



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0114063
(43) 공개일자 2022년08월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/54 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01)
C07K 14/715 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/5443 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7024241
(22) 출원일자(국제) 2022년12월11일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년07월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/064515
(87) 국제공개번호 WO 2021/119429
국제공개일자 2021년06월17일
- (30) 우선권주장
62/947,686 2019년12월13일 미국(US)
- (71) 출원인
큐진 인크.
미국 매사추세츠 02452 스위트 142 왈담 웨이벌리
오크스 로드 411
- (72) 발명자
리, 유-셴
미국, 캘리포니아주 91360 싸우전드 오크스 새도
우 힐 서클 3025
루이, 링원
미국, 매사추세츠 02493 웨스턴 애로우헤드 로드
11
쉬, 정
미국, 매사추세츠 02452 월섬 비숍스 포레스트 드
라이브 67
- (74) 대리인
허용록

전체 청구항 수 : 총 52 항

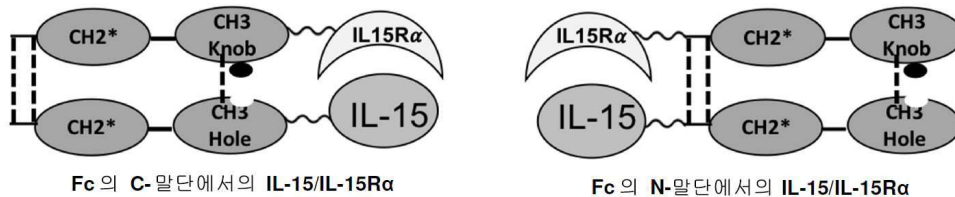
(54) 발명의 명칭 신규한 인터루킨-15 (IL-15) 융합 단백질 및 이의 용도

(57) 요약

본 개시는 암 및 다른 장애의 치료에 사용하기 위한 신규한 및 개선된 IL-15 융합 단백질을 제공한다. 다양한 구현예에서, 본 발명의 융합 단백질은 2개의 기능적 도메인: IL-15/IL-15R α Sushi 도메인(또한 본원에서 "IL-15/IL-15R α Sushi 복합체"로서 지칭됨) 및 항체 도메인을 가지며, 이들 각각은 상이한 형태를 취하고, IL-15가 항체 도메인의 C-말단에 융합되고 IL-15R α Sushi와 공-발현 및 비-공유적으로 복합체화되도록 구성된다. 중요하게는, 본 발명의 융합 단백질은 현재까지 평가되는 IL-15 치료제로 관측되는 수 개의 제한을 처리하며; 구체적으로, 융합 단백질은 생체내에서 IL-15의 연장된 반감기를 입증하고, IL-15 또는 관련된 사이토카인 치료제와 비교하여 최적화된 전임상 활성을 입증한다.

대표도 - 도1a

IL-15/IL-15Rα 이종이량체 Fc 융합 형식



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 31/12 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 35/04 (2018.01)

C07K 14/7155 (2013.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

C07K 16/40 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

단리된 인터루킨-15(IL-15) 융합 단백질 복합체로서, 다음: 즉, (1) 이중 단백질에 링크되는 IL-15 폴리펩타이드(또는 그 변이체); 및 (2) 상기 IL-15 폴리펩타이드에 비공유적으로 링크되어 IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질을 형성하는 IL-15 수용체 알파("IL-15R α ") 도메인을 포함하며, 상기 IL-15 변이체 폴리펩타이드는 서열번호: 56-63 및 66-81에 제시되는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드의 군으로부터 선택되는, 단리된 인터루킨-15(IL-15) 융합 단백질 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 IL-15 폴리펩타이드는 상기 이중 단백질의 C-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 IL-15 폴리펩타이드는 상기 이중 단백질의 N-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질.

청구항 4

단리된 IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질로서, 다음: 즉, (1) 이중 단백질에 링크되는 IL-15R α 도메인; 및 (2) 상기 IL-15R α 도메인에 비공유적으로 링크되는 IL-15 폴리펩타이드(또는 그 변이체)를 포함하는, 단리된 IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 상기 이중 단백질의 C-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 상기 이중 단백질의 N-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 서열번호: 4에 제시되는 상기 아미노산 서열 또는 그 임의의 기능적 단편을 포함하는, IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 IL-15 수용체 알파 스시("IL-15R α Sushi") 도메인이며, 상기 IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 상기 서열에 적어도 90% 상동인 아미노산 서열을 포함하는, IL-15/IL-15R α -이중 단백질 융합 단백질.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 상기 서열에 적어도 90% 상동인 아미노산 서열을 포함하는, The IL-15/IL-15R α -이종 단백질 융합 단백질.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 이종 단백질은 Fc 도메인이고, 각각의 IL-15 폴리펩타이드는 펩타이드 링커에 의해 Fc 도메인에 공유적으로 부착되는, IL-15/IL-15R α -이종 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 펩타이드 링커는 서열번호: 9-12, 서열번호: 47 및 서열번호: 153-154에 제시되는 상기 서열의 군으로부터 선택되는, IL-15/IL-15R α -Fc 융합 단백질 복합체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 이종 단백질은 항체, 항체 단편, 리간드 또는 그 변이체, 종양 연관 항원(tumor associated antigen; TAA) 또는 조직-특이적 항원 또는 표적에 결합할 수 있는 수용체 또는 그 변이체, 세포 표면 분자 또는 세포외 기질 단백질, 프로테아제(들) 및 임의의 번역 후 변형 잔기(들)로 구성되는 상기 군으로부터 선택되는, IL-15/IL-15R α -이종 단백질 융합 단백질.

청구항 13

제12항에 따른 작제물로서,

상기 항체, 또는 항체 단편은 다음: 즉, PD-1 길항적 항체; PD-L1 길항적 항체; CTLA-4 길항적 항체; CD20 길항적 항체; Her-2/neu 길항적 항체; EGFR 길항적 항체; FAP 길항적 항체; 인테그린 $\alpha_4\beta_7$ 에 대한 항-염증성 항체; TNF α 길항적 항체; 및 작용적 CD40 항체로 구성되는 상기 군으로부터 선택되는, 작제물.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 항체는 길항적 섬유아세포 활성화 단백질(Fibroblast Activation Protein; FAP) 항체 또는 항체 단편인, 작제물.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 항체는 서열번호: 109 및 110에 제시되는 상기 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 항-FAP 항체인, 작제물.

