단계 3. 실온에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 단계 4. 표 16의 다음 항체를 첨가하였다.

[1823] [표 16]

인간 패널에 대한 항체

	형광단
CD4	BUV737
CD56	BV711
CD16	BV711
CD8	BUV805
CD27	BV786
CD45RA	BUV395
CD127	FITC
CD25	비오틴

[1824]

[1825] 단계 5. 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 단계 6. PBS + 0.5% BSA로 세포를 2회 세척하였다. 단계 7. 10 부피의 메탄올을 1 부피의 세포에 첨가하여 세포를 투과화시켰다. 단계 8. 세포를 4℃에서 10분 동안 인큐베이션하였다. PBS로 세척하였다. 단계 10. PBS w/0.5% BSA로 세포를 세척하였다. 단계 11. Fc Block(TruStain FcX™)을 첨가하였다. 단계 12. 표 17의 다음 투과화 후 염색 패널을 첨가하였다.

[1826] [표 17]

염색 시약

	형광단
CD3	PE-Cy7
STAT5	Ax647
스트렙타비딘	BV421
FOXP3	PE

[1827]

[1828] **유세포 분석 및 데이터 분석.** 5개의 레이저(372 nM, 405 nM, 488 nM, 561 nM, 및 640 nM)를 사용하여 Becton Dickinson Fortessa 및 LSR II 기기에서 샘플을 실행시켰다. 기기에는 산란 파라미터를 포함하여 20개의 검출기가 장착되었다. 기기는 Becton Dickinson Cytometer Setup 및 Tracking Beads를 사용하여 정기적으로 보정하였다. 염색된 샘플을 포함하는 96웰 플레이트를 96웰 고 처리량 샘플러를 사용하여 초당 8,000개 세포 미만으로 실행시켰다.

[1829] 데이터를 네트워크 드라이브에 .fcs 파일로서 익스포트하고 형광단의 유출을 설명하기 위해 보상하고 fcs 파일에 주석을 추가하였다. 그 다음, fcs 파일을 게이팅하였다. 세포는 FSC-A x FSC-H를 사용하여 단일선에서 먼저 게이팅하여 임의의 응집체 또는 이중선을 제외하였다. 이 게이트 내에서 세포는 중간 내지 고 전방 산란기(FSC-A) 및 측면 산란기(SSC-A)에서 게이팅하여 적혈구, 파편 및 과립구를 제외하였다. 그 후 T 세포는 CD3+, CD56/16 음성 집단 제3 패널로서 게이팅되었다. NK 세포는 CD3 음성, 고 CD56/16 집단, 제3 패널로 확인되었다. 그 후 T 세포를 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포로 나누었다. 그 후 Treg 세포는 CD25^{hi} x C127^{lo} 집단으로서 CD4+ T 세포로부터 게이팅되었다.

[1830] **EC50 값의 유도를 위한 통계 및 플롯팅.** 각 세포 집단, 공여자, 및 화합물 처리에 대한 중앙 형광 강도(MFI)를 인산화 검출 채널의 신호로부터 계산하였다. 통계는 Spotfire를 사용하여 분석하였다. Spotfire 내에서, 데이터는 화합물 용량에 대한 로그 스케일과 MFI 관독값에 대한 선형 스케일로 플롯팅하였다. 이 데이터는 4-파라미터 로지스틱 회귀 방정식을 사용하여 피팅시켰다. 곡선의 변곡점으로 EC50을 계산하였다.

[1831] **결과.** 인간 IL-2 및 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 샘플을 회석하고 전술한 바와 같이 3명의 개별 공여자 각각에

대해 삼중으로 테스트하였다. 계산된 최대 절반 유효 농도(EC50) 값은 표 19에 나열한다. 결과는 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1이 인간의 림프구에서의 IL-2 수용체 신호전달의 강력한 작용제임을 입증한다. IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1이 IL2R α 가 아닌 IL-2R β 서브유닛에 특이적으로 결합한다는 것을 보여준 이전의 시험관 내 결합 연구와 일치하여, 이것은 높은 수준의 IL-2R α 를 구성적으로 발현하지 않는 Teff 및 NK 세포와 비교하여 효력에 대해 IL-2R α 결합에 의존하는 Treg 세포에서의 특이적으로 감소된 신호전달 효력을 입증하였다.

[표 18]

인간 공여자로부터의 1차 CD8 + T 세포, NK 세포, 및 Treg 세포 하위 집단에 대한 hIL-2 및 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 로트에 대한 효력의 특성화.

인간 세포 EC50 (ng/mL)					
재료	CD8+ T	기억 CD8+ T	NK	Treg	CD8/Treg 비율
인간 IL-2	12.4 ± 1.29	11.3 ± 1.63	2.88 ± 1.63	0.027 ± 0.005	460
로트 1*	224 ± 25.3	240 ± 27.3	54.7 ± 6.55	114 ± 20.3	2.0
로트 2*	265 ± 12.4	284 ± 18.3	55.7 ± 8.62	132 ± 24.0	2.0

데이터는 3명의 독립적인 공여자의 샘플을 삼중으로 테스트하여 계산된

평균 ± 평균의 표준 오차 (SEM)이다.

*IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1.

실시예 11

CT-26 종양-보유 Balb/c 마우스의 치료에서 화합물 A와 관문 억제제의 용도. 위치 65에서의 프롤린 A6-((2-아지도에톡시)-카르보닐)-L-리신(AzK)로 대체된 SEQ ID NO: 4를 갖는 단백질(SEQ ID NO: 10)을 먼저 제조함으로써 본원에 개시된 방법에 따라 화합물 IL-2_P65[AzK_PEG30kD](본원에서 "P65_30kD"라고도 하고, 도면에서 "화합물 A"라고도 함)를 제조하였다. 그 후 AzK-함유 단백질을 클릭 화학 조건 하에서 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기를 포함하는 DBCO와 반응시켜 화학식 II, 화학식 III, 또는 화학식 II와 화학식 III의 혼합물을 포함하는 SEQ ID NO: 25을 갖는 생성물을 수득하였으며, 여기서, W는 평균 분자량이 30 kDa인 메톡시, 선형 PEG 기이다. 이 화합물은 또한 위치 65에서의 프롤린(P65)이 화학식 VI 또는 화학식 VII의 구조, 또는 화학식 VI와 화학식 VII의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다. 이 화합물은 또한 위치 65에서의 프롤린(P65)이 화학식 X 또는 화학식 XI의 구조, 또는 화학식 X와 화학식 XI의 혼합물로 대체된 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 정의될 수 있으며, 여기서, n은 PEG 기가 약 30 kDa의 분자량을 갖도록 하는 정수이다.

단독요법으로서 및 항-PD-1 항체와 조합된 화합물 A의 연구를 Balb/c 암컷 마우스에서 수행하였다. 평균 체중이 16 g 내지 21 g인 6~8주령의 Balb/c 암컷 마우스를 연구 1 및 2를 위해 Jackson Laboratories(Sacramento, CA)에서 구입하였다. 평균 체중이 18 g 내지 22 g인 7~8주령의 Balb/c 암컷 마우스를 연구 3을 위해 HD Biosciences에 의한 Taconic Biosciences로부터 구입하였다. CT-26 결장암 세포의 극저온 보존 바이알은 American Tissue Type Collection(ATCC, Manassas, VA)에서 구입하였다. 세포를 해동하고, 제조업체의 프로토콜에 따라 배양하였다. 종양 세포 접종일에, 세포를 무혈청 배지에서 세척하고 계수한 다음, 0.1 mL당 250,000 개(연구 1 및 2) 또는 300,000개(연구 3)의 농도로 차가운 무혈청 배지에 재현탁했다. CT-26 세포(0.1 mL)를 개별 마우스의 옆구리에 피하 주사하고 종양을 성장시켰다.

화합물 A 및 항-PD-1 항체의 조합이 사용된 연구 1 및 2의 경우, 사용된 항체는 항-마우스 PD-1(BioXcell; RMP1-14)이고, 대조군 항체는 IgG1 이소형 항체(BioXcell; 카탈로그 #BP0089, lot #2A3)이었다. 항-PD-1 항체가 사용된 연구 3의 경우, 사용된 항체는 항-마우스 PD-1(BioXcell; catalog #BP0146, RMP1-14, lot #695318A1)이고, 대조군 항체는 IgG1 이소형 항체(BioXcell; 카탈로그 #BP0089, lot #2A3)이었다.

0.1 M 아세트산을 사용하여, 동결건조된 화합물 A를 10 mg/mL 스탁으로 재구성하였다. 그런 다음 1x 인산염 완충 식염수(PBS)를 사용하여 작업 농도로 추가 희석했다. 화합물을 재구성하고, 동물에게 투여하는 1시간 이내에 희석하고, 투여할 때까지 얼음 위에 보관하였다. 동결건조된 화합물은 사용 전에 -80°C에서 보관하였다. 비히클을 4°C에서 보관하였다.

CT-26 종양-보유 Balb/c 마우스를 사용하여 3개의 개별 효능 연구를 수행하였다. 단일 제제로서 용량-의존적 효능에 대해 화합물 A를 평가한 연구 1에 대한 설계가 표 19에 요약되어 있다. 항-PD-1 항체와 조합된 화합물 A의 효능을 평가한 연구 2 및 3에 대한 설계가 각각 표 20 및 표 21에 요약되어 있다. 화합물 A의 투여 경로는 정맥

내(IV)였다. 마우스에서 IV 투여는 꼬리 정맥을 통해 수행되었다. 항체를 복강내(IP) 투여하였다. 모든 제제는 각 투여 직전에 얻은 각 동물의 개별 체중에 기반하여 투여하였다. 투여 요법에 대한 세부사항은 하기에 기재되어 있다.

[표 19]

연구 #1: CT-26 종양-보유 마우스에서 대조군 및 시험 치료군.

제제	용량 (mg/kg)	경로, 일정	마우스의 수
비히클 대조군	0	IV, QWx3	10
화합물 A	0.3	IV, QWx3	10
화합물 A	0.3	IV, Q2Wx2	10
화합물 A	1	IV, QWx3	10
화합물 A	1	IV, Q2Wx2	10
화합물 A	3	IV, QWx3	10
화합물 A	3	IV, Q2Wx2	10

IV = 정맥내; QWx3 = 총 3회 투여에 대해 주 1회; Q2Wx2 = 총 2회 투여에 대해 2주에 1회.

[표 20]

연구 #2: CT-26 종양-보유 마우스에서 대조군 및 시험 치료군.

제제	용량 (mg/kg)	경로, 일정	마우스의 수
비히클 대조군 + IgG 이소형 대조군	0 + 10	IV, QWx3 + IP, BIWx3	14
화합물 A	3	IV, QWx3	14
화합물 A	6	IV, QWx3	14
항-PD-1 항체	10	IP, BIWx3	14
화합물 A + 항-PD-1 항체	6 + 10	IV, QWx3 + IP, BIWx3	14

BIWx3 = 총 6회 투여로 3주 동안 주 2회; IP = 복강내; IV = 정맥내;
QWx3 = 총 3회 투여에 대해 주 1회.

[표 21]

연구 #3: CT-26 종양-보유 마우스에서 대조군 및 시험 치료군.

제제	용량 (mg/kg)	경로, 일정	마우스의 수
비히클 대조군 + IgG 이소형 대조군	0 + 10	IV, QWx3 + IP, BIWx3	14
화합물 A	1	IV, QWx3	14
화합물 A	3	IV, QWx3	14
화합물 A	6	IV, QWx3	14
화합물 A	9	IV, QWx3	14
항-PD-1 항체	10	IP, BIWx3	14
화합물 A + 항-PD-1 항체	1 + 10	IV, QWx3 + IP, BIWx3	14
화합물 A + 항-PD-1 항체	3 + 10	IV, QWx3 + IP, BIWx3	14
화합물 A + 항-PD-1 항체	6 + 10	IV, QWx3 + IP, BIWx3	14

BIWx3 = 총 6회 투여로 3주 동안 주 2회; IP = 복강내; IV = 정맥내;
QWx3 = 총 3회 투여에 대해 주 1회; Q2Wx2 = 총 2회 투여에 대해 2주에 1회.

연구 1에서, CT-26 종양-보유 마우스는 평균 종양 부피가 약 80 mm^3 인 경우 종양 세포 집중 후 4일차부터 시작

하여, 총 3회 용량에 대해 주 1회(QWx3)로 비히클 IV 또는 총 3회 용량에 대해 주 1회(QWx3)로, 또는 총 2회 용량에 대해 2주마다 1회(Q2Wx2)로 0.3, 1 또는 3 mg/kg IV로 화합물 A를 사용하여 처리하였다.

- [1847] 연구 2에서, CT-26 종양-보유 마우스는 평균 종양 부피가 약 80 mm^3 인 경우 종양 세포 접종 후 5일째에 치료받았다. QWx3 투여 일정에 따라 비히클 IV QWx3 + IgG 이소형 대조군 IP 또는 화합물 A 3 또는 6 mg/kg IV, 또는 항-PD-1 항체 10 mg/kg IP, 또는 화합물 A 6 mg/kg IV QWx3 + 항-PD-1 항체 10 mg/kg IP의 조합물을 투여하였다. 모든 경우에 항체의 IP 투여는 총 6회 투여로 3주 동안 주 2회(BIWx3)였다.
- [1848] 연구 3에서, CT-26 종양-보유 마우스는 평균 종양 부피가 약 70 mm^3 인 경우 종양 세포 접종 후 7일째에 치료받았다. QWx3 투여 일정에 따라 비히클 IV QWx3 + IgG 이소형 대조군 IP BIWx3; 또는 화합물 A 1, 3, 6, 또는 9 mg/kg IV, 또는 항-PD-1 항체 10 mg/kg IP BIWx3; 또는 화합물 A 1, 3, 또는 6 mg/kg IV QWx3 + 항-PD-1 항체 10 mg/kg IP BIWx3의 조합을 투여하였다.
- [1849] 세 연구 모두의 요약이 표 22에 개시되어 있다. 동물들의 임상 징후에 대해 매일 관찰하였다. IACUC 지침에 따라, 종양이 부피 기준 2000 mm^3 초과로 자라거나 상태가 계속 악화되거나 중증의 고통 및/또는 통증의 명백한 징후가 관찰되는 경우 동물을 인도적으로 안락사시켰다.
- [1850] 각 마우스의 생존은 100일 이상 동안 모니터링되었으며, 이때 연구 2 및 3에서 생존한 무종양 동물은 2개월 간격으로 2주기 동안 연구의 재챌린지 지속에 포함되었다. 구체적으로, 무종양 동물은 반대쪽 아래쪽 옆구리에 같은 유형의 종양 세포(CT-26)를 접종하여 재챌린지받았다. 대조군 동물은 반대쪽 아래쪽 옆구리에 같은 수의 CT-26 종양 세포를 동시에 접종받은 연령-일치된 나이브 마우스였다.
- [1851] 연구가 끝날 때까지 3 내지 4일마다 디지털 캘리퍼 측정을 사용하여 종양 성장을 모니터링하였다. 종양 부피는 $\text{너비}^2 \times \text{길이} / 2$ 로 계산되었으며, 여기서 너비는 가장 작은 치수이고 길이는 가장 큰 치수이다. 원시 종양 부피 데이터는 연구 보고서에 제시된다.
- [1852] 각 그룹에 대한 평균 종양 부피 데이터는 막대의 평균 표준 오차(SEM)로 시간 경과에 따라 플롯팅되었다. 또한, 동물 희생 전 마지막 날에 대한 개별 종양 부피 데이터를 평균 및 SEM 막대와 함께 플롯팅하여 데이터 분포를 조사하였다.
- [1853] 사용하는 GraphPad Prism v.7.0을 사용하여 동물 희생 전 마지막 날에 대한 종양 부피 데이터의 통계적 분석을 수행하였다. 일원 ANOVA를 사용하여 데이터의 유의성을 분석하였다. 쌍대 비교는 Tukey의 테스트 절차(양측)를 사용하여 이루어졌다. 각 개별 비교에 대한 p-값이 보고되었다.
- [1854] 각 처리군 대 대조군에서 종양 성장 억제율(%TGI)은 다음과 같이 계산하였다:
- [1855]
$$[(\text{대조군} - \text{대조군 기준선}) - (\text{처리된} - \text{처리된 기준선})] / (\text{대조군} - \text{대조군 기준선}) \times 100\%.$$
- [1856] 각 마우스의 생존을 기록하고 처리군별 생존을 나타내기 위해 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 플롯을 생성하고, 로그-순위(Mantel-Cox) 테스트에 의해 유의성을 평가하였다. 연구 #1, #2 및 #3에서 치료 개시 후 100일 이상 동안, 그리고 연구 #2 및 #3에서 생존하는 무종양 마우스에서 2회의 재챌린지 주기 동안 생존을 모니터링했다. GraphPad Prism 버전 7.0을 사용하여 분석을 수행하였다.

[1857] [표 22]

화합물 A를 단독요법으로서 및 항-마우스 PD-1 항체와 병용한 마우스에서의 종양 성장 억제.