청구항 16

제13항에 있어서,

상기 D1 도메인은 면역 관문 조절제에 대한 항체 또는 항체 단편인, 작제물.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 항체는 길항 프로그래밍된 데스-1(Programmed Death-1; PD-1) 항체 또는 항체 단편인, 작제물.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 항체는 서열번호: 111 및 112에 제시되는 상기 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열; 서열번호: 113 및 114에 제시되는 상기 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열; 서열번호: 115 및 116에 제시되는 상기 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열; 서열번호: 117 및 118에 제시되는 상기 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열; 및 서열번호: 119 및 120에 제시되는 상기 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 상기 항체로부터 선택되는 길항 PD-1 항체인, 작제물.

청구항 19

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 이종 단백질은 반감기 연장을 제공하는 전장 널(null) 항체 또는 항체 단편으로 구성되는 상기 군으로부터 선택되는, IL-15/IL-15R α -이종 단백질 융합 단백질.

청구항 20

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 이종 단백질은 다음: 즉, IL-15/IL-15R α 복합체와의 부가적 또는 상승적 효과를 제공하는 전장 IgG 또는 이종특이적 이종체로 구성되는 상기 군으로부터 선택되는, IL-15/IL-15R α -이종 단백질 융합 단백질.

청구항 21

단리된 IL-15 융합 단백질 복합체로서,

(1) 2개의 이종 단백질에 링크되는 2개의 폴리펩타이드(또는 그 변이체); 및 (2) 각각의 IL-15 폴리펩타이드에 비공유적으로 링크되어 이량체 IL-15/IL-15R α 이종 단백질 융합 단백질 복합체를 형성하는 2개의 IL-15R α 도메인을 포함하며, 상기 IL-15 변이체 폴리펩타이드는 서열번호: 56-63 및 66-81에 제시되는 상기 아미노산 서열을 갖는 상기 폴리펩타이드의 군으로부터 선택되는, 단리된 IL-15 융합 단백질 복합체.

청구항 22

제21항에 있어서,

상기 2개의 IL-15 폴리펩타이드는 상기 2개의 이종 단백질의 C-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α 이종 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 23

제21항에 있어서,

상기 2개의 IL-15 폴리펩타이드는 상기 2개의 이종 단백질의 N-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α 이종 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 서열번호: 4에 제시되는 상기 아미노산 서열 또는 그 임의의 기능적 단편을 포함하는, IL-15/IL-15R α 이종 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 25

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 IL-15 수용체 알파 스시("IL-15R α Sushi") 도메인이며, 상기 IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 상기 서열에 적어도 90% 상동인 아미노산 서열을 포함하는, IL-15/IL-15R α 이종 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 26

제25항에 있어서,

상기 IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 상기 아미노산 서열을 포함하는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 27

제21항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서,

각각의 IL-15 폴리펩타이드는 펩타이드 링커에 의해 이중 단백질 도메인에 공유적으로 부착되는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 28

제27항에 있어서,

상기 펩타이드 링커는 서열번호: 9-12, 서열번호: 47, 및 서열번호: 153-154에 제시되는 서열의 상기 군으로부터 선택되는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 29

단리된 IL-15 융합 단백질 복합체로서,

(1) 2개의 이중 단백질 도메인에 링크되는 2개의 IL-15R α 도메인; 및 (2) 상기 IL-15R α 도메인에 비공유적으로 링크되어 이량체 IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체를 형성하는 2개의 IL-15 폴리펩타이드(또는 그 변이체)를 포함하며, 상기 IL-15 변이체 폴리펩타이드는 서열번호: 56-63 및 66-81에 제시되는 상기 아미노산 서열을 갖는 상기 폴리펩타이드의 군으로부터 선택되는, 단리된 IL-15 융합 단백질 복합체.

청구항 30

제29항에 있어서,

상기 2개의 IL-15R α 도메인은 상기 2개의 이중 단백질 도메인의 C-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 31

제29항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 상기 2개의 이중 단백질 도메인의 N-말단에 링크되는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 서열번호: 4에 제시되는 상기 아미노산 서열 또는 그 임의의 기능적 단편을 포함하는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 33

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15R α 도메인은 IL-15 수용체 알파 스시("IL-15R α Sushi") 도메인이며, 상기 IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 상기 서열에 적어도 90% 상동인 아미노산 서열을 포함하는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 34

제33항에 있어서,

상기 IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 상기 아미노산 서열을 포함하는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 35

제29항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

각각의 IL-15 폴리펩타이드는 펩타이드 링커에 의해 이중 단백질 도메인에 공유적으로 부착되는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 36

제35항에 있어서,

상기 펩타이드 링커는 서열번호: 9-12, 서열번호: 47, 및 서열번호: 153-154에 제시되는 서열의 상기 군으로부터 선택되는, IL-15/IL-15R α 이중 단백질 융합 단백질 복합체.

청구항 37

약제학적으로 허용가능한 담체를 갖는 혼합물에서 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 IL-15/IL-15R α-Fc 융합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 38

대상체에서 암 또는 암 전이를 치료하는 방법으로서,

상기 대상체에 제37항에 따른 상기 약제학적 조성물의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 39

제38항에 있어서,

상기 암은 췌장 암, 위암, 난소암, 결장직장암, 흑색종, 백혈병, 골수이형성 증후군, 폐암, 간암, 유방암, 전립선암, 뇌암, 방광암, 두경부 암, 또는 횡문근육종으로 구성되는 상기 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 40

제38항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 암 또는 암 전이를 치료할 수 있는 제2 요법을 더 포함하며; 상기 병용 요법은 종양 세포의 증가된 효과기 세포 사멸을 제공하는, 방법.

청구항 41

대상체에서 바이러스성 감염을 치료하는 방법으로서,

상기 대상체에 제37항에 따른 상기 약제학적 조성물의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 42

수지상 돌기 세포, 종양 침윤 림프구(tumor infiltrating lymphocyte; TIL), NK 세포, TCR-T 세포; CAR-NK 세포, iPS 유도-NK 세포, iPS 유도 TCR-T 세포, iPS 유도 CAR-T 세포 또는 iPS 유도 CAR-NK 세포를 사용하는 세포 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는 세포 생존 및 반감기를 유지시키기 위한 입양 전달 NK 및 T 세포 요법 또는 CAR-NK 및 CAR-T 요법과 조합으로 시험관내 및 생체내에서 NK 세포 및 T 세포를 확장 및 갱신시키는 방법으로서; 상기 대상체에게 제37항에 따른 상기 약제학적 조성물의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 43

IL-15/IL-15R α 융합 단백질 복합체를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은: a) 숙주 세포에서 Fc 도메인에 부착되는 IL-15R α 도메인 및 IL-15 폴리펩타이드를 공-발현시키는 단계; b) 상기 IL-15R α 도메인 및 상기 IL-15-Fc 융합 단백질을 발현시키기에 충분한 조건 하의 배지에서 상기 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 c) 상기 숙주 세포 또는 배지로부터 상기 IL-15/IL-15R α-Fc 융합 단백질 복합체를 정제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 44

감소된 응집 및 증가된 발현을 초래하는 IL-15Ra 도메인과의 공-발현에 의해 IL-15 융합 단백질 발현을 개선하는 방법.