	화합물 A 용량 [항체 용량 ^a] (mg/kg)	%TGI (비히클 대조군 대비)			
		연구 #1		연구 #2	연구 #3
		QWx3	Q2Wx2	QWx3	QWx3
화합물 A 단일요법	0.3	19	20	-	-
	1	31	27	-	30
	3	51*	45*	56	59***
	6	-	-	36*	86***
	9	-	-	-	85***
	항체 [10]	-	-	44 [#]	44 [#]
병용 요법 ^b	6 + [10]	-	-	75**	84**

^a 3주 동안 BIW 투여(총 6회 투여); ^b 1 및 3 mg/kg 화합물 A 조합 그룹에 대한 데이터는 표시되지 않음.

%TGI는 15일차(연구 1) 및 17일차(연구 2 및 3)에 계산되었음.

결과는 평균 ± SEM이다.

[1858]

[1859] QWx3 = 총 3회 투여에 대해 주 1회; Q2Wx2 = 총 2회 투여에 대해 2주에 1회; TGI = 종양 성장 억제. * p<0.05 대 비히클 대조군; ** p<0.05 대 단일요법(화합물 A 또는 항체); *** p<0.001 대 비히클 또는 항체 이소타입 대조군; [#] p<0.01 대 항체 이소형 대조군.

[1860]

연구 1에서, 화합물 A는 피하로 확립된 CT-26 결장 종양을 보유한 암컷 Balb/c 마우스에서 단일 제제로서의 용량-의존적 효능에 대해 평가되었다. 이 연구는 대조군의 여러 종양이 부피가 2000 mm³ 초과에 도달했을 때 IACUC에서 제시한 인도적 평가변수에 따라 처리 시작 후 15일차에 공식적으로 종료되었다. 도 1은 화합물 A로 QWx3 투여를 처리한 그룹에 대한 시간 경과에 따른 평균 종양 부피를 나타낸다. 도 2는 화합물 A로 QWx3 투여를 처리한 각 동물에 대한 처리 후 15일차의 종양 부피를 나타낸다. 도 3은 화합물 A로의 Q2Wx2 투여를 처리한 그룹에 대한 시간 경과에 따른 평균 종양 부피를 나타낸다. 도 4는 화합물 A로의 Q2Wx2 투여한 각 동물에 대한 처리 후 15일차의 종양 부피를 나타낸다.

[1861]

QWx3 투여 일정에서, 화합물 A는 0.3, 1, 및 3 mg/kg 투여군, 각각에 대해 31%, 19% 및 52%의 비히클 대조군과 대비되는 %TGI를 초래하는 용량-의존적 단일 제제 항종양 활성을 나타내었다. 유사하게, Q2Wx2 투여 일정에서, 화합물 A는 0.3, 1, 및 3 mg/kg 투여군, 각각에 대해 20%, 27% 및 45%의 비히클 대조군과 대비되는 %TGI를 초래하는 용량-의존적 단일 제제 항종양 활성을 나타내었다. 그러나, 두 투여 일정 모두에서 3 mg/kg 투여량만이 비히클 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하였다(p < 0.05). 두 투여 일정 모두 비슷한 항종양 활성을 나타내었다. 따라서, 이 마우스 모델에 대한 후속 연구를 위해, QWx3 투여 일정을 선택하였다.

[1862]

도 1, 3, 5, 및 8에서, 검정색 화살표는 화합물 A 투여 일수를 표시한다. 도 1 및 3의 데이터는 화합물 A로 QWx3 투여 및 Q2Wx2 투여에 따른 평균 종양 성장 곡선이고; 검정색 화살표는 화합물 A 투여 일수를 표시한다. 도 2 및 4의 데이터는 화합물 A로 QWx3 및 Q2Wx2 투여 후 15일차에 개별 종양 부피 및 평균 종양 부피 ± 평균 표준 오차(SEM)(10마리 마우스/그룹)를 나타낸다. 데이터는 개별 종양 부피를 나타내고; 비히클 대조군 대비 평균 ± SEM 및 %TGI도 표시된다.

[1863]

도 3의 데이터는 화합물 A로 Q2Wx2 투여를 받은 동물에서 평균 종양 부피 ± 평균 표준 오차(SEM)(10마리 마우스/그룹)를 나타낸다. 도 4의 데이터는 화합물 A로 Q2Wx2 투여로 치료 후 15일차의 개별 및 평균 종양 부피 데이터를 나타낸다. * p<0.05 대 15일째의 비히클 대조군.

[1864]

화합물 A를 단일 작용제로서, 그리고 무린 항-PD-1 관문 억제제 항체와 조합하여 평가하기 위해 CT-26 결장 종양-보유 마우스에서 2개의 개별 연구(연구 2 및 3)를 수행하였다. 연구 사이의 화합물 A에 대한 투여량 범위는 겹쳤으며, 연구 3은 더 넓은 투여량 범위를 가졌다. 두 연구에서, 화합물 A는 QWx3 투여되었고, 항체의 동일한 용량 수준은 BIWx3 투여되었다.

- [1865] 연구 2에서, 화합물 A의 항종양 활성은 피하에 확립된 CT-26 결장 종양을 보유한 암컷 Balb/c 마우스에서 3 및 6 mg/kg(QWx3)에서 단일 제제로서 평가되었다. 추가로, 조합 항종양 활성은 6 mg/kg(QWx3)의 화합물 A 및 10 mg/kg IP(BIWx3)의 항-PD-1 항체의 IV 투여로 평가하였다. 비히클 대조군의 여러 종양이 부피 기준 2000 mm³ 초과에 도달했기 때문에 %TGI는 처리 개시 후 15일차에 계산하였다. 그러나, 완전한 종양 퇴행을 입증한 처리군의 동물은 1주일에 1회 또는 2회의 빈도로 종양 측정을 수행했다.
- [1866] 화합물 A는 3 및 6 mg/kg 투여군, 각각에 대해 56.3% 및 35.6%의 비히클 대조군과 대비되는 %TGI를 초래하는 단일 제제 항종양 활성을 나타내었다. 조합 연구에서, CT-26 종양-보유 마우스는 6 mg/kg QWx3의 화합물 A로 IV, 또는 항-PD-1 항체 BIWx3으로 IP, 또는 평균 종양 부피가 약 80 mm³일 때 종양 세포 접종 후 5일에 시작하여 동일한 투여 일정으로 조합으로 처리하였다. 비히클, 단일 제제로서의 6 mg/kg의 화합물 A, 단일 제제로서의 항-PD-1 항체, 및 6 mg/kg 화합물 A와 항-PD-1 항체의 조합으로의 마우스 치료에 대한 평균 종양 성장 곡선은 **도 5**에 도시되어 있다. **도 5**의 데이터는 평균 종양 부피 ± SEM(14마리 마우스/그룹)을 나타낸다. 위쪽 화살표는 화합물 A 투여일을 나타내고, 아래쪽 화살표는 항-PD-1 항체 투여일을 나타낸다. 복합 항종양 활성은 화합물 A 또는 항-PD-1 항체 단독과 비교하여 유의하게 향상되었다(p<0.05). %TGI 데이터는 **도 6**에 도시되어 있으며, 비히클, 화합물 A 단독 또는 항-PD-1 항체 단독으로 처리된 군과 비교하여, 화합물 A와 항-PD-1 항체의 조합으로 처리된 군에서 처리 후 15일째에 상당한 항종양 효과를 나타낸다(화합물 A 단독 그룹의 경우 35.6%, 항-PD-1 항체 단독 그룹의 경우 44.1%, 및 화합물 A와 항-PD-1 항체의 조합 투여 그룹의 경우 74.6%). 데이터는 개별 종양 부피를 나타내며; 비히클 대조군 대비 평균 ± SEM 및 %TGI도 표시된다. *p<0.05, **p<0.01, 및 ***p<0.01; 대 비히클 대조군. [†]p<0.05 대 항-PD-1 항체. #p<0.05 대 화합물 A. 그룹의 종양 생존 시간은 **도 7**에 도시되어 있으며, 대조군, 화합물 A, 항-PD-1 항체 및 화합물 A + 항-PD-1 항체 그룹에 대해 각각 17, 27, 27.5 및 38일이었다. 조합 그룹의 종양 생존 시간은 화합물 A(p<0.05) 및 항-PD-1 항체(p<0.05) 단일 제제 처리 그룹 모두보다 유의하게 더 길었다. 처리 후 98일에, 화합물 A 및 항-PD-1 항체 용량 그룹 각각에서 14마리 동물 중 1마리(7%)만이 무종양으로 생존한 반면, 조합 그룹의 14마리 동물 중 4마리(29%)는 무종양으로 생존하였다. **도 7**의 데이터는 처리군에 대한 카플란-마이어 생존 곡선을 나타낸다. *p<0.05 대 비히클 대조군. [†]p<0.05 대 항-PD-1 항체. #p<0.05 대 화합물 A.
- [1867] 연구 3에서, 화합물 A의 단일 제제 항종양 활성은 SC CT-26 결장 종양을 보유한 암컷 Balb/c 마우스에서 보다 넓은 용량 범위(1, 3, 6 및 9 mg/kg)에서, 동일한 IV QWx3 투여 일정에 대한 연구 2와 비교하여 평가하였다. **도 8**의 데이터는 화합물 A에 단일 제제를 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 및 9 mg/kg으로 투여했을 때의 평균 종양 성장 곡선을 나타낸다. 데이터는 평균 종양 부피 ± SEM을 나타낸다(14마리 마우스/그룹; 9 mg/kg의 화합물 A의 경우 12마리 마우스/그룹 제외). 검정색 화살표는 화합물 A 투여 일수를 표시한다. 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 및 9 mg/kg으로 단독으로 투여된 화합물 A는 또한 1, 3, 6 및 9 mg/kg 용량 그룹에 대해 각각 29.8%, 58.8%, 86.2% 및 84.8%의 비히클 대조군과 대비되는 %TGI를 초래하는 용량-의존적 항종양 활성을 나타내었다(**도 9**). 비히클 대조군의 여러 종양이 2000 mm³ 초과에 도달했기 때문에 %TGI는 처리 개시 후 15일차에 계산하였다. 그러나, 완전한 종양 퇴행을 입증한 처리군의 동물은 1주일에 1회 또는 2회의 빈도로 종양 측정을 수행했다. **도 9**의 데이터는 치료 후 15일째의 개별 종양 부피를 나타낸다. 데이터는 개별 종양 부피를 나타내며; 비히클 대조군 대비 평균 ± SEM 및 %TGI도 표시된다. ***p<0.01 대 비히클 대조군. 최저 용량(1 mg/kg)은 통계적으로 유의한 항종양 활성을 나타내지 않은 반면, 다른 3개의 용량 그룹은 비히클 처리군과 비교하여 통계적으로 유의하였다(p<0.001). 데이터는 또한 2개의 고용량 그룹(6 mg/kg 및 9 mg/kg)에 대한 %TGI가 유사하여 최대 항종양 활성이 6 mg/kg 용량에 도달했음을 나타낸다. 9 mg/kg 용량 그룹에서, 14마리 동물 중 2마리가 치료로 인한 15% 초과 체중 감소 후 죽은 채로 발견되었다.
- [1868] 연구의 조합 단계에서, 1, 3 또는 6 mg/kg(QWx3)의 화합물 A에 10 mg/kg IP(BIWx3)의 항-PD-1 항체를 투여하였다. CT-26 종양-보유 마우스는 1, 3, 6, 또는 9 mg/kg QWx3의 화합물 A로 IV, 또는 항-PD-1 항체 BIWx3으로 IP, 또는 평균 종양 부피가 약 70 mm³일 때 종양 세포 접종 후 7일에 시작하여 동일한 투여 일정으로 조합으로 처리하였다. 9 mg/kg의 화합물 A 단일 제제 그룹의 경우 2마리의 동물이 15% 초과 체중 감소 후 죽은 것으로 발견되었으며, 분석에 포함되지 않았다. 1 mg/kg 화합물 A + 항-PD-1 항체의 조합으로, 생존 데이터를 기반으로 하여 추가적인 항종양 활성이 관찰되지 않았다. 처리 후 화합물 A 일제, 항-PD-1 항체 그룹의 동물 14마리 중 1마리(7%)가 생존한 반면, 3 mg/kg 단일 제제 그룹의 동물 중 0마리가 생존했다. 그러나, 3 mg/kg 화합물 A + 항-PD-1 항체 그룹에서는, 14마리 동물 중 2마리(14%)가 화합물 A일까지 생존하였다. **도 10**에 도시된 바와 같이,

6 mg/kg 화합물 A + 항-PD-1 항체의 조합은 각각의 단일 제제 단독에 비해 연장된 생존을 초래하였다. 중앙 생존 시간은 비히클 대조군, 화합물 A(6 mg/kg), 항-PD-1 항체(10 mg/kg), 및 화합물 A + 항-PD-1 항체 그룹(6 mg/kg 화합물 A 및 10 mg/kg 항-PD-1 항체)에 대해 21, 35, 24.5 및 49일이었다. 조합 그룹의 중앙 생존 시간은 화합물 A 및 항-PD-1 항체($p < 0.05$) 단일 제제 처리 그룹보다 유의하게 더 길었다. 구체적으로, 처리 후 화합물 A 일예, 6 mg/kg 화합물 A 그룹의 동물 중 0마리가 생존한 반면, 항-PD-1 항체 그룹의 동물 14마리 중 1마리(7%)만이 무종양 생존하였다. 그러나 조합 그룹에서는 14마리 중 5마리(36%)의 동물이 무종양 생존하였다($p < 0.05$). 도 10의 데이터는 처리군에 대한 카플란-마이어 생존 곡선을 나타낸다. * $p < 0.05$ 대 비히클 대조군. $\dagger p < 0.05$ 대 항-PD-1 항체. # $p < 0.05$ 대 화합물 A.

[1869] 실시예 12

[1870] 전혈 사이토카인 방출 분석

[1871] 6명의 건강한 공여자로부터의 인간 전혈 샘플을 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1(화합물 B) 또는 IL-2 단독 또는 PEM("웹프로" 또는 웹브롤리주맵) 또는 NIVO(니볼루맵)과의 조합의 연속 적정과 함께 24시간 동안 인큐베이션하였다. 상등액으로 처리 후 전혈에서 방출된 사이토카인을 6가지 분석물질(IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- α)에 대한 Meso Scale Discovery (MSD) U-plex 키트를 사용하여 측정하였다.

[1872] 프로토콜.

[1873] 6명의 건강한 공여자로부터 헤파린관의 혈액을 The Scripps Research Institute (TSRI; San Diego, CA) 혈액 공여자 서비스로부터 입수했다. 샘플은 수집 당일에 테스트되었으며; 하루에 공여자 1~3, 또 다른 날에 공여자 4~6 테스트하였다.

[1874] 인간 전혈을 다양한 농도의 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1, 및 90 $\mu\text{g/mL}$ 의 웹브롤리주맵 또는 127 $\mu\text{g/mL}$ 의 니볼루맵(임상 용량의 예상 C_{max} 값)과 함께 인큐베이션하였다.

[1875] 전혈을 먼저 RPMI 1640 배지로 2배 희석하였다. 180 μL 의 미리 희석된 전혈을 96-웰 조직 배양 플레이트에 시딩했다. 그런 다음, 화합물의 10x 최종 테스트 농도 20 μL 를 분석 플레이트에 추가했다. 테스트 조건에는 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1(4.5 $\mu\text{g/mL}$, 1.5 $\mu\text{g/mL}$, 0.8 $\mu\text{g/mL}$, 0.45 $\mu\text{g/mL}$, 및 0.2 $\mu\text{g/mL}$) 또는 IL-2(0.8 $\mu\text{g/mL}$, 0.45 $\mu\text{g/mL}$, 0.2 $\mu\text{g/mL}$, 0.1 $\mu\text{g/mL}$, 및 0.03 $\mu\text{g/mL}$)의 연속 적정 및 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 또는 IL-2 플러스 90 $\mu\text{g/mL}$ PEM 또는 127 $\mu\text{g/mL}$ NIVO의 연속 적정이 포함되었다. 또한, 분석의 검출 및 사양을 보여주기 위해 양성 및 음성 대조군이 포함되었다: 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 사전 코팅된 Ultra LEAF 마우스 항-인간 CD3을 분석을 위한 양성 대조군으로 사용하였다. 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 사전 코팅된 Ultra LEAF 마우스 IgG1, κ 는 위의 항-인간 CD3에 대한 이소형 대조군이다. IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 제형 완충액만이 분석에 대한 음성 대조군이었다. 어떤 처리도 분석에 대한 음성 대조군으로 사용되지 않았다.

[1876] 화합물(들)을 웰에 첨가한 후, 혈액을 37°C에서 인큐베이션하였다. 샘플을 원심분리한 후, 처리 24시간 후 상층액을 채취하여 -80°C에서 보관한 후 분석하였다. 분석에서 방출된 인간 사이토카인(IFN- γ , TNF- α , IL-8, IL-6, IL-5, IL-4)을 MSD U-plex 키트로 정량화하였다. 분석에 대한 최저 검출 한계는 아래 표에 나열되어 있다. 각 플레이트의 검출 한계는 MSD 소프트웨어인 Discovery 워크벤치에서 보고된다. 각 플레이트에는 약간 상이한 검출 한계가 있다.