청구항 45

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 IL-15-Fc 도메인 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자.

청구항 46

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 따른 IL-15R α 도메인을 인코딩하는 핵산 분자.

청구항 47

제45항의 상기 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.

청구항 48

제46항의 상기 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.

청구항 49

제46항의 상기 핵산 분자를 더 포함하는 제66항의 발현 벡터.

청구항 50

제47항 내지 제49항 중 어느 한 항에 따른 상기 발현 벡터 중 하나 이상을 포함하는 숙주 세포.

청구항 51

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항에 따른 IL-15/IL-15R α 융합 단백질 복합체를 생산하는 방법으로서, 상기 IL-15/IL-15R α 융합 단백질 복합체의 발현을 촉진시키는 조건 하에서 제1항 내지 제49항의 상기 숙주 세포를 배양하고 상기 IL-15/IL-15R α 융합 단백질 복합체를 회수하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 52

제51항의 방법에 의해 생산되는 분리된 IL-15/IL-15R α 융합 단백질 복합체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 인터루킨-15 (IL-15) 융합 단백질 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 암은 전통적으로 화학요법, 방사선, 표적 요법 및 수술에 의해 치료되어 온 반면, 암 치료의 제5 기둥(pillar)인 면역요법은 지난 10년에 걸쳐 부상하였고 암에 대한 전쟁에서 혁신을 일으켰다. 면역요법 약물에 대한 벤치마크(benchmark)는 T 세포 관문(CTLA-4 및 PD-1/PD-L1) 억제제의 개발에 의해 확립되었다. 이러한 요법은 특정 암을 갖는 환자에서 최대 50%의 객관적 반응률을 초래하는 종양-특이적 T 세포의 풀을 효과적으로 확장 및 재활성화시키는 것으로 입증되었다.

[0003] 최근에, 사이토카인의 4개의 α-나선 다발 계열의 멤버인 인터루킨-15 (IL-15)는 암의 치료를 위한 후보 면역조절제로서 부상하였다. IL-15는 항원-제시 수지상 세포, 단핵구 및 대식세포 상에서 발현되는, IL-15R α 인, 그것의 특이적 수용체에 결합하고, 신호전달을 개시하기 위해, T 및 NK(natural killer) 세포를 포함하는, 응답 세포 상에서 IL-15Rβ 및 공통 사이토카인 수용체 γ 사슬(γc)로 구성되는 이종이량체 수용체 복합체를 트랜스-활성화시킨다. IL-15는 광범위한 활성을 나타내고 T, B 및 NK 세포의 분화 및 증식을 유도한다. 그것은 또한 CD8⁺ T 세포의 세포용해 활성을 향상시키고 장기-지속되는 항원-경험 CD8⁺CD44^{hi} 기억 T 세포를 유도한다. IL-15는 B

세포에 의해 분화 및 면역글로불린 합성을 자극하고 수지상 세포의 성숙을 유도한다. 그것은 면역억제 T 조절 세포(Treg)를 자극하지 않는다. 이와 같이, IL-15 활성을 신장시키는 것은 선천적 및 적응적 면역성을 향상시키고 종양과 싸울 수 있어서, 그것을 항암 치료를 위한 유망한 제제로 만들 수 있다는 가설이 제기되었다(Steel 등의, Trends in Pharmacological Sciences, 33(1):35-41, 2012).

[0004] 전이성 악성 흑색종을 갖는 환자에서 재조합 인간 IL-15의 정맥내 주입의 인간 최초 I 단계 임상 시험에서, IL-15는 전이성 악성종양을 갖는 환자에 안전하게 투여될 수 있었고 IL-15 투여는 CD8 기억 T 세포 전에, NK 세포 및 **γδ** 세포가 가장 극적으로 영향을 받은 상태에서, 혈액에서 림프구 서브세트의 항상성을 현저하게 변경시켰다고 보고되었다(Conlon 등, J Clin Oncol., 33(1), 74-82).

[0005] 면역 반응을 증강시키는 암 면역요법으로서 IL-15를 사용하는 이러한 새로운 진전에도 불구하고, 치료법으로서 IL-15의 효과적인 사용에 대한 제한들이 여전히 잔존한다. 예를 들어, IL-15는 1) 그것의 **생체내** 항종양 효과를 방해하는 낮은 생체이용률 및 2) 독성을 야기하는, 치료 관련 노출을 달성하기 위한 고용량의 투여를 위한 요건을 야기하는 짧은 반감기(<40분)를 갖는다. 게다가, IL-15는 표준 포유동물 세포 시스템에서 불량한 발현 수준을 갖는 것으로 이해된다.

[0006] 암의 치료를 위한 매우 효과적이고 안전한 신규한 치료법을 제공하기 위한 중요한 필요성이 남아 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 일 양태에서, 본 발명은 암의 치료에 사용하기 위한 신규하고 개선된 IL-15 융합 단백질을 제공한다. 다양한 구현예에서, 본 발명의 융합 단백질은 2개의 기능적 도메인: IL-15/IL-15수용체 α (IL-15Rα) 성분(본원에서 "IL-15/IL-15Rα 복합체로서 또한 지칭됨") 및 이종 단백질을 가지며, 이들 각각은 상이한 형태를 취할 수 있다. 다양한 구현예에서, 융합 단백질은 IL-15가 이종 단백질의 C-말단 또는 이종 단백질의 N-말단에 융합되고 IL-15Rα 도메인과 공-발현되고 비-공유적으로 복합체화되도록 구성된다(이종 단백질이 Fc 도메인인 도 1b 및 도 1c 그리고 이종 단백질이 항체인 도 30a 및 도 30b를 참조).

[0008] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15Rα 복합체를 포함하며 여기서 IL-15 도메인은 서열번호: 2에 제시되는 바와 같은 성숙한 인간 IL-15 폴리펩타이드(본원에서 huIL-15 또는 IL-15 야생형(wt)으로 또한 언급됨)의 서열을 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15 도메인은 서열번호: 2에 제시되는 바와 같은 성숙한 인간 IL-15 폴리펩타이드의 서열로부터 유도되는 서열을 포함하는 IL-15 변이체(또는 돌연변이체)일 것이다. IL-15의 변이체(또는 돌연변이체)는 본원에서 천연(native) 아미노산, 성숙한 서열 내의 그것의 위치 및 변이체 아미노산을 사용하여 지칭된다. 예를 들어, huIL-15 "S58D"는 서열번호: 2의 위치 58에서 S의 D로의 치환을 포함하는 인간 IL-15를 지칭한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는, 예를 들어, 고유 IL-15 폴리펩타이드와 비교하여 IL-15Rβ에 대한 증가된 결합 활성 및 증가된 기능적 활성에 의해 입증되는 바와 같이 IL-15 슈퍼-작용제로서 기능한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는, 예를 들어, 천연 IL-15 폴리펩타이드와 비교하여 감소된 또는 없는 기능적 활성을 제외하고 IL-15Rβ에 대한 결합 활성에 의해 입증되는 바와 같이 IL-15 길항제로서 기능한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는 천연 IL-15 폴리펩타이드와 비교하여 **IL-15Rβyc** 수용체에 대한 증가된 결합 친화도 또는 감소된 결합 활성을 갖는다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체의 서열은 천연 IL-15 서열과 비교하여 적어도 하나의(즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 이상의) 아미노산 변화를 갖는다.

아미노산 변화는 IL-15Rβ 및/또는 **IL-15Ryc**와 상호작용하는 IL-15의 도메인에서 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 아미노산 변화는 서열번호: 2의 위치 30, 31, 32, 58, 62, 63, 67, 68, 또는 108에서 하나 이상의 아미노산 치환 또는 결실이다. 다양한 구현예에서, 아미노산 변화는 성숙한 인간 IL-15 서열의 위치 30에서 D의 T로의 치환, 위치 31에서 V의 Y로의 치환, 위치 32에서 H의 E로의 치환, 위치 58에서 S의 D 또는 H 또는 R 또는 Q 또는 I 또는 P로의 치환, 위치 62에서 T의 D로의 치환, 위치 63에서 V의 F 또는 A 또는 R 또는 K로의 치환, 위치 67에서 I의 V로의 치환, 위치 68에서 I의 F 또는 H 또는 D 또는 K 또는 Q 또는 G로의 치환, 또는 위치 108에서 Q의 A 또는 M 또는 S 또는 E 또는 K로의 치환이거나, 이들 치환의 임의의 조합이다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는 서열번호: 2의 N-말단에서 1, 또는 2, 또는 3, 또는 4, 5, 또는 6의 아미노산 결실을 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는 서열번호: 2의 C-말단에서 .1, 또는 2, 또는 3, 또는 4, 또는 5, 또는 6, 또는 7, 또는 8, 또는 9, 또는 10의 아미노산 결실을 포함한다.

다양한 구현예에서, IL-2 변이체는 서열번호: 2의 위치 N95 이후에 'GS'(서열번호: 12), 또는 'GSSGG'(서열번호: 153), 또는 'GSSGGSGGS'(서열번호: 154) 아미노산 삽입을 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입의 조합을 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체 폴리펩타이드는 서열번호: 24-45, 56-63, 및 66-81에 제시되는 서열 세트를 포함한다.

- [0009] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α 복합체를 포함하며 여기서 IL-15R α 는 IL-15R α Sushi 도메인(서열번호: 5) 또는 IL-15R α 세포외 도메인(서열번호: 4) 또는 그 임의의 기능적 도메인을 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15R α 도메인은 서열번호: 4에 제시되는 서열에 대해 적어도 90%인 서열을 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15R α 도메인은 서열번호: 4에 제시되는 서열에 대해 적어도 95%인 서열을 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15R α 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 서열에 대해 적어도 90%인 서열을 포함하는 IL-15R α Sushi 도메인이다. 다양한 구현예에서, IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 서열에 대해 적어도 95%인 서열을 포함한다.
- [0010] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체 및 적어도 하나의 이중 단백질을 포함한다.
- [0011] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α 복합체를 포함하며 여기서 IL-15는 이중 단백질의 C-말단, 또는 N-말단에 융합된다.
- [0012] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α -이중 단백질 복합체를 이량체 또는 단량체 형식으로 함유한다.
- [0013] 다양한 구현예에서, 이중 단백질은 Fc 도메인(또는 그 기능적 단편)이다. 다양한 구현예에서, Fc 도메인은 인간 IgG1 Fc 도메인, 인간 IgG2 Fc 도메인, 인간 IgG3 Fc 도메인, 인간 IgG4 Fc 도메인, IgA Fc 도메인, IgD Fc 도메인, IgE Fc 도메인, IgG Fc 도메인 및 IgM Fc 도메인; 또는 이들의 임의의 조합으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 다양한 구현예에서, Fc 도메인은 변경된 보체 또는 Fc 수용체 결합 특성을 갖는 Fc 도메인을 야기하는 아미노산 변화를 포함한다. 변경된 보체 또는 Fc 수용체 결합 특성을 갖는 Fc 도메인을 생성하는 아미노산 변화는 당해 기술에 알려져 있다. 다양한 구현예에서, 이량체 IL-15/IL-15Ra 복합체-Fc 융합 단백질을 제조하기 위해 사용되는 Fc 도메인 서열은 서열번호: 6에 제시되는 인간 IgG1-Fc 도메인 서열이다. 서열번호: 6은 **FcyR** 및 **C1q** 결합을 제거하는 아미노산 치환을 함유한다. 다양한 구현예에서, 1가 IL-15/IL-15Ra 복합체-Fc 융합 단백질을 제조하기 위해 사용되는 이중이량체 Fc 도메인 서열은 서열번호: 7에 제시되는 2가-Fc 도메인 서열이다. 서열번호: 7은 **FcyR** 및 **C1q** 결합을 제거하는 아미노산 치환을 함유한다. 다양한 구현예에서, 1가 IL-15/IL-15Ra 복합체-Fc 융합 단백질을 제조하기 위해 사용되는 이중이량체 Fc 도메인 서열은 서열번호: 8에 제시되는 2가-Fc 도메인 서열이다. 서열번호: 8은 **FcyR** 및 **C1q** 결합을 제거하는 아미노산 치환을 함유한다.
- [0014] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α 복합체를 포함하고 이중 단백질은 반감기 연장을 위한 전장 비-결합 항체이거나 표적화, 다기능, 및 반감기 연장을 위해 사용되는 특이적 항체 또는 단편이다.
- [0015] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α 복합체를 포함하고 이중 단백질은 전장 IgG 또는 항체 단편 형식(단일특이적 또는 이중특이적)의 항체이고 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체와 함께 부가적 또는 상승적 효과를 제공한다.
- [0016] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α 복합체를 포함하고 이중 단백질은 조직- 또는 종양-특이적 표적화를 제공하여 IL-15 국소 농도 및 침투를 종양 미세환경으로 증가시키고 종양 세포-사멸 효능을 증가시키고 전신 독성을 감소시킨다.
- [0017] 다양한 구현예에서, 이중 단백질은 종양 연관 항원(tumor associated antigen; TAA) 또는 조직-특이적 항원 또는 표적에 결합할 수 있는 항체, 또는 항체 단편, 또는 리간드 또는 그 변이체, 또는 수용체 또는 그 변이체; 세포 표면 분자 또는 세포외 기질 단백질; 프로테아제(들) 및 임의의 번역 후 변형 잔기(들)이다. 다양한 구현예에서, 항체는 항-섬유아세포 활성화 단백질(Fibroblast Activation Protein; FAP) 항체 또는 항체 단편이다. 다양한 구현예에서, 항체는 서열번호: 109-110에 제시되는 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 인간화된 항-FAP 항체이다. 다양한 구현예에서, 이중 단백질은 면역 관문 조절제에 대한 항체 또는 항체 단편이다. 다양한 구현예에서, 항체는 길항적 프로그래밍된 데스-1(Programmed Death-1) 항체 또는 항체 단편이다. 다양한 구현예에서, 항