[1877] 재료

[1878] [표 23]

사용된 재료 및 출처.

재료	공급업체	카탈로그 #	제형	스톡
IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 파일롯 2 #0590-164	사이토반스(Cytovance)	해당 없음	제형 완충제	2.18 mg/mL
제형 완충제: 10 mM 히스티딘 pH 6.0, 5% 소르비톨, 0.01% 폴리소르베이트 80	사이토반스(Cytovance)	해당 없음	해당 없음	해당 없음
IL-2	R&D Systems	202-IL-500	0.1M 아세트산	1 mg/mL
Biolegend Ultra-LEAF™ 정제된 항-인간 CD3(UCHT1)	Biolegend	300438	PBS	1 mg/mL
Biolegend Ultra-LEAF™ 정제된 마우스 IgG1, κ 이소형 대조군(MOPC-21)	Biolegend	400166	PBS	1 mg/mL
펄브롤리주맵(PEM)	Selleckchem	A200502	PBS	9.97 mg/mL
Ultra-LEAF™ 정제된 인간 IgG4 이소형 대조군 재조합 항체	Biolegend	403702	PBS	1 mg/mL
U-plex 바이오마커 그룹 1(인간 IFN-γ, TNF-α, IL-10, IL-6, IL-4, IL-5)	Meso Scale Discovery (MSD)	K15067L-2	해당 없음	해당 없음
Gibco™ RPMI 1640 배지, HEPES	Gibco™	22400089	해당 없음	해당 없음
Falcon™ 폴리스티렌 마이크로플레이트, 96 웰, TC 처리됨	Corning	353072		

[1879]

[1880] 결과.

[1881] IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 및 IL-2는 24시간 처리에서 IFN-γ의 용량-의존적 유도를 유도했지만, 분석에서 시험된 다른 5가지 사이토카인(IL4, IL5, IL8, TNFα, IL6)의 유의한 방출을 유도하지 않았다. 펄브롤리주맵 또는 니블루맵과 조합하여, IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1 및 IL-2(R&D)는 모두 연구에서 시험된 사이토카인 프로파일(IFN-γ, IL-4, IL-5, IL-8, TNF-α, IL-6)에 대한 유의한 변화를 야기하지 않았다. 개별 공여자에 대한 데이터는 표 24-32에 나열되어 있다. 단일 공여자에 대한 대표적인 그래프가 도 11a 내지 도 11b에 도시되어 있다.

[1882] [표 24]

IFN-γ 및 IL-6 수준에 대한 대조군 조건.

처리	농도 ug/ml	IFN-γ						IL-6					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
화합물 B 제형 완충제	n/a	43.91	8.77	7.75	9.31	268.77	13.03	2.77	0.68	1.31	0.49	5.60	0.73
처리 없음 (배양 배지)	n/a	21.58	5.12	8.35	7.03	288.70	11.78	0.93	0.31	0.99	2.23	4.53	1.28
IgG4 이소형 대조군	50	33.42	29.17	7.86	12.79	262.93	10.33	4.73	0.47	1.50	0.56	8.54	21.30
마우스 IgG1,κ	100	21.75	BDL	7.19	6.44	94.74	132.02	1.64	0.88	0.89	0.71	4.27	1.85
펄브롤리주맵	90	52.78	9.62	8.80	11.71	301.71	10.08	1.09	0.39	0.92	0.65	8.95	1.06
니블루맵	127	29.77	9.34	6.61	7.56	256.75	9.51	1.28	0.48	1.09	0.59	3.29	0.62
코팅된 항-CD3	100	13095.85	110278.12	2890.41	12415.49	46221.98	137695.00	279.20	106.57	20.18	66.79	452.34	1414.77

BDL = 검출 한계 미만

[1883]

[1884] [표 25]

IL-5 및 IL-8 수준에 대한 대조군 조건.

처리	농도 ug/ml	IL-8						TNF- α					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
화합물 B 제형 완충제	n/a	48.07	8.77	39.07	39.28	143.62	30.69	4.17	0.68	1.2	1	5.82	1.04
처리 없음 (배양 배지)	n/a	20.56	8.77	7.84	27.93	78.91	23.45	3.03	0.68	1.24	1.11	5.61	1.25
IgG4 이소형 대조군	50	37.11	12.77	9.58	24.88	91.61	BDL	2.66	1.33	1.82	0.75	6.58	0.91
마우스 IgG1.k	100	20.37	7.42	7.92	22.37	57.12	24.8	1.42	0.27	0.14	0.69	3.44	BDL
펄브롤리주맵	90	22.01	8.48	11.36	23.29	95.5	28.32	2.33	0.68	1.67	0.97	5.88	1.43
니볼루맵	127	20.59	7.68	7.95	22.61	67.38	19.68	2.35	0.44	1.33	1.21	4.89	BDL
코팅된 항-CD3	100	5211.87	1780.7	1346.96	4031.78	5306.3	10117.33	475.92	2519.34	136.1	894.5	1187.77	3780.63

BDL = 검출 한계 미만

[1885]

[1886] [표 26]

TNF- α 및 IL-4 수준에 대한 대조군 조건.

처리	농도 ug/ml	IL-5						IL-4					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
화합물 B 제형 완충제	n/a	0.71	0.06	0.59	BDL	BDL	BDL	0.05	0.06	0.08	0.09	BDL	BDL
처리 없음 (배양 배지)	n/a	0.81	0.14	0.87	BDL	BDL	BDL	0.11	0.06	0.11	0.05	BDL	BDL
IgG4 이소형 대조군	50	0.26	0.23	0.64	BDL	0.77	BDL	0.05	0.12	BDL	0.12	BDL	BDL
마우스 IgG1.k	100	0.66	0.09	0.56	BDL	BDL	BDL	0.04	0.14	0.16	BDL	BDL	0.09
펄브롤리주맵	90	1.03	0.72	0.79	BDL	BDL	BDL	0.10	0.03	0.03	0.09	BDL	BDL
니볼루맵	127	2.65	1.50	0.91	BDL	BDL	BDL	0.11	0.11	0.05	0.10	BDL	BDL
코팅된 항-CD3	100	34.49	308.57	7.64	31.81	137.92	656.77	11.33	47.81	1.33	11.65	18.59	82.57

BDL = 검출 한계 미만

[1887]

[1888] [표 27]

IFN- γ 및 IL-6 수준에 대한 IL-2에 의한 처리.

처리	농도 ug/ml	IFN- γ						IL-6					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
IL-2	0.8	115.31	290.42	314.96	81.72	61.31	850.98	22.76	17.26	10.13	19.67	17.12	51.15
IL-2	0.45	105.72	352.81	331.98	85.34	58.16	433.00	18.47	11.07	7.20	12.82	18.02	65.04
IL-2	0.2	104.20	228.19	278.17	104.40	51.97	437.67	15.93	5.48	4.12	6.96	12.56	49.09
IL-2	0.1	95.61	135.05	224.27	68.31	47.44	387.76	13.48	2.66	2.73	4.02	10.94	28.98
IL-2	0.03	64.49	62.13	81.74	45.09	39.50	170.85	7.89	1.07	1.35	2.31	9.18	16.60
IL-2 + 펄브롤리주맵	0.8	138.79	274.43	318.86	117.65	51.99	437.11	27.72	17.63	10.91	22.39	32.49	50.58
IL-2 + 펄브롤리주맵	0.45	107.58	247.26	354.82	111.66	55.99	430.47	23.19	11.71	7.45	31.52	15.11	55.85
IL-2 + 펄브롤리주맵	0.2	112.00	231.40	283.69	76.41	64.28	244.58	20.84	6.54	4.93	7.65	14.72	29.07
IL-2 + 펄브롤리주맵	0.1	99.87	151.13	241.42	106.24	50.17	274.30	16.91	3.10	3.44	13.06	13.48	28.87
IL-2 + 펄브롤리주맵	0.03	76.19	44.44	87.79	40.85	38.04	131.98	11.01	1.46	1.47	2.10	9.98	15.04
IL-2 + 니볼루맵	0.8	112.83	245.07	396.28	67.50	53.02	344.33	24.21	17.31	12.10	19.46	16.29	50.22
IL-2 + 니볼루맵	0.45	98.79	262.60	335.91	66.15	47.95	457.22	17.85	13.65	7.85	11.72	13.01	40.96
IL-2 + 니볼루맵	0.2	101.09	204.58	260.76	59.56	46.18	238.28	17.54	6.37	4.23	6.38	13.08	30.47
IL-2 + 니볼루맵	0.1	100.69	423.63	230.39	92.71	37.74	206.75	12.71	3.10	3.98	9.98	9.74	20.84
IL-2 + 니볼루맵	0.03	72.59	40.13	76.36	nd	38.22	149.74	8.23	1.22	1.44	29.61	8.51	14.21

각 공여자에 대한 데이터(예를 들어, D1-D6)는 그의 특정 제형 완충액 값으로 정규화됨. nd = 결정되지 않음.

[1889]

[1890] [표 28]

IL-8 및 IFN- α 수준에 대한 IL-2에 의한 처리.

처리	농도 $\mu\text{g/ml}$	IL-8						TNF- α					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
IL-2	0.8	5.88	6.00	4.53	2.28	5.80	25.94	5.97	14.38	13.84	4.88	16.45	24.31
IL-2	0.45	4.67	5.98	4.98	2.02	5.32	36.29	5.04	14.83	13.27	4.48	16.22	37.41
IL-2	0.2	4.34	5.42	4.01	1.88	4.89	27.24	5.10	12.68	11.74	4.18	15.14	26.06
IL-2	0.1	3.80	5.00	3.76	1.60	4.44	17.45	4.60	11.07	10.68	3.16	12.89	16.94
IL-2	0.03	2.70	2.50	1.42	1.38	3.95	11.11	3.52	3.88	4.45	2.55	10.86	12.96
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.8	7.00	6.95	4.83	2.97	7.84	24.43	6.02	17.35	13.48	6.42	16.66	23.88
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.45	5.77	6.41	4.43	3.71	5.86	27.94	5.46	17.44	12.60	6.33	15.51	25.44
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.2	5.37	6.73	3.59	2.24	6.01	15.52	5.20	15.55	11.03	3.54	15.96	17.18
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.1	5.39	4.85	3.08	2.73	5.47	18.57	4.85	11.49	10.45	5.06	13.80	16.99
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.03	3.60	2.28	1.52	1.65	4.72	8.60	4.24	4.94	4.19	2.82	11.29	8.91
IL-2 + 니볼루맙	0.8	6.66	6.26	4.31	2.02	6.22	26.11	5.71	17.11	13.39	4.52	14.18	26.91
IL-2 + 니볼루맙	0.45	5.06	6.42	4.04	1.80	5.28	22.75	5.35	15.39	12.10	4.61	13.60	22.81
IL-2 + 니볼루맙	0.2	4.09	4.96	3.16	1.49	4.82	19.00	4.97	11.83	9.17	3.23	12.57	17.17
IL-2 + 니볼루맙	0.1	3.80	4.31	2.97	3.04	5.09	12.19	4.33	10.74	7.90	5.14	11.43	11.44
IL-2 + 니볼루맙	0.03	2.28	1.88	1.03	2.86	3.65	8.55	3.35	4.04	3.60	5.41	10.15	9.42

각 공여자에 대한 데이터(예를 들어, D1-D6)는 그의 특정 제형 완충액 값으로 정규화됨.

[1891] [표 29]

[1892] [표 29]

IL-5 및 IL-4 수준에 대한 IL-2에 의한 처리.

처리	농도 $\mu\text{g/ml}$	IL-5						IL-4					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
IL-2	0.8	9.45	6.04	4.34	0.71	10.86	22.27	0.25	0.21	0.21	0.13	0.85	1.02
IL-2	0.45	10.57	11.00	5.85	BDL	15.40	22.08	0.14	0.34	0.32	0.08	0.68	0.89
IL-2	0.2	14.53	8.79	3.46	0.93	12.29	28.22	0.30	0.42	0.28	0.10	0.77	1.05
IL-2	0.1	5.24	6.79	3.85	0.26	9.57	23.02	0.21	0.32	0.14	0.09	0.75	0.83
IL-2	0.03	7.56	3.73	1.35	0.66	22.70	13.05	0.27	0.18	0.15	0.14	0.74	0.52
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.8	5.62	8.14	4.45	1.55	14.17	24.07	0.24	0.35	0.33	0.28	0.78	1.15
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.45	4.54	7.16	3.00	0.93	9.82	21.83	0.16	0.39	0.27	0.26	0.70	1.20
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.2	8.95	11.58	6.50	0.56	12.53	15.88	0.31	0.31	0.47	0.12	0.82	0.76
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.1	7.42	7.03	1.90	BDL	8.53	23.41	0.21	0.27	0.36	0.12	0.64	0.76
IL-2 + 캄브롤리주맙	0.03	5.87	2.86	2.05	0.42	14.25	8.53	0.17	BDL	0.13	0.08	0.82	0.51
IL-2 + 니볼루맙	0.8	7.16	7.98	4.18	1.38	20.46	20.83	0.22	0.25	0.44	0.14	1.00	1.21
IL-2 + 니볼루맙	0.45	7.14	7.05	4.22	BDL	11.55	18.52	0.21	0.31	0.28	0.17	0.54	0.88
IL-2 + 니볼루맙	0.2	7.32	7.45	4.18	1.97	12.97	20.73	0.21	0.34	0.30	0.25	0.74	0.75
IL-2 + 니볼루맙	0.1	8.67	5.37	3.43	3.04	10.46	16.09	0.26	0.21	0.18	0.14	0.61	0.62
IL-2 + 니볼루맙	0.03	3.77	2.02	1.37	BDL	11.82	12.10	0.17	BDL	0.11	0.19	0.74	0.63

BDL = 검출 한계 미만

[1893]

[1894] [표 30]

IFN- γ 및 IL-6 수준에 대한 화합물 B(IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1)에 의한 처리.

처리	농도 ($\mu\text{g/ml}$)	IFN- γ						IL-6					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
화합물 B	4.5	213.24	135.44	233.77	75.99	36.04	611.22	39.77	0.56	2.49	4.94	10.61	38.95
화합물 B	1.5	93.02	96.56	195.89	49.83	31	122.98	11.82	0.84	1.82	1.87	8.33	16.01
화합물 B	0.8	66.82	53.46	119.28	44.78	26.93	92.69	9.38	0.43	1.45	1.71	7.56	11.61
화합물 B	0.45	49.07	35.17	85.18	33.58	21.99	74.08	7.87	0.74	1.06	1.29	6.06	3.41
화합물 B	0.2	32.02	12.82	32.15	27.63	14.39	21.95	4.50	BDL	0.91	1.11	3.84	1.09
화합물 B + 멤브롤리주입	4.5	102.42	164.69	263.89	68.16	38.09	275.34	15.12	1.79	3.26	3.03	10.86	36.39
화합물 B + 멤브롤리주입	1.5	80.56	82.28	161.63	49.21	35.01	98.36	11.90	1.29	1.96	3.01	11.07	9.88
화합물 B + 멤브롤리주입	0.8	74.09	43.39	130.28	38.2	29.55	62.73	12.28	0.82	1.71	1.31	9.23	6.49
화합물 B + 멤브롤리주입	0.45	46.77	27.81	86.44	31.51	19.78	37.93	7.53	0.46	1.17	1.52	6.70	1.78
화합물 B + 멤브롤리주입	0.2	29.43	8.62	25.97	20.27	14.52	17.75	5.59	BDL	0.74	0.93	5.04	0.86
화합물 B + 니볼루맵	4.5	91.59	126.64	269.98	59.66	38.57	901.52	11.56	1.33	4.23	2.83	9.24	34.57
화합물 B + 니볼루맵	1.5	82.94	71.26	185.79	50.31	30.37	210.47	10.75	1.04	1.97	1.40	7.14	11.44
화합물 B + 니볼루맵	0.8	59.41	67.83	124.17	30.37	24.23	41.88	7.60	7.56	1.56	0.87	6.38	2.36
화합물 B + 니볼루맵	0.45	51.93	21.19	84.35	26.44	18.76	30.17	7.73	0.48	1.17	1.33	4.39	2.01
화합물 B + 니볼루맵	0.2	32.55	7	25.07	16.26	12.1	18.32	4.57	BDL	0.71	1.06	2.59	0.84

*화합물 B는 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1임. 각 공여자에 대한 데이터(예를 들어, D1-D6)는 그의 특정 제형 완충액 값으로 정규화됨.
BDL = 검출 한계 미만

[1895]

[1896] [표 31]

IL-8 및 TNF- α 수준에 대한 화합물 B(IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1)에 의한 처리.