체는 서열번호: 111-112에 제시되는 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 길항적 인간화된 PD-1 항체이다. 다양한 구현예에서, 항체는 서열번호: 113-114에 제시되는 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열 세트를 포함하는 길항적 인간 PD-1 항체이다. 다양한 구현예에서, 항체는 길항적 프로그래밍된 데스 리간드-1(PD-L1) 항체 또는 항체 단편이다.

- [0018] 다양한 구현예에서, 이중 단백질은 폴리펩타이드 링커 서열에 의해 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 폴리펩타이드에 공유적으로 링크된다. 다양한 구현예에서, 링커는 상대적으로 이차 구조가 없는 5, 10, 15, 20, 30, 40 이상의 아미노산 사이의 인공 서열일 수 있다. 다양한 구현예에서, 링커는 G/S 함량이 풍부하다(예를 들어, 링커 내의 아미노산의 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90% 이상은 G 또는 S임). 다양한 구현예에서, 링커는 서열번호: 9-12, 47, 및 153-154에 제시되는 서열의 군으로부터 선택된다. 각각의 펩타이드 링커 서열은 독립적으로 선택될 수 있다.
- [0019] 또 다른 양태에서, 본 개시는 약제학적으로 허용가능한 담체를 갖는 혼합물에 본 발명의 단리된 IL-15 융합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0020] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 암 또는 암 전이를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 본 발명의 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 그것을 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 대상체는 인간 대상체이다. 다양한 구현예에서, 암은 췌장 암, 위암, 간암, 유방암, 난소암, 결장직장암, 흑색종, 백혈병, 골수이형성 증후군, 폐암, 전립선암, 뇌암, 방광암, 두경부 암, 또는 횡문근육종으로부터 선택된다.
- [0021] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 암 또는 암 전이를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 본 발명의 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 하기로 구성되는 군으로부터 선택되는 제2 요법과 결합하여 투여하는 단계를 포함한다: 세포독성 화학요법, 면역요법, 소분자 키나제 억제제 표적 요법, 수술, 방사선 요법, 줄기 세포 이식, CAR-T 세포, CAR-NK 세포, iPS-유도 NK 세포, iPS-유도 CAR-NK 세포, iPS-유도 T 세포, iPS-유도 CAR-T 세포 또는 TCR-T 세포를 포함하는 세포 요법, 및 백신 예컨대 바실리 칼메트-구에린(Bacille Calmette-Guerine; BCG). 다양한 구현예에서, 병용 요법은, 비제한적으로, 특이적 종양 항원에 대한 고갈성(depleting) 항체를 사용하는 치료; 항체-약물 콘주게이트를 사용하는 치료; 공-자극 또는 공-억제 분자(면역 관문) 예컨대 CD276, CD272, CTLA-4, PD-1, PD-L1, CD40, SIRP α, CD47, OX-40, CD137, GITR, LAG3, ICOS, CD27, 4-1BB, TIM-3, B7-H4, Siglec 7, Siglec 8, Siglec 9, Siglec 15 및 VISTA에 대한 작용적, 길항적, 또는 차단적 항체를 사용하는 치료; 이중특이적 T 세포 결합 항체(BiTE®) 예컨대 블리나투모맵을 사용하는 치료; 생물학적 반응 조절제 예컨대 IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-21, G-CSF, GM-CSF, IFN-α, IFN-β 및 IFN-γ의 투여를 수반하는 치료; 치료적 백신 예컨대 시푸류셀-T를 사용하는 치료; 수지상 세포 백신, 또는 종양 항원 펩타이드 백신을 사용하는 치료; 키메라 항원 수용체 (CAR)-T 세포를 사용하는 치료; CAR-NK 세포를 사용하는 치료; 종양 침윤성 림프구(tumor infiltrating lymphocyte; TIL)를 사용하는 치료; 입양 전달 항종양 T 세포(생체의 확장 및/또는 TCR 형질전환 T-세포)를 사용하는 치료; TALL-104 세포를 사용하는 치료; 면역자극 제제 예컨대 톨-유사 수용체(Toll-like receptor; TLR) 제제 예컨대 TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 작용제 CpG 및 이미퀴모드를 사용하는 치료; 및 백신 예컨대 바실리 칼메트-구에린(Bacille Calmette-Guerine; BCG)을 사용하는 치료를 포함하는 면역요법의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 포함할 수 있으며; 여기서 병용 요법은 종양 세포의 증가된 효과기 세포 사멸을 제공하며, 즉, 동반상승효과는 공-투여될 때 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질과 면역요법 사이에 존재한다.
- [0022] 또 다른 양태에서, 본 개시는 세포 생존 및 반감기를 지속시키기 위해 시험관내 및 생체내에서 그리고 임의의 입양 전달 NK 및 T 세포 요법 또는 CAR-NK 및 CAR-T 요법과 조합으로 NK 세포 및 T 세포를 확장 및 재개하는 방법을 제공한다.
- [0023] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 바이러스성 감염을 치료하기 위한 방법을 제공하며, 본 발명의 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 그것을 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 대상체는 인간 대상체이다.
- [0024] 또 다른 양태에서, 본 개시는 암의 치료를 위한 약제의 조제를 위해 IL-15 융합 단백질의 용도를 제공한다.
- [0025] 또 다른 양태에서, 본 개시는 바이러스성 감염의 치료를 위한 약제의 조제를 위해 IL-15 융합 단백질의 용도를 제공한다.
- [0026] 또 다른 양태에서, 본 개시는 본 개시의 IL-15 융합 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다. 다양한 구현예에서, 단리된 핵산 분자는 본원에 설명되는 폴리뉴클레오타이드를 포함

하고, 본원에 설명되는 적어도 하나의 이중 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 더 포함한다. 다양한 구현예에서, 핵산 분자는 본원에 설명되는 링커를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 더 포함한다.

- [0027] 또 다른 양태에서, 본 개시는 본원에 설명되는 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 다양한 구현예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 본 개시의 핵산을 포함하는 단리된 세포를 제공한다. 다양한 구현예에서, 세포는 본 개시의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포이다. 또 다른 양태에서, IL-15 융합 단백질을 제조하는 방법은 단백질 또는 폴리펩타이드의 발현을 촉진시키는 조건 하에서 숙주 세포를 배양함으로써 제공된다.

과제의 해결 수단

- [0028] 본 개시는 암 및 다른 장애의 치료에 사용하기 위한 신규하고 개선된 IL-15 융합 단백질을 제공한다. 다양한 구현예에서, 본 발명의 융합 단백질은 2개의 기능적 도메인: IL-15/IL-15R α Sushi 도메인(또한 본원에서 "IL-15/IL-15R α Sushi 복합체"로서 언급됨) 및 Fc 도메인을 가지며, 이 각각은 상이한 형태를 취하고, IL-15가 Fc 도메인의 C-말단 또는 N-말단에 융합되고, IL-15R α, IL-15R α Sushi 또는 IL-15R α ECD 또는 그 임의의 기능적 단편과 공-발현되고 비-공유적으로 복합체화되도록 구성될 수 있다(도 1 참조). 다양한 구현예에서, 본 발명의 융합 단백질은 2개의 기능적 도메인: IL-15/IL-15R α Sushi 도메인 및 항체 또는 항체 단편을 가지며, 그 각각은 상이한 형태를 취할 수 있고, IL-15가 항체 중쇄 또는 경쇄의 C-말단 또는 N-말단에 융합되고, IL-15R α, IL-15R α Sushi 또는 IL-15R α ECD 또는 그 임의의 기능적 단편과 공-발현되고 비-공유적으로 복합체화되도록 구성될 수 있다(도 30에 예시화됨).

- [0029] 본 개시는 암 및 다른 장애의 치료에서 사용하기 위한 IL-15 슈퍼-작용제, 작용제, 또는 길항제로서 기능하기 위해 아미노산 치환, 결실, 삽입을 갖는 IL-15 변이체를 제공한다.

- [0030] 본 발명자는 IL-15 또는 IL-15 융합 단백질의 순환 반감기를 연장시키고/시키거나, IL-15 또는 IL-15 융합 단백질의 생물학적 활성을 증가시키기 위해, IL-15를 N-말단 또는 C-말단에서 인간 Fc 또는 항체/항체 단편에 공유적으로 링크시켜 그것의 신호전달 수용체에 대한 IL-15의 제시(presentation)를 향상시키고 융합 단백질로부터 IL-15의 분해를 방지하는 것이 매우 바람직하다는 것을 이해하였다. 본 발명자는 IL-15에 비-공유적으로 결합되는 IL-15R α 도메인을 함유하는 융합 단백질 복합체를 생성하여 IL-15를 IL-15 신호전달 수용체에 보다 자연적으로 제시하는 것이 매우 바람직하다고 더 믿었다. 본원에 설명되는 형식 및 전략을 사용하여, 본 발명자는 증가된 단백질 발현, 잠재적으로 감소된 면역원성, 및 분해로부터의 IL-15의 보호가 달성될 수 있다는 것을 입증한다. 본원에 설명되는 다양한 구현예에서, IL-15-IL-15R α 복합체를 C-말단에 배치하여 향상된 생물학적 활성, 및 현상성(developability)을 달성하는 것이 바람직하다.

- [0031] 따라서, 본 개시는 하나 이상의 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입을 갖는 IL-15 변이체를 제공하고 이는 경로 과활성화를 방지하고 원하지 않는 표적 싱크를 감소시켜 전신 독성을 완화시키고 약동학을 개선시키기 위해 선택적으로 약독화된 효능을 갖는 IL-15 길항제로서 기능한다.

- [0032] 정의

- [0033] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 다양한 구현예에서, "펩타이드", "폴리펩타이드", 및 "단백질"은 알파 탄소가 펩타이드 결합을 통해 링크되는 아미노산의 사슬이다. 따라서, 사슬의 일 단부에서의 말단 아미노산(아미노 말단)은 자유 아미노기를 갖는 반면, 사슬의 다른 단부에서의 말단 아미노산(카복시 말단)은 자유 카복시기를 갖는다. 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "아미노 말단"(약칭 N-말단)은 펩타이드의 아미노 말단에서 아미노산 상의 자유 α-아미노기 또는 펩타이드 내의 임의의 다른 위치에서 아미노산의 α-아미노기(펩타이드 결합에 참여할 때의 아미노기)를 지칭한다. 유사하게, 용어 "카복시 말단"은 펩타이드의 카복시 말단 상의 자유 카복시기 또는 펩타이드 내의 임의의 다른 위치에서 아미노산의 카복시기를 지칭한다. 펩타이드는 또한 아마이드 결합과 대조적으로 에테르에 의해 결합되는 아미노산과 같은 펩타이드 모방체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 본질적으로 임의의 폴리아미노산을 포함한다.

- [0034] 본 개시의 폴리펩타이드는, 예를 들어, 다음: 즉, (1) 단백질 분해에 대한 민감성을 감소시키고, (2) 산화에 대한 민감성을 감소시키고, (3) 단백질 복합체를 형성하기 위한 결합 친화력을 변경시키고, (4) 결합 친화도를 변경시키고, (5) 다른 물리화학 또는 기능적 특성을 부여하거나 개질하기 위해 임의의 방식으로 그리고 임의의 이유로 개질된 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 단일 또는 다중 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)은 자연 발생 서열에서(예를 들어, 분자간 접촉을 형성하는 도메인(들) 외부의 폴리펩타이드의 일부에서) 이루어질 수 있다. "보존적 아미노산 치환"은 기능적으로 유사한 아미노산을 갖는 아미노산의 폴리펩타이드에서

의 치환을 지칭한다. 다음의 6개의 그룹 각각은 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 함유한다:

[0035]

1) 알라닌(A), 세린(S), 및 트레오닌(T)

[0036]

2) 아스파르트산(D) 및 글루탐산(E)

[0037]

3) 아스파라긴(N) 및 글루타민(Q)

[0038]

4) 아르기닌(R) 및 라이신(K)

[0039]

5) 이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 및 발린(V)

[0040]

6) 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 및 트립토판(W)

[0041]

"비-보존적 아미노산 치환"은 다른 클래스로부터의 멤버에 대해 이러한 클래스 중 하나의 멤버의 치환을 지칭한다. 그러한 변화를 일으키는 데 있어서, 다양한 구현예에 따르면, 아미노산의 소수성 인덱스가 고려될 수 있다. 각각의 아미노산은 그것의 소수성 및 전하 특성에 기초하여 소수성 인덱스를 할당 받았다. 그들은 다음과 같다: 이소류신(+4.5); 발린(+4.2); 류신(+3.8); 페닐알라닌(+2.8); 시스테인/시스틴(+2.5); 메티오닌(+1.9); 알라닌(+1.8); 글리신(-0.4); 트레오닌(-0.7); 세린(-0.8); 트립토판(-0.9); 티로신(-1.3); 프롤린(-1.6); 히스티딘(-3.2); 글루타메이트(-3.5); 글루타민(-3.5); 아스파르테이트(-3.5); 아스파라긴(-3.5); 라이신(-3.9); 및 아르기닌(-4.5).