처리	농도 ($\mu\text{g/ml}$)	IL-8						TNF- α					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
화합물 B	4.5	7.67	4.09	2.99	2.18	4.24	20.12	6.23	11.39	10.42	4.96	12.33	26.03
화합물 B	1.5	2.83	3.87	3.09	1.66	3.64	11.46	4.43	8.33	8.80	3.30	10.85	13.94
화합물 B	0.8	3.08	2.86	2.20	1.36	3.30	6.84	4.16	6.48	6.68	2.92	9.94	8.02
화합물 B	0.45	2.21	2.61	1.43	1.42	2.69	3.50	3.56	5.28	4.56	3.12	8.20	5.30
화합물 B	0.2	1.48	1.60	0.71	1.27	2.22	1.30	2.64	3.10	2.84	2.24	6.23	2.00
화합물 B + 멤브롤리주입	4.5	4.19	4.64	2.61	2.13	4.65	21.72	5.10	11.12	8.91	4.49	12.42	20.50
화합물 B + 멤브롤리주입	1.5	4.10	3.46	2.79	2.66	4.45	15.57	4.87	8.68	8.24	3.80	12.07	15.39
화합물 B + 멤브롤리주입	0.8	3.36	2.80	2.10	1.53	4.13	5.51	4.41	6.88	6.21	3.15	10.56	6.04
화합물 B + 멤브롤리주입	0.45	2.35	2.19	1.58	1.69	3.21	2.09	3.51	4.09	4.89	2.52	8.33	3.46
화합물 B + 멤브롤리주입	0.2	1.66	1.41	0.62	1.20	2.46	1.23	2.97	2.59	2.41	2.69	6.18	2.09
화합물 B + 니볼루맵	4.5	3.97	4.16	3.22	1.63	4.05	16.97	5.36	9.71	9.57	3.83	12.26	21.81
화합물 B + 니볼루맵	1.5	2.86	2.62	2.16	1.42	3.70	6.78	4.84	6.45	7.11	3.15	10.53	9.76
화합물 B + 니볼루맵	0.8	2.97	2.55	1.97	1.19	3.56	1.99	3.95	5.33	5.87	2.87	8.88	3.17
화합물 B + 니볼루맵	0.45	2.15	1.72	1.19	1.10	2.53	2.05	3.66	3.88	3.94	2.86	7.22	3.38
화합물 B + 니볼루맵	0.2	1.45	1.30	0.59	0.91	1.86	0.90	2.67	2.35	2.21	1.88	4.85	2.31

*화합물 B는 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1임. 각 공여자에 대한 데이터(예를 들어, D1-D6)는 그의 특정 제형 완충액 값으로 정규화됨.

[1897]

[1898] [표 32]

IL-5 및 IL-4 수준에 대한 화합물 B(IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1)에 의한 처리.

처리	농도 (µg/ml)	IL-5						IL-4					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
화합물 B	4.5	6.39	6.87	1.39	0.91	8.54	31.80	0.18	0.12	0.18	0.21	0.44	1.07
화합물 B	1.5	3.73	5.22	1.57	1.02	8.15	12.23	0.20	0.13	0.16	0.14	0.60	0.43
화합물 B	0.8	8.67	2.03	1.51	BDL	3.16	4.73	0.20	BDL	BDL	0.06	0.20	0.25
화합물 B	0.45	3.63	1.17	1.03	BDL	1.26	5.18	0.08	0.14	0.10	0.11	0.29	0.25
화합물 B	0.2	0.66	BDL	BDL	BDL	0.31	0.27	0.10	0.08	0.12	0.07	0.04	BDL
화합물 B + 펩브롤리주맵	4.5	7.22	8.02	2.77	0.74	9.13	27.48	0.26	0.30	0.20	0.14	0.59	1.10
화합물 B + 펩브롤리주맵	1.5	3.91	4.10	1.36	BDL	7.45	5.54	0.21	0.13	0.16	0.09	0.59	0.41
화합물 B + 펩브롤리주맵	0.8	4.74	6.45	0.92	BDL	5.71	2.69	0.18	0.10	0.11	0.11	0.48	0.15
화합물 B + 펩브롤리주맵	0.45	2.54	0.59	0.82	BDL	2.69	BDL	0.17	0.08	BDL	0.07	0.30	0.08
화합물 B + 펩브롤리주맵	0.2	0.84	BDL	0.71	BDL	0.33	0.35	0.14	BDL	BDL	0.09	0.03	BDL
화합물 B + 니볼루맵	4.5	4.76	5.65	3.54	0.20	9.21	20.27	0.23	0.27	0.24	0.15	0.74	1.00
화합물 B + 니볼루맵	1.5	3.66	2.11	1.41	0.36	9.57	5.42	0.20	0.09	0.17	0.16	0.69	0.30
화합물 B + 니볼루맵	0.8	3.20	BDL	0.90	BDL	3.96	1.10	0.21	BDL	0.14	0.09	0.34	0.07
화합물 B + 니볼루맵	0.45	5.11	BDL	1.03	0.11	2.08	1.06	0.16	BDL	0.13	0.08	0.20	0.07
화합물 B + 니볼루맵	0.2	2.83	0.60	0.73	BDL	1.97	BDL	0.10	0.14	BDL	0.05	0.07	BDL

*화합물 B는 IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1임. BDL = 검출 한계 미만

[1899]
[1900] 실시예 13

[1901] 동종이계 인간 혼합 림프구 반응(MLR) 분석

[1902] 동종이계 인간 혼합 림프구 반응(MLR) 분석을 사용하여, 특정 항원 또는 신생항원을 제시하는 종양 세포에 대한 세포용해 반응의 모델로서, 화합물 B(IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1)가 단일 제제로서, 그리고 관문 억제제(니볼루맵 또는 펩브롤리주맵)와 조합하여 TCR 활성화를 향상시키는 능력을 평가하였다.

[1903] [표 33]

재료.

재료	공급업체	카탈로그 #	제형	스톡 농도
화합물 B(IL-2_P65[AzK_L1_PEG30kD]-1)	Synthorx	Lot #0690-187	제형 완충제(하기 참조)	2 mg/mL
제형 완충제: 10 mM 히스티딘, pH 6.0, 5% 소르비톨, 0.01% 폴리소르베이트 80	사이토반스(Cytovance)	해당 없음	해당 없음	해당 없음
니볼루맵(nivo)	Selleckchem	A2002	PBS	5 mg/mL
니볼루맵	Bristol-Meyers Squibb	NDC 0003-3772-11	해당 없음	10 mg/mL
펩브롤리주맵	Merck & Co.	NDC 0006-3026-01	해당 없음	25 mg/mL
Ultra-LEAF™ 정제된 인간 IgG4 이소형 대조군 재조합 항체	Biolegend	403702	PBS	1 mg/mL
EasySep 인간 CD4+ T 세포 분리 키트	Stemcell	17952	해당 없음	해당 없음
EasySep 인간 단핵구 분리 키트	Stemcell	19359	해당 없음	해당 없음
인간 IFN-γ ELISA 키트	Abcam	Ab46025	해당 없음	해당 없음

[1904]

[1905] [표 34]

재료(계속됨)

성분	공급업체	카탈로그 #	스톡 농도	작업 농도
MonoDC 전환-분화 배지				
BioWhittaker X-VIVO15 조혈 무혈청 배양 배지	Lonza	04418Q	해당 없음	해당 없음
FBS	Corning	35011CV	100%	5%
페니실린-스트렙토마이신	Fisher Scientific	15140122	100%	1%
MEM 비-필수 아미노산 용액	Gibco	11140-060	100x	1x
피루브산나트륨	Gibco	11360-070	100 mM	1 mM
HEPES	Gibco	15630080	1 M	10 mM
재조합 인간 IL-4 단백질 (/CF)	R&D	204-IL-060	1.5e+6 IU/mL	1500 IU/mL
재조합 인간 GM-CSF 단백질 (/CF)	R&D	215-GM-060	1.5e+6 IU/mL	1500 IU/mL
MLR 공동-배양 배지				
RPMI 1640 배지, HEPES	Gibco	22400089	해당 없음	해당 없음
FBS	Corning	35011CV	100%	5%
페니실린-스트렙토마이신	Fisher Scientific	15140122	100%	1%
MEM 비-필수 아미노산 용액	Gibco	11140-060	100x	1x
피루브산나트륨	Gibco	11360-070	100 mM	1 mM
HEPES	Gibco	15630080	1 M	10 mM
2-머캅토에탄올	Gibco	21986023	50 mM	50 μ M

[1906]

[1907]

2명의 정상적이고 건강한 공여자로부터의 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 각 분석 실행에 사용하였다. MonoDC는 1,500 IU/mL의 IL-4 및 1,500 IU/mL의 GM-CSF의 첨가를 포함하는 음성 단핵구 선택 키트(Stemcell)를 사용하여 시험관 내에서 7일 동안 PBMC에서 분리된 단핵구를 배양하여 생성되었다. 배양 배지는 3일차 및 5일차에 교체하였다. MonoDC는 7일차에 수집하였다. 그날, CD4+ T 세포는 음성 선택 키트(Stemcell)를 사용하여 다른 공여자로부터 분리하였다. CD4+ T 세포(1×10^5) 및 동종이계 모노DC(1×10^4)를 화합물 B($0.005 \sim 100 \mu\text{g/mL}$) 단독의 농도 범위의 존재하에 또는 5, 50, 또는 500 ng/mL의 니볼루맙, 켈브롤리주맙 또는 이소형 IgG 대조군과 함께 96-웰 마이크로타이터 플레이트에서 공동-배양하였다. 각 실행은 각 처리 조건에 대해 3회 반복으로 설정되었다. 5일의 공동-배양 후, 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA) 키트(Abcam; 카탈로그 번호 Ab46025)를 사용하여 배양 상청액에서 IFN- γ 분비를 분석하였다. 화합물 B와 켈브롤리주맙의 조합으로부터의 IFN- γ 수준을 도 12에 나타내었다. 화합물 B와 니볼루맙의 조합으로부터의 IFN- γ 수준을 도 13 및 도 14에 나타내었다. 임상 등급 니볼루맙을 사용하여 도 13에 나타낸 데이터를 생성하고, 연구 등급 니볼루맙(Selleckchem)을 사용하여 도 14에 도시된 데이터를 생성하였다. 결과는 단일 제제로 사용된 화합물 B, 니볼루맙 및 켈브롤리주맙의 농도-의존적 방식으로 IFN- γ 의 방출을 유도함을 입증하였다. 놀랍게도, (a) 화합물 B 및 니볼루맙의 조합, 및 (b) 화합물 B 및 켈브롤리주맙의 조합은 MLR 분석에서 상승 효과를 입증하였다. 도 12, 13 및 14에 도시된 데이터는 한 공여자 쌍으로부터의 3회 반복의 평균 $\pm$ 평균의 표준 오차를 나타낸다.

[1908]

실시예 14

[1909]

화합물 B는 CD8+ T, NK, 및 Treg 세포에서 Ki67의 발현을 유도하지만, 말초혈액 및 CT-26 종양 내에서 Treg가 아니라 CD8+ T 및 NK 세포만 확장한다

[1910]

화합물 B의 약동학적(PK) 및 약력학적(PD) 특성을 평가하기 위해, Balb/c 암컷 마우스(6~8주령, 평균 체중 16 내지 22 g, Jackson Laboratories 또는 Taconic Biosciences)에 CT-26 종양 세포(ATCC)를 옆구리 부위의 피하에 접종하였다. 종양 성장은 일주일에 3회 종양을 측정하여 모니터링하였다. 종양 부피가 약 150 mm^3 에 도달했을 때, 마우스를 대조군 및 처리군으로 무작위화하였다. 3 mg/kg의 화합물 B의 단일 용량을 CT-26 종양-보유 마우스에 IV 투여한 후, 말단 혈액 및 종양 샘플을 0일(2시간, 8시간 및 12시간), 1일(N = 시점당 마우스 3마리), 투여 후 2일, 3일, 5일, 7일, 10일 및 12일째(시점당 N=마우스 4마리)에 수집하였다. ELISA 검정을 사용하여 화합물 B에 대해 혈장 및 종양 샘플을 분석하였다.

[1911]

약동학적 분석

- [1912] 종양을 2개의 반으로 분리하고, 반을 칭량하고 종양 PK 분석을 위해 액체 질소에서 동결시켰다. 동결된 종양 샘플을 용해 완충액(10 mL 1x PBS 중 프로테아제 억제제(SIGMA, 카탈로그 번호 4693159001) 1정)으로 균질화하였다. 모든 0.1 g 조직을 0.4 mL의 용해 완충액과 혼합하였다. 각 조직 수집 튜브에, 20초 동안 20 Hz에서 Tissue Lyser II(Qiagen)로 균질화하기 전에 5 mm 스테인리스 스틸 비드(Qiagen, 카탈로그 번호 69989)를 추가했다. 균질화 후, 종양 용해물을 회전시키고, 화합물 B PK 분석을 위해 상청액을 수집하였다.
- [1913] 화합물 B의 종양 노출은 **도 15**에 도시된 바와 같이 혈장 노출의 대략 4%였다(혈장 및 종양에 대해 각각 AUC_{0-t} 429,000 및 15,900 h*ng/mL). 종양 $t_{1/2}$ 는 혈장 $t_{1/2}$ (종양 및 혈장에서 각각 19.9시간 및 9.8시간)의 거의 2배였으며, 이는 화합물 B가 종양으로 분포하고 혈액 구획에 비해 더 오랜 시간 동안 그곳에 유지됨을 나타낸다.
- [1914] **약력학적 분석**
- [1915] **유세포 분석법.** 전혈 면역 세포 표현형 분석을 위해 혈액 샘플을 용해하고 최종 수집 직후에 고정했다. 간단히 말해서, 혈액 샘플은 제조업체의 프로토콜에 따라 미리 데워진 1x 용해/고정 완충액(BD phosflow™, cat#558049) 20부피로 처리하였다. 세포 현탁액은 항체 염색 전에 Fc 블록(TruStain fc-X 항 CD16/32, BioLegend)으로 차단되었다. 차단 후, 세포는 먼저 다음 세포 표면 마커로 염색되었다: Ax488 항-마우스 CD3(17A2), Bv786 항-마우스 CD4(RM4-5), Bv711 항-마우스 CD8a(53-6.7), Bv421 항-마우스 CD49b(DX5), 비오틴 항-마우스 CD25(REA568), Bv605 항-마우스 CD335(29A1.4). 그런 다음 세포를 4°C 미리 냉각된 메탄올(Fisher Chemical, A412-4)로 투과화하고, PE 항-마우스 FoxP3(FJK-16s), PerCP eFluor710 항-Ki67, 및 Ax647 항-Pstat5(Py694), 뿐만 아니라 비오틴에 대한 PEcy7 항-CD44(IM7) 및 BUV395 스트렙타비딘으로 내부 염색하였다. 샘플은 FlowJo 소프트웨어에 의한 분석과 함께 BD LSRFortessa를 사용하여 판독되었다.
- [1916] CD8 세포는 CD3+CD8a+로 확인되었다. Treg 세포는 CD3+CD4+CD25+FoxP3+로 확인되었다. 자연 살해 세포는 CD3-CD335+CD49b+로 게이팅되었다. 기억 CD8 세포는 CD3+CD8+CD44^{hi}로 평가하였다.
- [1917] **종양 FACS.** 마우스 종양 샘플의 단일 세포 현탁액은 종양을 작은 조각으로 자르고 제조업체의 프로토콜에 따라 MACS 마우스 종양 해리 키트(Miltenyi, 130-096-730)로 소화하여 준비했다. 살아있는 세포는 eFluor 780 고정 성 생존 염료(eBioscience, 65-0865-14)로 확인했다. 세포 현탁액을 항-마우스 CD16/32 항체(TruStain FcX, BioLegend, cat. 101319)로 차단한 후, 세포 표면 마커를 염색하였다. 그런 다음, FoxP3/전사 인자 고정/투과 시약(eBioscience, cat. 00-5521-00)으로 세포를 고정하고, 투과화한 다음 세포내 마커를 염색했다. 표면 항원에 사용된 항체는 PEcy7 항-마우스 CD45(30-F11), BUV395 항-마우스 CD3e(17A2), BV510 항-마우스 CD4(GK1.5), PE-eF610 CD8a(53-6.7), BV605 항-마우스 CD335(29A1.4), AF700 항-마우스 CD25(PC61), APC 항-마우스 CD49b(DX5)이었다. 세포내 항원에 대한 항체는 PE 항-FoxP3(FJK-16s) 및 AF488 항-Ki67(11F6)이었다. CD8 세포 집단은 CD3+CD8+로 정의되고, NK 세포 집단은 CD3-CD335+CD49b+로 정의되었다. Treg 세포는 CD3+CD4+CD25+FoxP3+로 게이팅되었다. BD LSRFortessa로 이벤트를 수집하고 FlowJo 소프트웨어로 분석하였다.
- [1918] **결과.** 혈액 및 종양 샘플은 세포내 인산화된 STAT5(pSTAT5, 수용체 점유 및 초기 신호전달의 마커), Ki67(세포 증식 마커) 및 CD8+ T, NK 및 Treg 세포 수를 포함한 세포 하위집단(CD8+ T, NK 및 Treg 세포)의 PD 판독값에 대해 분석되었다. 다양한 세포 유형에 대한 pSTAT5는 혈액에서만 측정되었다.
- [1919] 3 mg/kg의 화합물 B를 투여받은 CT-26 종양-보유 마우스는 CD8+ T, CD8+ 기억 T, NK 및 Treg 세포 집단에서 말초혈액에서 pSTAT5의 지속적인 유도를 나타내었다. 말초혈액 CD8+ T 세포(**도 16a**) 및 CD8+ 기억 T 세포(**도 16b**)에서 pSTAT5+ 세포의 백분율은 투여 후 2시간에 피크이고, 약 48시간까지 상승된 상태를 유지하고, 72시간까지 기준선으로 복귀하였다. NK 세포(**도 16c**)의 경우, pSTAT5+ 세포는 투여 후 점차 증가하여 48시간에 피크에 이르렀고, 120시간까지 기준선으로 복귀하였다. Treg 세포에서 pSTAT5+의 유도(**도 16d**)는 CD8+ T 세포의 패턴과 유사한 패턴을 따랐다.
- [1920] pSTAT5 유도 후, 화합물 B는 10일까지 비히클 대조군 수준으로 돌아가기 전에 1일부터 7일까지($p < 0.05$) 동일한 정도로 3개의 세포 집단(CD8+ T, NK 및 Treg 세포) 모두에서 Ki67의 상당한 활성화를 유도하였다(**도 17a-17f**). **도 17a** 및 **도 17b**에 도시된 바와 같이, 화합물 B에 의한 Ki67의 활성화는 3일 내지 12일 동안 CD8+ T 세포의 상당한 증식 반응으로 번역되었다($p < 0.05$ 대 대조군). CD8+ T 세포의 표현형 분석은 같은 기간 동안 이 집단 내에서 CD44+ 기억 세포의 실질적인 확장을 보여주었다. CD8+ T 세포와 대조적으로, 화합물 B는 투여 후 3일차에 최대 NK 세포 확장을 유도하고, 5일차에 상승된 상태로 유지($p < 0.05$ 대 대조군)한 후, 7일차에 비히클 처리된 대조군 수준으로 복귀하였다(**도 17c** 및 **도 17d**). CD8+ T 및 NK 세포 둘 다와 대조적으로, 화합물 B는 투여 후 3

일차에 Treg 세포 확장의 매우 일시적이고 크게 감소된 수준(CD8+T 및 NK 세포의 15~25%와 비교하여 단지 2.5%)만을 야기하였다(도 17e 및 17f). CD8+ T 세포의 확장 및 CD4+ Treg 세포 하위집단의 현저한 확장의 결여는 CD8+ T/Treg 비율의 점진적인 증가를 가져왔고, 3 mg/kg 용량 그룹의 경우 7일째에 피크였다(도 17g).

[1921] 종양 샘플의 분석은 화합물 B로 처리한 후 7일에 CD8+ T 세포 및 NK 세포 둘 모두가 종양 내에서 유의하게 확장되었고($p < 0.05$ 대 대조군), 10일까지 상승된 상태를 유지함을 나타내었다(도 18a~18b). 그러나, 화합물 B에 대한 반응으로, 종양 내의 Treg 세포 집단은 시간 경과에 따라 비히클에 비해 유의한 확장을 나타내지 않았다(도 18c). CD8+ T 세포의 확장 및 CD4+ Treg 세포 하위집단의 확장의 결여는 CD8+ T/Treg 비율의 점진적인 증가를 가져왔고, 3 mg/kg 용량 그룹의 경우 7일째에 피크였다(도 18d).

[1922] 요약. CT-26 종양-보유 마우스에서, 3 mg/kg의 화합물 B는 CD8+T, CD8+ 기억, NK 및 Treg 세포를 포함한 모든 면역 세포 유형에서 말초 pSTAT5 활성화를 유도하여 IL-2R β / γ 수용체 복합체의 결합을 나타낸다. 또한, 화합물 B는 이 용량의 이들 모든 세포 유형에서 증식 마커 Ki-67을 유도했지만, 증식은 CD8+T 및 NK 세포에서만 관찰되었다. 이것은 말초 혈액에서 이 용량에서 약 20의 CD8/Treg 비율을 초래했다. 화합물 B의 종양 노출은 혈장 노출의 약 4%였지만, 이는 2배 동안 종양에 유지되어 종양 성장 억제를 나타내기 위해 충분한 CD8T/Treg 비율을 초래하였다. 6 및 9 mg/kg의 고용량에서 종양 퇴행을 초래하는 더 큰 종양 성장 억제가 관찰되었다.

[1923] 실시예 15

[1924] 화합물 B는 마우스 CT-26 종양에서 종양내 T 세포 분획 및 TCR 다양성을 증가시킨다

[1925] T 세포 레퍼토리에 대한 단일 작용제로서 및 항-PD-1 항체와 조합된 화합물 B의 효과를 CT-26 종양-보유 마우스를 사용하여 조사하였다. Balb/c 암컷 마우스(6~8주령, 평균 체중 16 내지 22 g, Jackson Laboratories 또는 Taconic Biosciences)에 CT-26 종양 세포(ATCC)를 옆구리 부위의 피하에 접종하고, 일주일에 3회 종양을 측정하여 종양 성장을 모니터링하였다. 종양이 대략 180 mm³에 도달했을 때, 마우스(각 그룹에 대해 N=4)를 다음 그룹으로 무작위화하였다: 대조군(화합물 B 비히클+ 이소형 대조군), 화합물 B(0일에 6 mg/kg 단일 IV 용량), 마우스 항-PD-1 항체(10 mg/kg, 0일 및 3일에 2회 투여, IP) 또는 화합물 B + 항-PD-1 항체의 조합물. 혈액 및 종양 샘플은 투여 전에, 그리고 투여 후 5일, 8일, 12일 및 16일에 수집하고 분석할 때까지 -80°C에서 보관했다. 샘플을 종양내 T 세포 분획 및 TCR 다양성에 대해 분석하였다(Adaptive Biotechnologies, Seattle, WA). TCR 시퀀싱은 immunoSEQTM를 통해 침윤 T 세포에 대해 수행되었다.

[1926] 8일까지, 6 mg/kg의 화합물 B 단독으로 또는 마우스 항-PD-1 항체와 조합하여 처리된 CT-26 종양은 비히클 또는 항-PD-1 항체 그룹 단독($p = 0.005$)과 비교하여 사후 Dunn's 테스트에 의해 결정된 바와 같이 유의하게 더 낮은 TCR 레퍼토리 클론성을 나타냈다. 클론 빈도 분포의 형상을 측정하여 레퍼토리 내에서 단일 클론 또는 올리고클론 우세 정도에 의해 클론성을 정량화하였다. 클론 다양성은 최소 템플릿 수로 다운샘플링하여 결정하였다. 클론성과 일치하게, 5일 및 8일차에 TCR 다양성은 반대 경향을 나타내었고, 화합물 B 또는 화합물+항-PD-1 항체의 조합물로 처리된 그룹에서 더 높았다($p < 0.05$)(도 19). 12일 또는 16일차에 T 세포 레퍼토리 메트릭에서 화합물 B 또는 항-PD-1 항체 조합 치료에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

[1927] 도 20에 도시된 바와 같이, TCR 시퀀싱은 또한 화합물 B가 단독으로 또는 항-PD-1 항체와 조합하여 종양 침윤 림프구(TIL) 분획을 상승시킨다는 것을 입증하였다($p < 0.05$). 8일차 말초 혈액 샘플의 분석은 화합물 B가 또한 종양에서 이루어진 관찰과 일치하는 비히클 대조군과 비교하여 T 세포 클론성이 유의하게 감소되었음($p = 0.001$)을 나타내었다(도 21).

[1928] 실시예 16

[1929] 화합물 B는 높은 T_{eff} 활성, IFN- γ 유도 및 관문 리간드 발현을 위해 CT-26 종양 미세환경을 재프로그래밍한다

[1930] 실시예 15에서 위에 기술된 연구로부터의 CT-26 종양 샘플은 또한 mRNAseq(Ominiseq, Buffalo, NY)를 통해 프로파일링되었고, GeneCentric (Research Triangle Park, NC)에 의해 분석되어 림프구 침윤 및 활성화의 세포 및 분자 서명을 식별하였다. 데이터는 대조군(비히클), 화합물 B(6 mg/kg), 마우스 항-PD-1(10 mg/kg), 또는 화합물 B와 마우스 항-PD-1(그룹 당 N=10마리의 마우스)의 조합물로 처리한 후 8일차 CT26 종양 샘플로부터의 발현 히트맵을 나타낸다. 모든 서명 및 개별 유전자는 K-W p -값 < 0.05 로 표시된다(PD-L1 제외, $p = 0.23$). 화합물 B 및 항-PD1 치료-유도 면역 활성화는 상이한 면역 특징을 구성하는 유전자 및 개별 유전자의 log2 중앙값 중심 발현 값을 사용하여 생성된 값을 기반으로 하는 히트맵으로 제시된다. 개별 면역 활성화 서명 또는 개별 유전자 발현 수준을 보여주는 박스 플롯도 생성되었다. 이 박스 플롯 내에서 8일과 12일 동안 대조군과 치료군에 대한

쌍별 비교가 수행되었으며, 윌콕슨 순위합 검정(Wilcoxon Rank Sum Test) p-값이 0.05 미만인 경우 p-값이 표시되었다. 히트맵과 박스 플롯은 R 프로그램 버전 3.5.3을 사용하여 생성되었다. 박스 플롯은 하위 사분위수, 중앙값 및 상위 사분위수 표현 데이터를 나타낸다. 플롯 휘스커는 표현식 데이터의 전체 분포를 나타낸다. 도 22에 제공된 명명법은 인간 오르토로그 유전자에 해당한다.

[1931] 도 22의 히트맵의 맨 윗줄은 화합물 B의 단일 투여 후 8일차에 CT26 종양이 활성화된 CD8+ 이펙터 및 기억 T 세포 및 CD56^{dim} (세포용해 표현형) NK 세포로 침윤되었음을 보여준다. 이들 세포 집단은 항-PD-1 항체와의 조합에 의해 더욱 강화되었다. 평균 중심 log2 발현 수준(도 23)은 화합물 B가 투여된 수준에 비해 이들 종양에서 활성화된 및 기억 CD8+ T 세포를 유의하게(p<0.05) 상승시킨 반면, 화합물 B 및 항-PD-1 항체의 조합은 투여 전 수준 또는 대조군과 비교하여 CD56^{dim} NK 세포를 유의하게 증가시켰다(p<0.01). 도 22에 도시된 바와 같이, 화합물 B는 3개의 IL-2 수용체 사슬 CD28, 4-1BB 및 CD40을 포함하는 IL-2 반응 및 T 세포 활성화의 다중 마커를 유도하였다. 또한, 화합물 B 처리는 관문 억제 수용체 PD-1 및 CTLA4, 및 PD-1 리간드 PD-L1 및 PD-L2의 발현을 증가시켰다. 화합물 B는 또한 IFN- γ 방출 및 IFN- γ 신호전달 경로의 활성화에 대해 보고하는 유전자를 유도하였다(도 24a).

[1932] CT-26 종양-보유 마우스에서 화합물 B에 대한 서명 반응을 구성하기 위해, 처리 후 8일차에 비히클 대조군 대 화합물 B 처리 동물 사이에서 ID 차등 발현된 유전자(FDR<0/01)에 대해 감독 분석을 수행하였다. 유전자 발현 프로파일은 유의성 분석을 사용하여 8일차 화합물 B 처리된 마우스와 8일차 비히클 대조군 샘플 사이에서 대조되었다. 오발견율(FDR = 0.01)을 사용하여 다중 비교를 조정했다. 유전자는 FDR-조정된 p-값에 의해 순위가 매겨졌고, 상응하는 배수 변화는 표 35에 나열되어 있다. 1보다 큰 배수 변화는 유전자 발현이 화합물 B 처리된 아암에서 더 높다는 것을 나타내고; 1 미만의 배수 변화는 유전자 발현이 대조군 아암에서 더 높다는 것을 나타낸다.

[1933] [표 35]

화합물 B 환원 반응 서명(PRS)의 발달을 위한 새로운 유전자 마커를 확인하기 위한 발현 변화의 감독 분석.

유전자	원시 p-값	P-값	배수	유전자	원시 p-값	P-값	배수
F10	1.12E-6	0.000	3.2	NR4A3	9.24E-6	0.011	2.5
IL2RA	1.12E-6	0.008	3.8	BCL2L14	9.24E-6	0.011	6.1
CDH1	2.24E-6	0.008	3.0	DCSTAMP	9.24E-6	0.011	4.1
GZMK	2.24E-6	0.009	4.0	CTLA4	1.20E-5	0.012	3.7
SEPT3	5.88E-6	0.009	5.3	ARHGEF37	1.20E-5	0.012	3.0
F7	5.88E-6	0.011	5.4	STRIP2	1.57E-5	0.015	4.6
PDCD1LG2	5.88E-6	0.011	4.6	FAM169A	2.24E-5	0.015	1.7
ASGR2	5.88E-6	0.011	4.6	CCL22	2.41E-5	0.015	3.8
RAMP3	5.88E-6	0.011	3.1	MEX3B	2.55E-5	0.015	1.6
IL12B	5.88E-6	0.011	6.5	HR	2.58E-5	0.015	4.3
FLT3	8.12E-6	0.011	3.9	TACR1	2.69E-5	0.015	2.7
CCL17	8.96E-6	0.011	7.3				

[1934]

[1935] 가장 차등적으로 발현된 유전자 43개 중 42개를 프로토타입 화합물 B PRS에 사용하였다. 유전자 GT(ROSA)26은 이 유전자가 마우스의 녹인(knock-in) 유전자좌로 사용되기 때문에 프로토타입 PRS에서 제외되었다. 프로토타입 화합물 B 호출이 이루어지고, 대조군, 화합물 B 및 항-PD1 치료 아암에서 비교하였다. PRS의 쌍별 비교는 8일 및 12일 동안 대조군 및 처리군에 걸쳐 이루어졌으며, 박스 플롯으로 제시된다(도 24a). 쌍별 윌콕슨 순위합 검정(p-값 < 0.05)에 의해 생성된 P-값이 표시된다. 박스 플롯은 하위 사분위수, 중앙값 및 상위 사분위수 표현 데이터를 보여주는 R 프로그램 버전 3.5.3을 사용하여 생성되었다. 플롯 휘스커는 사분위수 범위(IQR)의 중앙값 플러스 또는 마이너스 1.5배, 또는 최소/최대가 IQR의 1.5배 이내, IQR의 1.5배 이내일 때, 최소/최대 표현 데이터를 보여준다.

[1936] 42개의 유전자가 대조군에 비해 8일째에 화합물 B에 의해 상향조절되었다. 표 35에 표시된 23개의 인간 오르토로그를 사용하여 응답의 프로토타입 서명을 구축했다. 표 35에서 밑줄 친 텍스트로 나타난 바와 같이, 알려진

IL-2 관련 생물학을 갖는 여러 유전자가 검출되었다. 비히클 처리된 마우스에 비해 화합물 B 단일 제제로, 및 마우스 항-PD-1 항체와 조합하여 상당한 서명 호출이 관찰되었다(도 24b).

[1937] 실시예 17

[1938] 화합물 B는 지속 기억 T 세포 반응의 확립을 촉진하여, CT-26 세포의 재주사에 의해 접종받은 생존 동물에서 CT-26 종양 성장을 방지한다

[1939] 실시예 15에서, 7마리의 마우스는 100일째에 무종양 상태로 남아 있었고, 3 mg/kg의 화합물 B, 6 mg/kg의 화합물 B, 및 항-PD-1 항체 그룹으로부터 각각 1마리의 동물을 포함하였고, 6 mg/kg의 화합물 B + 항-PD-1 항체 그룹의 조합으로부터의 4마리의 동물을 포함하였다. 이 7마리의 마우스와 7마리의 나이브 대조군 마우스에 121일째에 동일한 수의 CT-26 종양 세포를 동시에 접종했다(연구 #2). 도 25에 도시된 바와 같이, 이전에 화합물 B, 항-PD-1 항체 또는 조합으로 치료된 7마리 마우스 중 어느 것도 종양이 발병하지 않은 반면, 모든 대조군 동물은 종양을 성장시켰으며, 이는 초기 치료에 대한 반응으로 지속성 기억 T 세포 집단의 확립을 시사한다. 2개월 후, 181일째에, 첫 번째 재챌린지에서 생존한 7마리의 무종양 처리된 동물에 7마리의 대조군 마우스와 함께 CT-26 종양 세포를 다시 접종하였다. 다시, 7마리의 처리된 무종양 동물은 종양이 발병하지 않은 반면, 종양은 대조군 동물에서 성장하였다(도 25). 7마리의 무종양 동물은 연구가 종료된 202일까지 생존했다.