[0042]

상호작용의 생물학적 기능을 단백질 상에 수여할 시에 소수성 아미노산 인덱스의 중요성은 당업계에서 이해되고 있다(예를 들어, Kyte 등의, 1982, J. Mol. Biol. 157:105-131을 참조). 특정 아미노산은 유사한 소수성 인덱스 또는 점수를 갖는 다른 아미노산으로 치환되고 여전히 유사한 생물학적 활성을 유지할 수 있다는 것이 알려져 있다. 소수성 인덱스에 기초하여 변경할 시에, 다양한 구현예에서, 소수성 인덱스가 ± 2 내에 있는 아미노산의 치환이 포함된다. 다양한 구현예에서, ± 1 내에 있는 것들이 포함되고, 다양한 구현예에서, ± 0.5 내의 것들이 포함된다.

[0043]

또한, 본원에 개시되는 바와 같이, 유사 아미노산의 치환은, 특히 이것에 의해 생성되는 생물학적 기능 단백질 또는 펩타이드가 면역학적 구현예에서 사용하기 위해 의도되는 경우, 친수성에 기초하여 효과적으로 이루어질 수 있다는 것이 당업계에서 이해되고 있다. 다양한 구현예에서, 단백질의 최대 국소 평균 친수성은, 그것의 인접한 아미노산의 친수성에 의해 지배됨에 따라, 그것의 면역원성 및 항원성, 즉, 단백질의 생물학적 특성과 상관된다.

[0044]

다음의 친수성 값은 이들 아미노산 잔기에 할당되었다: 아르기닌(+3.0); 라이신(+3.0); 아스파르테이트(+3.0, +.1); 글루타메이트(+3.0, +.1); 세린(+0.3); 아스파라긴(+0.2); 글루타민(+0.2); 글리신(0); 트레오닌(-0.4); 프롤린(-0.5, +.1); 알라닌(-0.5); 히스티딘(-0.5); 시스테인(-1.0); 메티오닌(-1.3); 발린(-1.5); 류신(-1.8); 이소류신(-1.8); 티로신(-2.3); 페닐알라닌(-2.5) 및 트립토판(-3.4). 유사한 친수성 값에 기초하여 변경할 시에, 다양한 구현예에서, 친수성 값이 ± 2 내에 있는 아미노산의 치환이 포함되고, 다양한 구현예에서, ± 1 내에 있는 것들이 포함되고, 다양한 구현예에서, ± 0.5 내의 것들이 포함된다.

[0045]

예시적인 아미노산 치환이 표 1에 제시된다.

[0046] 표 1

최초 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	
Asp	Glu	
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucine	Leu
Leu	Norleucine, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 Diamino-butyric Acid, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucine	Leu

[0047]

[0048] 당업자는 잘-알려진 기술을 사용하여 본원에 제시되는 바와 같은 폴리펩타이드의 적합한 변이체를 결정할 수 있을 것이다. 다양한 구현예에서, 당업자는 활성에 대해 중요하다고 여겨지지 않는 영역을 표적화함으로써 활성을 파괴시키는 것 없이 변화될 수 있는 분자의 적합한 영역을 식별할 수 있다. 다른 구현예에서, 당업자는 유사한 폴리펩타이드 사이에서 보존되는 분자의 잔기 및 일부를 식별할 수 있다. 추가 구현예에서, 생물학적 활성 또는 구조에 대해 중요할 수 있는 영역들도 생물학적 활성을 파괴하는 것 없이 또는 폴리펩타이드 구조에 부정적으로 영향을 미치는 것 없이 보존적 아미노산 치환의 대상일 수 있다.

[0049] 추가적으로, 당업자는 활성 또는 구조에 대해 중요한 유사한 폴리펩타이드에서 잔기를 식별하는 구조-기능 연구를 검토할 수 있다. 그러한 비교의 관점에서, 당업자는 유사한 폴리펩타이드의 활성 또는 구조에 대해 중요한 아미노산 잔기에 대응하는 폴리펩타이드의 아미노산 잔기의 중요성을 예측할 수 있다. 당업자는 그러한 예상된 중요한 아미노산 잔기에 대해 화학적으로 유사한 아미노산 치환을 선택할 수 있다.

[0050] 당업자는 또한 유사한 폴리펩타이드에서 그러한 구조와 관련하여 3차원 구조 및 아미노산 서열을 분석할 수 있다. 그러한 정보의 관점에서, 당업자는 그것의 3차원 구조에 대하여 폴리펩타이드의 아미노산 잔기의 정렬을 예측할 수 있다. 다양한 구현예에서, 당업자는 그러한 잔기가 다른 분자와의 중요한 상호작용에 수반될 수 있으므로, 폴리펩타이드의 표면 상에 있을 것으로 예상되는 아미노산 잔기에 대한 라디칼 변화를 일으키지 않도록 선택할 수 있다. 또한, 당업자는 각각의 원하는 아미노산 잔기에서 단일 아미노산 치환을 함유하는 시험 변이체를 생성할 수 있다. 그 다음, 변이체는 당업자에게 공지된 활성 검정을 사용하여 선별될 수 있다. 그러한 변이체는 적합한 변이체에 대한 정보를 수집하기 위해 사용될 수 있을 것이다. 예를 들어, 특정 아미노산 잔기에 대한 변화가 파괴된, 바람직하지 않게 감소된, 또는 부적합한 활성을 야기한다는 것을 발견하면, 그러한 변화를 갖는 변이체는 회피될 수 있다. 환언하면, 그러한 일상적인 실험으로부터 수집되는 정보에 기초하여, 당업자는 추가적인 치환이 단독으로 또는 다른 돌연변이와 결합하여 회피되어야 하는 경우 아미노산을 쉽게 결정할 수 있다.