[1940] 재챌린지 실험은 추가 연구(연구 #3)에서 생존한 동물에 대해 반복되었다. 102일차에 완전한 종양 퇴행을 가진, 생존한 총 9마리의 무종양 마우스(9 mg/kg의 화합물 B 및 항-PD-1 항체 그룹 각각으로부터 1마리의 동물, 3 mg/kg의 화합물 B + 항-PD-1 그룹의 조합물로부터 2마리의 동물, 및 6 mg/kg의 화합물 B + 항-PD-1 항체 그룹의 조합물로부터의 5마리 동물)를 CT-26 종양 세포의 피하 접종에 의해 재챌린지하였다. 추가 10마리의 나이브 대조군 마우스도 동시에 접종받았다. 도 26에 도시된 바와 같이, 9마리 동물들 중 어느 것도 종양이 발병하지 않았다는 것은 초기 치료에 대한 반응으로 지속성 기억 T 세포 집단의 확립을 시사한다. 대조적으로, 10마리의 대조군 동물 모두에서 종양이 발생하였다. 2개월 후, 163일차에 첫 번째 동물에서 생존한 동일한 9마리의 동물에서 두 번째 재챌린지가 수행되었으며; 추가 9마리의 나이브 동물이 대조군으로 사용되었다. 첫 번째 재챌린지의 경우와 마찬가지로, 생존한 9마리의 동물은 종양이 발생하지 않아 초기 처리 후 기억 T 세포 반응의 지속성을 확인한 반면, 대조군 동물에서는 종양이 성장하였다(도 26). 9마리의 무종양 동물은 연구가 종료된 184일까지 생존했다.

[1941] 지속적인 T 세포, 기억 반응을 촉진하는 화합물 B의 능력을 결정하기 위해, 2차 재-챌린지 후 60일차에 혈액 샘플을 연구 #2에서 생존한 7마리의 마우스로부터 수집하였다. 기억 세포의 발현을 위한 혈액 샘플의 FACS 분석은 화합물 B가 CT-26 종양에 대한 내구성 면역학적 기억의 확립을 촉진함을 보여주었으며, 이는 기억 CD8+ T 세포를 포함하는 말초 기억 T 세포(CD3+)의 전반적인 증가로 관찰되었다(도 27a-27b).

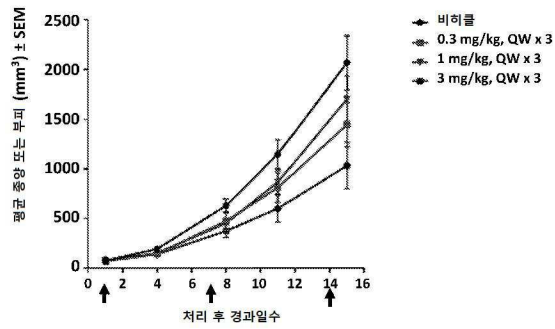
[1942] 요약. 화합물 B 6 mg/kg 처리된 종양에서 TIL의 분석은 관문 리간드를 유도하는 T 세포 레퍼토리 및 활성화된 CD8+ T 세포(이펙터 기억 포함) 및 NK 세포 및 IFN γ 서명의 증가를 나타내었다. 면역 관문 요법은 전이성 흑색종 및 신세포 암종을 포함하여 점점 더 많은 수의 암에서 널리 사용되고 효능을 보여주었다(문헌[Hodi F.S. et al., N. Engl. J. Med. (2010) 363(8):711-723]; [Topalian S.L. et al., N. Engl. J. Med. (2012) 366(26):2443-2454]; [Wolchok J.D. et al., N. Engl. J. Med. (2013) 369(2):122-133]; [Sharma P. et al. Cell (2015) 161(2):205-214]; [Alsaab H.O. et al., Frontiers in Pharmacology (2017) 8:561, 1-15]; [Pardoll D.M. Nat. Rev. Cancer (2016) 12(4): 252-264]). 그러나, 완전한 응답률은 여전히 매우 낮다. 관문 억제제는 기능장애가 있는 세포독성 T 림프구의 파손을 해제하고 이들을 프라이밍하는 반면, IL-2와 같은 사이토카인 요법은 이를 활성화 및 증식시킬 수 있다. 또한, IL-2 기반 치료법은 NK 세포와 같은 Fc+ 림프구를 확장하고 활성화할 수 있다. 따라서, IL-2와 관문 억제제의 조합은 서로를 보완하여, 개선된 항종양 반응에 대한 면역 반응에 대한 효과를 매개한다. 현재 연구에서, 화합물 B와 항-PD-1의 조합 치료는 활성화된 세포독성 CD8+T 및 NK 세포의 다양성 및 클론성 모두의 향상으로 인해 각각의 단일 제제에 비해 생존 이점을 초래하였다. 더욱이, 화합물 B 또는 조합물로 처리된 무종양 마우스는 지속성 기억 T 세포 집단을 가졌다. 이는 마지막 화합물 B, 항-PD-1 항체 또는 조합 치료를 사용한 후 100일 후에 첫 번째 재챌린지를 통해 2개월 간격으로 동일한 종양 세포로 2회 재챌린지한 후 생존한 마우스에서 종양 세포의 거부를 초래하였다.

[1943] 본 발명의 바람직한 실시형태가 본원에 예시되고 설명되었지만, 이러한 실시형태가 단지 예로서 제공된다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 이제, 본 발명으로부터 벗어나지 않으면서 여러 변형, 변경, 및 대체가 당업자에 의해 이루어질 것이다. 본원에 기술된 본 발명의 실시형태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음을 이해해야 한다. 다음의 청구범위는 본 발명의 범주를 정의하고 이러한 청구범위 내의 방법과 구조 및

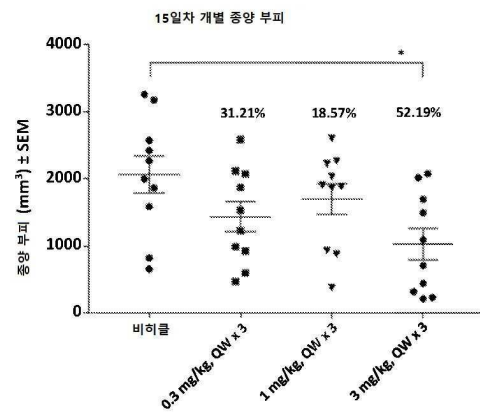
그 균등물은 청구범위에 포함되는 것으로 의도된다. 본원에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시내용은 그 전체가 참고로 본원에 명시적으로 포함된다.

도면

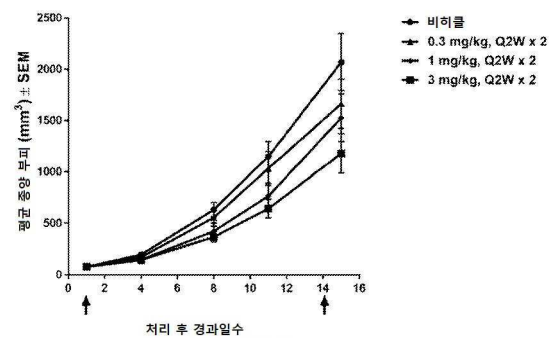
도면1



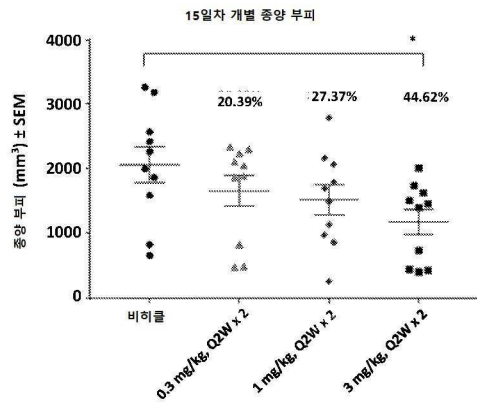
도면2



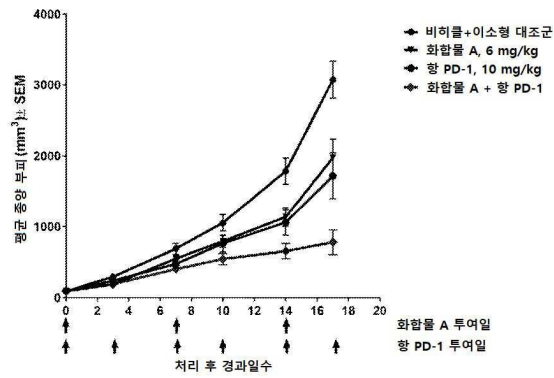
도면3



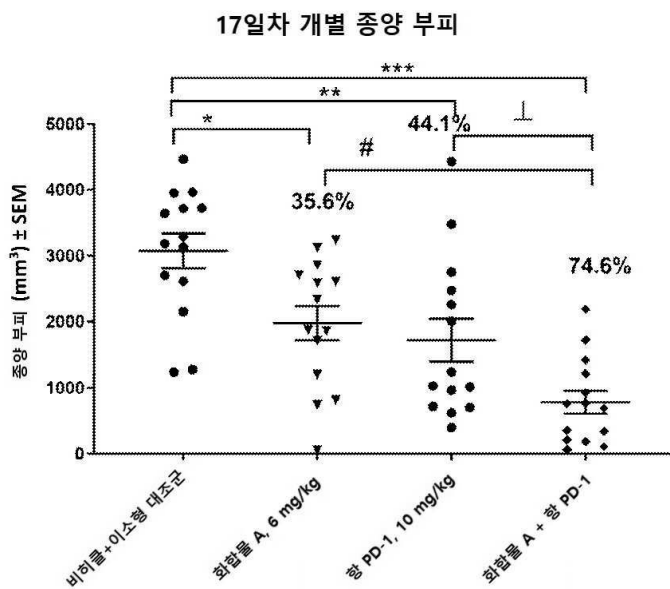
도면4



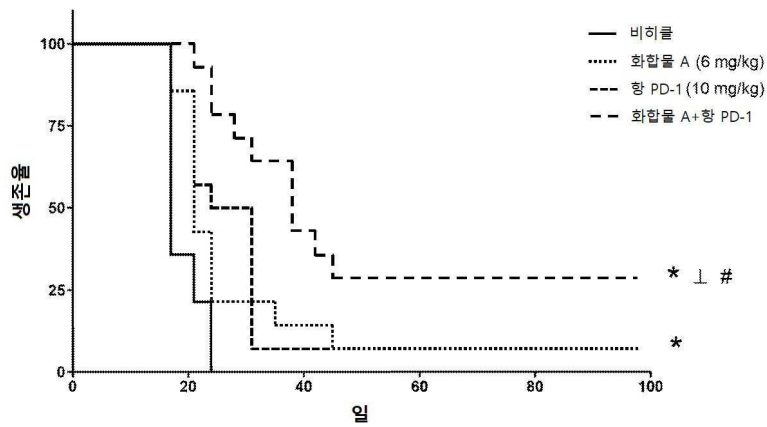
도면5



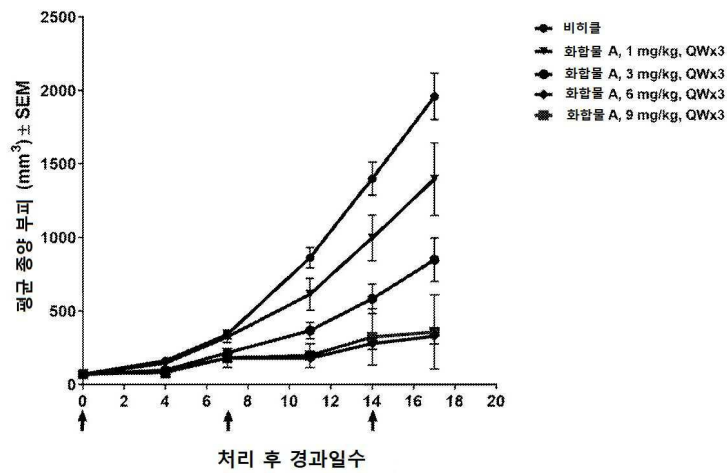
도면6



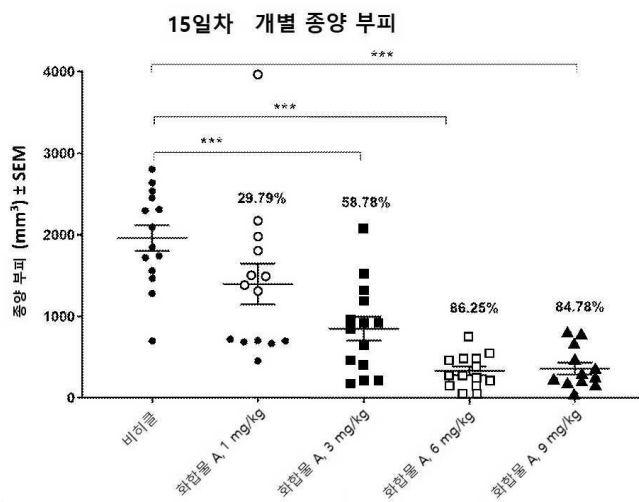
도면7



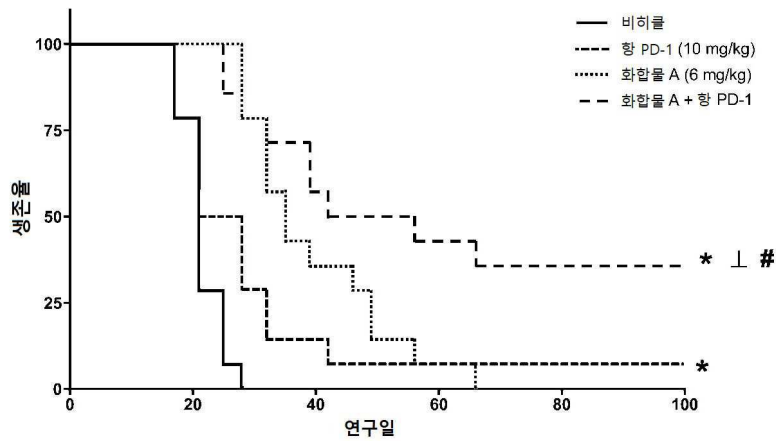
도면8



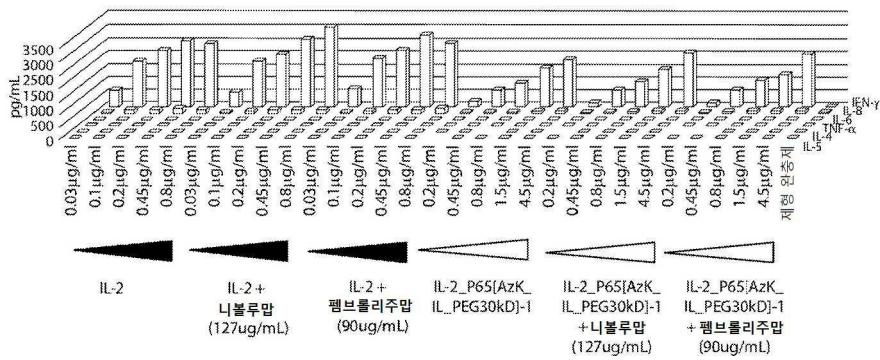
도면9



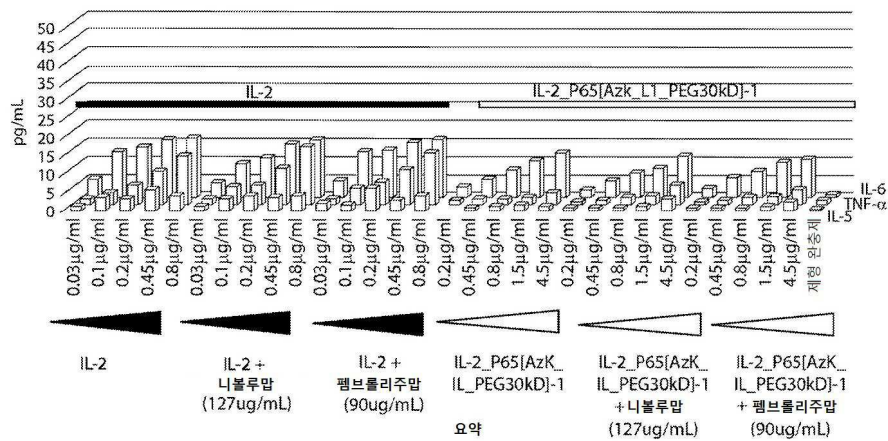
도면10



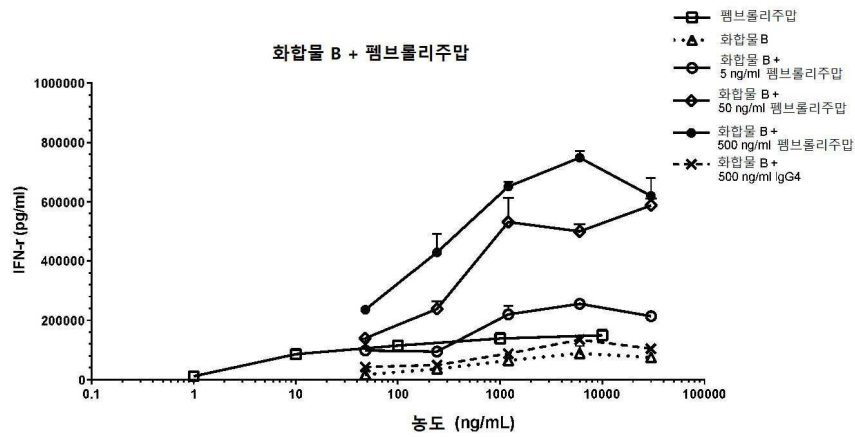
도면11a



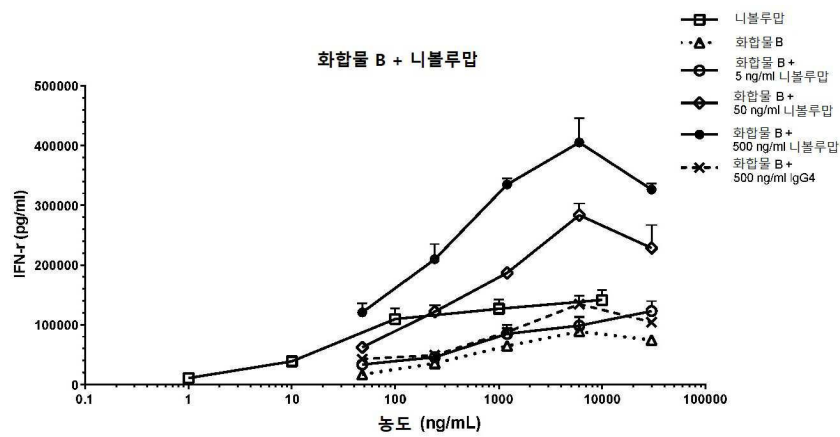
도면11b



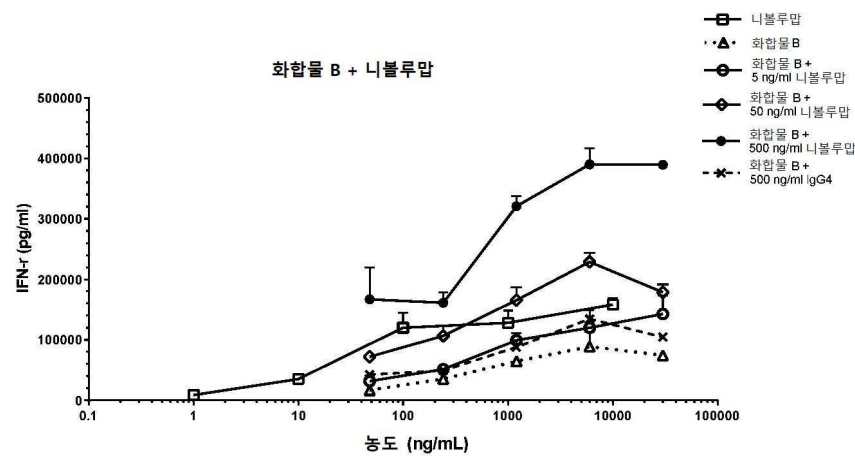
도면12



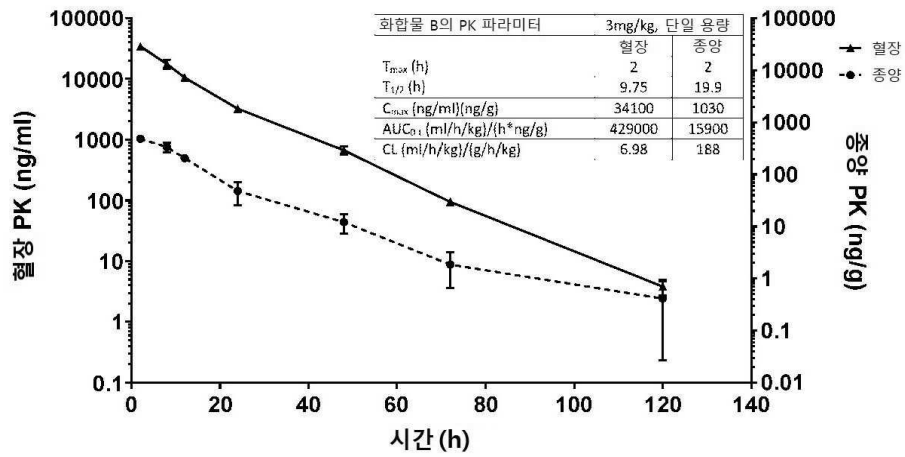
도면13



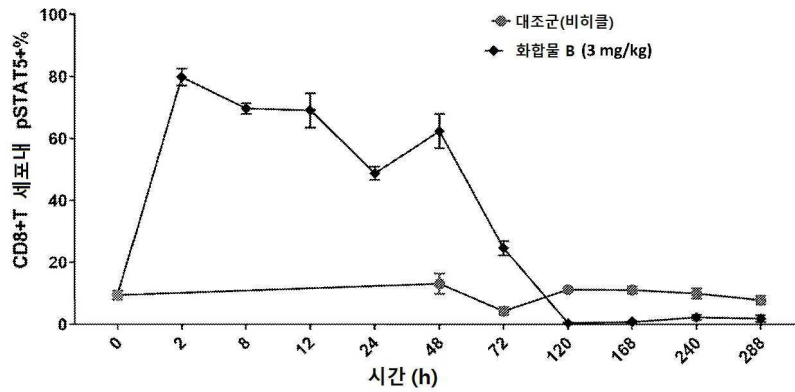
도면14



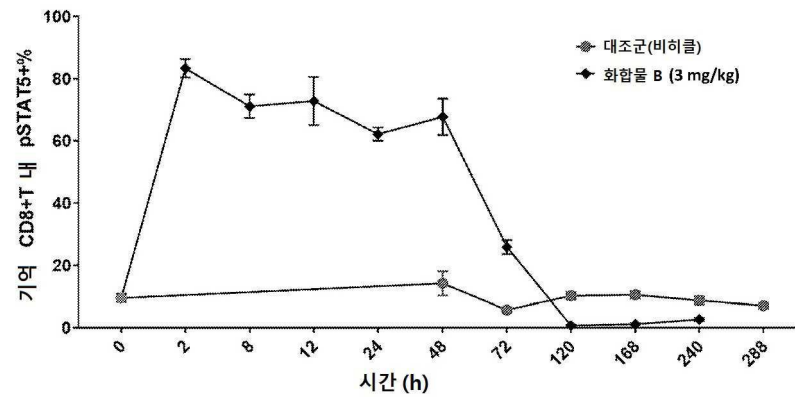
도면15



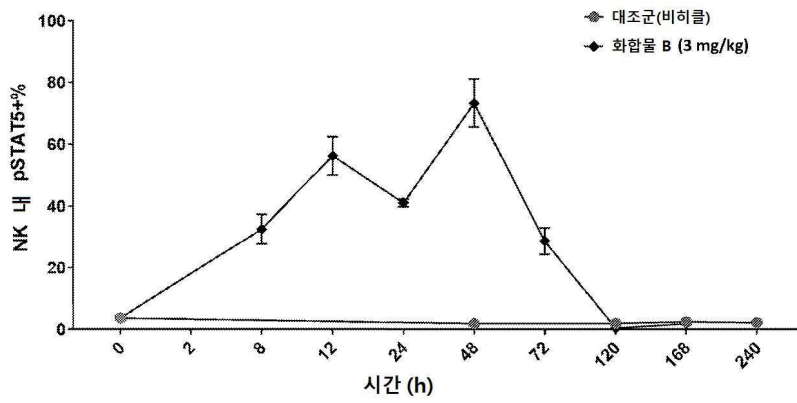
도면16a



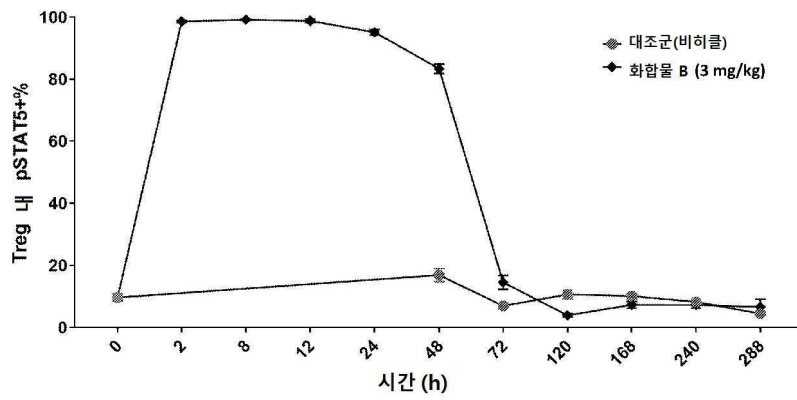
도면16b



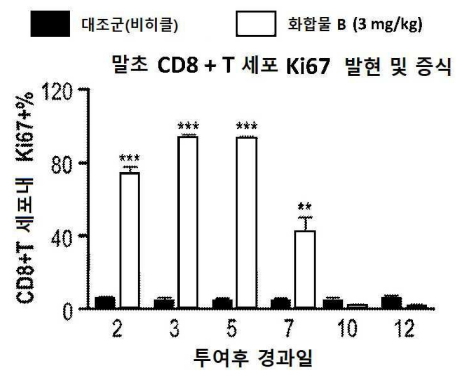
도면16c



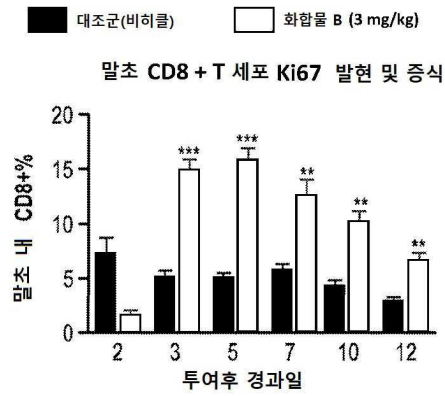
도면16d



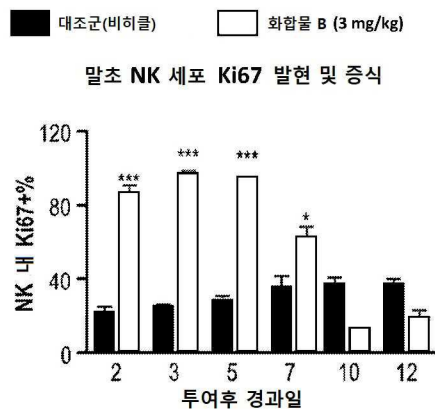
도면17a



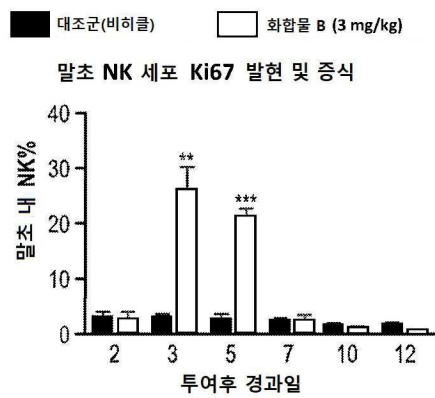
도면17b



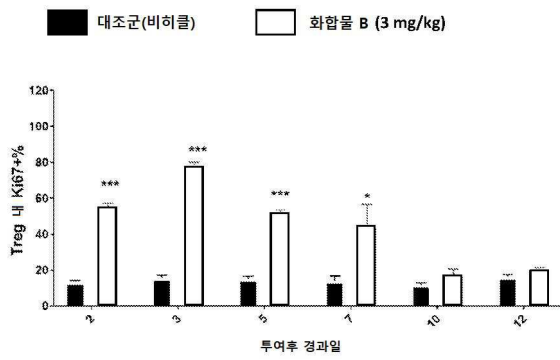
도면17c



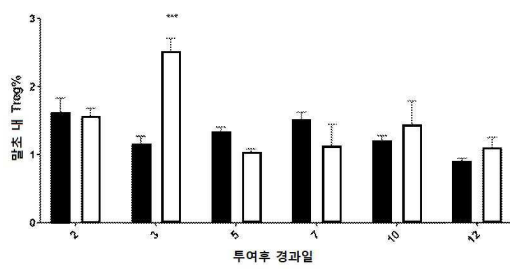
도면17d



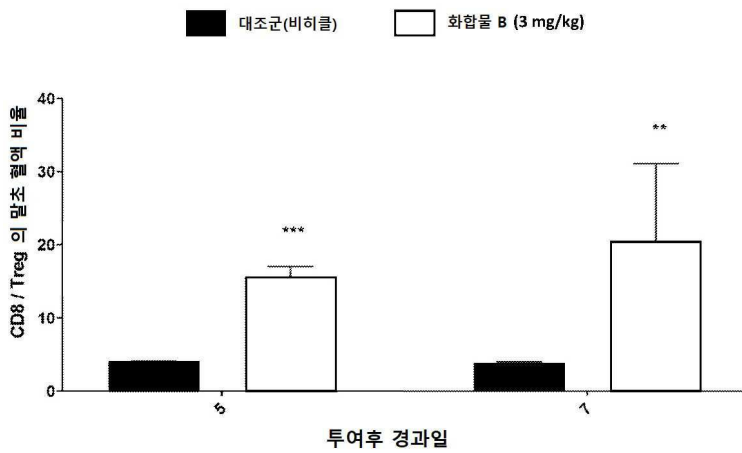
도면17e



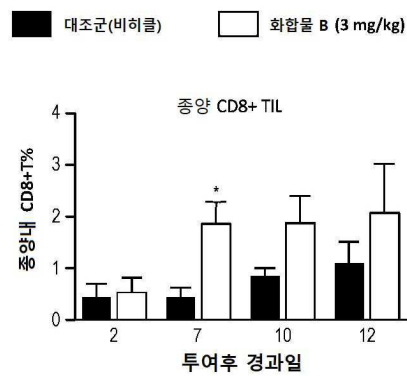
도면17f



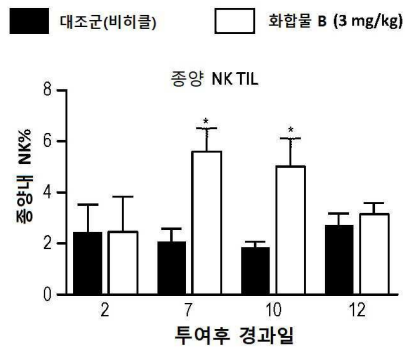
도면17g



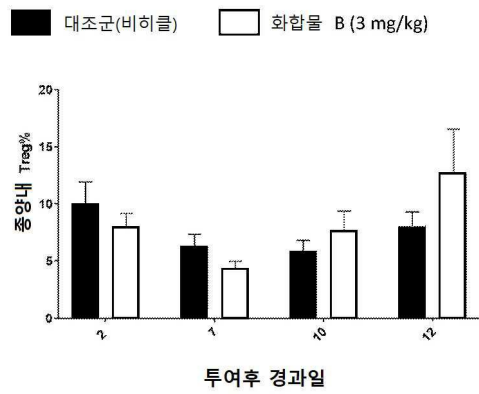
도면18a



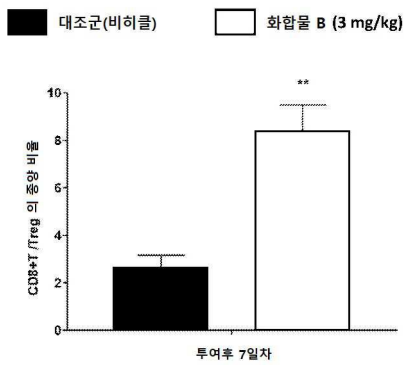
도면18b



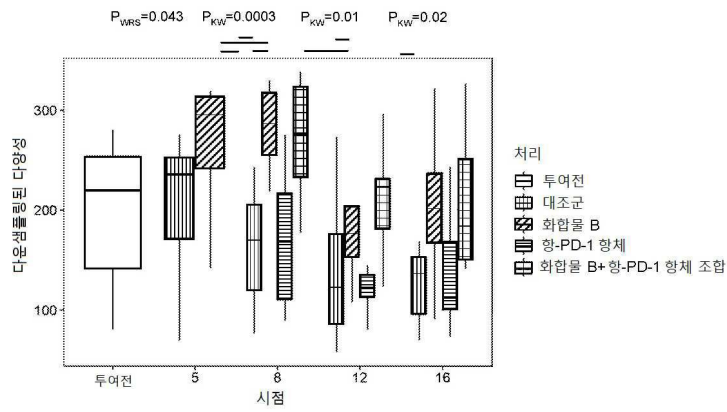
도면18c



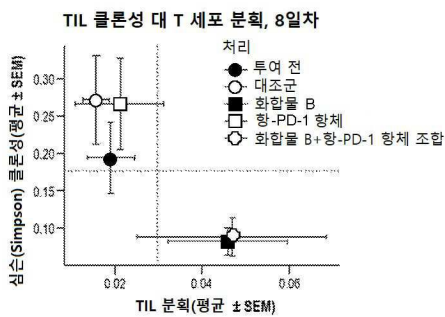
도면18d



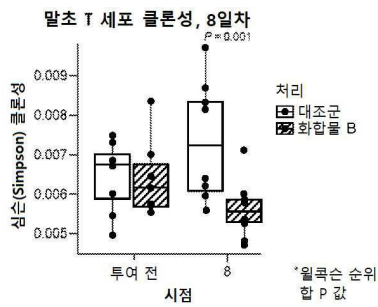
도면19



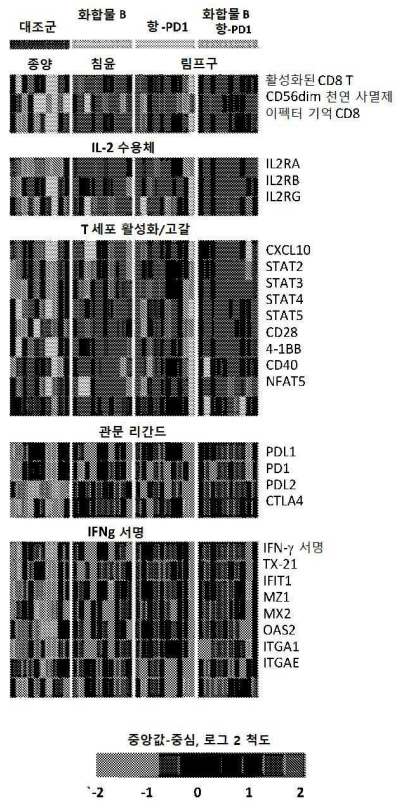
도면20



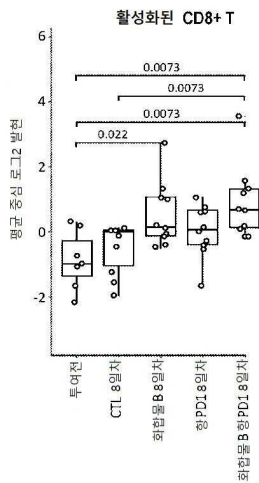
도면21



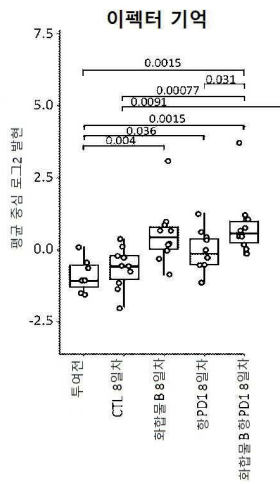
도면22



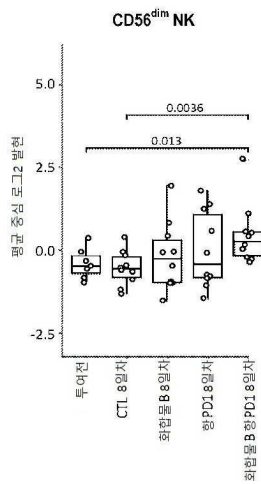
도면23a



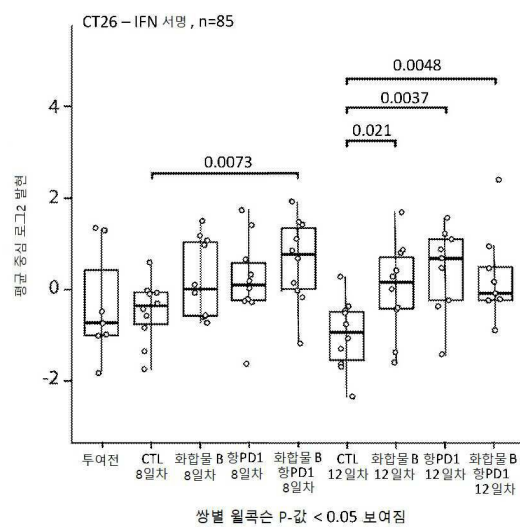
도면23b



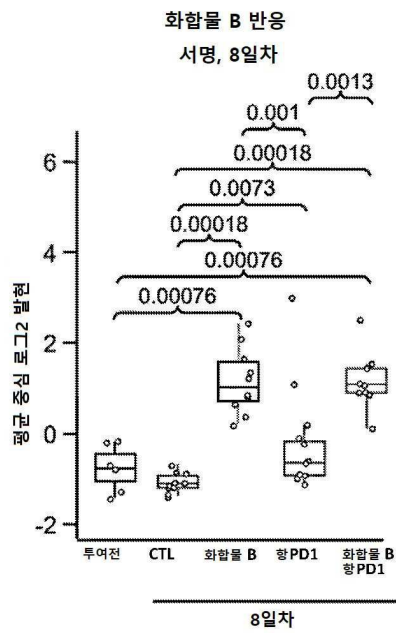
도면23c



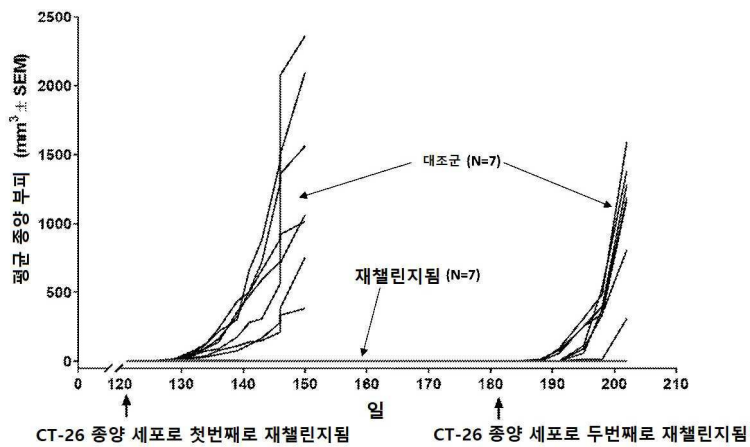
도면24a



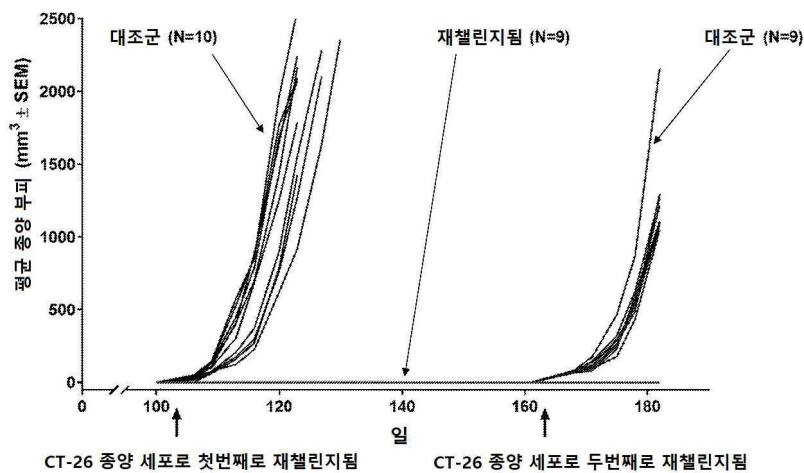
도면24b



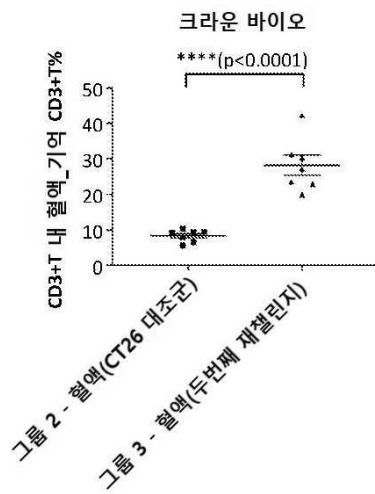
도면25



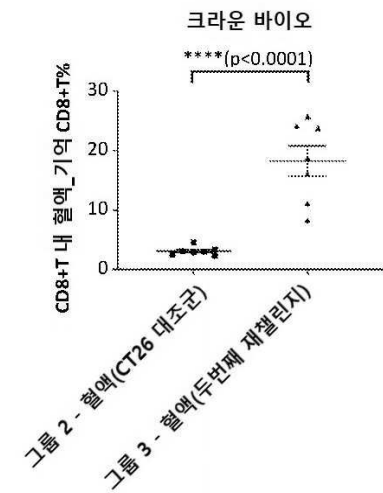
도면26



도면27a



도면27b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> SYNTHORX, INC.

<120> IMMUNO ONCOLOGY COMBINATION THERAPIES WITH IL-2 CONJUGATES

<130> 01183-0073-00PCT

<150> US 62/887,400

<151> 2019-08-15

<150> US 62/903,187

<151> 2019-09-20

<150> US 62/962,668

<151> 2020-01-17

<160> 98

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

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

<400> 1

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

1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210

> 2

<211> 153

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> IL-2 (homo sapiens) (precursor)

<400> 2

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145 150

<210> 3

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: aldesleukin

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
115 120 125
Ser Thr Leu Thr
130
<210> 4

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_C125S

<400> 4

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr
130
<210> 5
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_P65X
<220><221> misc_feature
<222> (65)..(65)
<223> Xaa is any unnatural amino acid
<400> 5
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Xaa Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 6

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 6

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

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

65	70	75	80
Arg	Pro	Arg	Asp
Leu	Ile	Ser	Asn
Ile	Asn	Val	Ile
Val	Leu	Glu	Leu
85	90	95	
Lys	Gly	Ser	Glu
Thr	Thr	Phe	Met
Cys	Glu	Tyr	Ala
Asp	Glu	Thr	Ala
100	105	110	
Thr	Ile	Val	Glu
Phe	Leu	Asn	Arg
Trp	Ile	Thr	Phe
Ser	Gln	Ser	Ile
115	120	125	
Ile	Ser	Thr	Leu
Thr			

130

<210

> 7

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 8

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43X

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 9

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic: IL-2_K35X

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130
 <210> 10
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK]
 <220><221> misc_feature
 <222> (65)..(65)
 <223> Xaa is [AzK]
 <400> 10
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 11

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222

> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115

120

125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 12

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 13

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 13

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

1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Xaa Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210

> 14

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 15

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 15

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

1 5 10 15

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 16

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

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

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 16

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

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

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 17

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 17

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

20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr
130
<210> 18
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG]
<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)
<223> Xaa is [AzK_PEG]
<400> 18
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Xaa Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 19

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 20

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 20

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

1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60
Xaa Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210

> 21

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 21

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

1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Xaa Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr

130
 <210> 22
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG5kD]
 <220><221> misc_feature
 <222> (42)..(42)
 <223> Xaa is [AzK_PEG5kD]
 <400> 22

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

 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 23

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG5kD]

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 23

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 24

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 24

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

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

85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 25

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 26

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 27

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 28

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 29

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 29

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

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

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

115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 30

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 31

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62X-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 32

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 33

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43X-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 33

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

1 5 10 15
Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn

20 25 30
Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Xaa Phe Tyr Met Pro Lys Lys

35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile

115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 34

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35X-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 34

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

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

20 25 30
Pro Xaa Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys

35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile

115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 35

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 35

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Thr Leu Thr
130

<210> 36

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: IL-2_E62[AzK]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 36

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

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

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

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

50 55 60

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

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

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

100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile

115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 37

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 38

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 38

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

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

65	70	75	80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys			
85	90	95	
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr			
100	105	110	
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile			
115	120	125	
Ser Thr Leu Thr			
130			

<210> 39

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK]

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 40

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 41

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_L1_PEG]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 42

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 42

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 43

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 43

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 44

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 45

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]

<400> 45

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

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

65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
115 120 125
Ser Thr Leu Thr
130

<210> 46

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 47

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
 35 40 45
 Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
 50 55 60
 Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
 65 70 75 80
 Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
 85 90 95
 Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
 100 105 110
 Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
 Ser Thr Leu Thr

130

<210> 48

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]

<400> 48

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

35 40 45
 Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
 50 55 60
 Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

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

100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 49

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]

<400> 49

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

1 5 10 15
Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn

20 25 30
Pro Xaa Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys

35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 50

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 51

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 51

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

1 5 10 15
Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn

20 25 30
Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys

35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Xaa Leu Lys Pro

50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile

115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 52

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 53

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 53

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

1 5 10 15

Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn
20 25 30
Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Xaa Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
115 120 125
Ser Thr Leu Thr
130
<210> 54

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 54

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

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

100 105 110
 Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
 Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 55

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 55

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

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr
130
<210> 56
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG]-2
<220><221> misc_feature
<222> (62)..(62)
<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]
<400> 56
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Xaa Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 57

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 58

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

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

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 59

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG]

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 60

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_L1_PEG5kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]

<400> 60

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Xaa Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 61
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG5kD]-2
 <220><221> misc_feature
 <222> (62)..(62)
 <223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]
 <400> 61

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

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

65						70						75						80
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu			
				85						90						95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala			
				100						105						110		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile			
				115						120						125		
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr														
				130														
<210>	62																	
<211>	133																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial Sequence																	
<220>																		
><223>	Synthetic: IL-2_F42[AzK_L1_PEG5kD]-2																	
<220><221>	misc_feature																	
<222>	(42)..(42)																	
<223>	Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]																	
<400>	62																	
Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His			
1					5						10						15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys			
				20						25						30		
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Xaa	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys			
				35						40						45		
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys			
				50						55						60		
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu			
65					70						75						80	
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu			
				85						90						95		
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala			

100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130
 <210> 63
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG5kD]-2
 <220><221> misc_feature
 <222> (43)..(43)
 <223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]
 <400> 63
 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Xaa Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 64

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG5kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG5kD]

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 65

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 66

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 66

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

1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 67

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 67

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 68

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 68

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 69

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_ L1_PEG30kD]-2

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is [AzK_L1_PEG30kD]

<400> 69

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 70

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

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

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 70

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 71

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 71

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 72

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222>

> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 72

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

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

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

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

50 55 60

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

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

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

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 73

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 73

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

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

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Xaa Phe Tyr Met Pro Lys Lys
 35 40 45
 Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
 50 55 60
 Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
 65 70 75 80
 Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
 85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
 100 105 110
 Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
 Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 74

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_PEG]

<400> 74

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

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

65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
 85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
 100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 75

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_ PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 75

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

 35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Xaa
 50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
 85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 76

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 77

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 78

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 78

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 79

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K35[AzK_PEG5kD]-1

<220><221> misc_feature

<

222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_PEG5kD]

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30
Pro Xaa Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

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

115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 80

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_P65[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (64)..(64)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 80

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

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Xaa
50 55 60

Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
85 90 95

Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
115 120 125
Ser Thr Leu Thr
130

<210> 81

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E62[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 81

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

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

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

100 105 110
 Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
 Ser Thr Leu Thr
 130
 <210> 82

<211> 132
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: IL-2_F42[AzK_PEG30kD]-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (41)..(41)
 <223> Xaa is [AzK_PEG30kD]
 <400> 82

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

35 40 45
 Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
 50 55 60
 Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg
 65 70 75 80
 Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
 85 90 95
 Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110
 Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
 Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 83

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_K43[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 83

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 84

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: IL-2_K35[AzK_PEG30kD]-1

<220><221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is [AzK_PEG30kD]

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 85

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F44X

<220><221> misc_feature

<222> (44)..(44)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 86

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_F44X-1

<220><221> misc_feature

<222

> (43)..(43)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 87

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_R38X

<220><221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 88

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_R38X-1

<220><221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 88

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Pro Lys Leu Thr Xaa Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 89

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_T41X

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 90

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_T41X-1

<220><221> misc_feature

<222> (40)..(40)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 90

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

1 5 10 15
Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn

20 25 30
Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Xaa Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys

35 40 45
Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

50 55 60
Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80
Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

85 90 95
Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr

100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile

115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 91

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E68X

<220><221> misc_feature

<222> (68)..(68)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 92

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_E68X-1

<220><221> misc_feature

<222> (67)..(67)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30
 Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys
 35 40 45
 Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro
 50 55 60
 Leu Glu Xaa Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

 65 70 75 80
 Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
 85 90 95
 Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
 100 105 110
 Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
 Ser Thr Leu Thr
 130
 <210> 93

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_Y45X

<220><221> misc_feature

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 93

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

 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

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

100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 94

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_Y45X-1

<220><221> misc_feature

<222> (44)..(44)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 94

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

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

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

100 105 110
Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile

115 120 125
Ser Thr Leu Thr

130

<210> 95

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_V69X

<220><221> misc_feature

<222> (69)..(69)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 95

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 96

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_V69X-1

<220><221> misc_feature

<222> (68)..(68)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Glu Glu Xaa Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Leu Thr

130

<210> 97

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_L72X

<220><221> misc_feature

<222> (72)..(72)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 98

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IL-2_L72X-1

<220><221> misc_feature

<222> (71)..(71)

<223> Xaa is any unnatural amino acid

<400> 98

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

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

 65 70 75 80
 Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys
 85 90 95
 Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr
 100 105 110
 Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
 115 120 125
 Ser Thr Leu Thr
 130