[0051] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "폴리펩타이드 단편" 및 "절단된 폴리펩타이드"는 대응하는 전장 단백질과 비교하여 아미노-말단 및/또는 카복시-말단 결실을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정 구현예에서, 단편은 예를 들어, 길이에서 적어도 5, 적어도 10, 적어도 25, 적어도 50, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 250, 적어도 300, 적어도 350, 적어도 400, 적어도 450, 적어도 500, 적어도 600, 적어도 700, 적어도 800, 적어도 900 또는 적어도 1000개의 아미노산일 수 있다. 특정 구현예에서, 단편은 또한 예를 들어, 길이에서 최대 1000, 최대 900, 최대 800, 최대 700, 최대 600, 최대 500, 최대 450, 최대 400, 최대 350, 최대 300, 최대

250, 최대 200, 최대 150, 최대 100, 최대 50, 최대 25, 최대 10, 또는 최대 5개의 아미노산일 수 있다. 단편은 그것의 단부의 둘 중 하나 또는 모두에서, 하나 이상의 추가적인 아미노산, 예를 들어, 상이한 자연 발생 단백질로부터의 아미노산의 서열(예를 들어, Fc 또는 류신 지퍼 도메인) 또는 인공 아미노산 서열(예를 들어, 인공 링커 서열)을 더 포함할 수 있다.

[0052] 본원에 사용되는 바와 같은 용어들 "폴리펩타이드 변이체", "하이브리드 폴리펩타이드" 및 "폴리펩타이드 돌연변이체"는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭하며 여기서 하나 이상의 아미노산 잔기는 다른 폴리펩타이드 서열에 대해 아미노산 서열로 삽입되고/되거나, 이로부터 삭제되고/되거나 이로 치환된다. 특정 구현예에서, 삽입되거나, 삭제되거나, 치환될 아미노산 잔기의 수는 예를 들어, 길이에서 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 10, 적어도 25, 적어도 50, 적어도 75, 적어도 100, 적어도 125, 적어도 150, 적어도 175, 적어도 200, 적어도 225, 적어도 250, 적어도 275, 적어도 300, 적어도 350, 적어도 400, 적어도 450 또는 적어도 500개의 아미노산일 수 있다. 본 개시의 하이브리드는 융합 단백질을 포함한다.

[0053] 폴리펩타이드의 "유도체"는 화학적으로 개질된, 예를 들어, 다른 화학적 모이어티(moiety) 예컨대, 예를 들어, 폴리에틸렌 글라이콜, 알부민(예를 들어, 인간 혈청 알부민), 인산화, 및 당화에 대한 컨쥬게이션(conjugation)인 폴리펩타이드이다.

[0054] 용어 "% 서열 동일성"은 서열 정렬 프로그램을 사용하여 정렬될 때, 용어 "% 동일성"과 본원에서 교환가능하게 사용되고 2개 이상의 펩타이드 서열 사이의 아미노산 서열 동일성의 수준 또는 2개 이상의 뉴클레오타이드 서열 사이의 뉴클레오타이드 서열 동일성의 수준을 지칭한다. 예를 들어, 본원에서 사용되는 바와 같이, 80% 동일성은 정의된 알고리즘에 의해 결정되는 80% 서열 동일성과 동일한 것을 의미하고 주어진 서열이 또 다른 서열의 또 다른 길이와 적어도 80% 동일하다는 것을 의미한다. 특정 구현예에서, % 동일성은 예를 들어, 주어진 서열에 대한 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 이상의 서열 동일성으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, % 동일성은 예를 들어, 약 60% 내지 약 70%, 약 70% 내지 약 80%, 약 80% 내지 약 85%, 약 85% 내지 약 90%, 약 90% 내지 약 95%, 또는 약 95% 내지 약 99%의 범위에 있다.

[0055] 용어 "% 서열 상동성"은 서열 정렬 프로그램을 사용하여 정렬될 때, 용어 "% 상동성"과 본원에서 교환가능하게 사용되고 2 이상의 펩타이드 서열 사이의 아미노산 서열 상동성의 수준 또는 2 이상의 뉴클레오타이드 서열 사이의 뉴클레오타이드 서열 상동성의 수준을 지칭한다. 예를 들어, 본원에 사용되는 바와 같이, 80% 상동성은 정의된 알고리즘에 의해 결정되는 80% 서열 상동성과 동일한 것을 의미하고, 따라서 주어진 서열의 동족체는 주어진 서열의 길이에 대해 80%보다 더 큰 서열 상동성을 갖는다. 특정 구현예에서, % 상동성은, 예를 들어, 주어진 서열에 대한 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 이상의 서열 상동성으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, % 상동성은, 예를 들어, 약 60% 내지 약 70%, 약 70% 내지 약 80%, 약 80% 내지 약 85%, 약 85% 내지 약 90%, 약 90% 내지 약 95%, 또는 약 95% 내지 약 99%의 범위에 있다.

[0056] 2개의 서열 사이의 동일성을 결정하기 위해 사용될 수 있는 예시적인 컴퓨터 프로그램은 BLAST 프로그램의 세트, 예를 들어, NCBI 웹사이트의 인터넷 상에서 공공연하게 이용가능한 BLASTN, BLASTX, 및 TBLASTX, BLASTP 및 TBLASTN을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 또한, Altschul 등의 J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990(공개된 디폴트 설정, 즉, 파라미터 w=4, t=17를 특별히 참조함) 및 Altschul 등의, Nucleic Acids Res., 25:3389-3402, 1997을 참조한다. 서열 검색은 전형적으로 유전자은행 단백질 서열(GenBank Protein Sequence) 및 다른 공공 데이터베이스의 아미노산 서열에 관하여 주어진 아미노산 서열을 평가할 때 BLASTP 프로그램을 사용하여 전형적으로 수행된다. BLASTX 프로그램은 유전자은행 단백질 서열 및 다른 공공 데이터베이스 내의 아미노산 서열에 대해 모든 해독틀에서 번역된 핵산 서열을 검색하기 위해 선호된다. BLASTP 및 BLASTX 둘 다는 11.0의 개방 벡 페널티, 및 1.0의 확장 벡 페널티의 디폴트 파라미터를 사용하여 실행되고, BLOSUM-62 매트릭스를 사용한다. Id 참조.

[0057] 퍼센트 서열 동일성을 계산하는 것에 더하여, BLAST 알고리즘은 또한 2개의 서열 사이의 유사성의 통계적인 분석을 수행한다(예를 들어, Karlin & Altschul, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 90:5873-5787, 1993을 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공되는 유사성의 하나의 척도(measure)는 최소 합계 확률(P(N))이며, 이는 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이의 일치가 우연히 발생할 확률의 표시를 제공한다. 예를 들어, 핵산은 참조 핵산에 대한 시험 핵산의 비교에서 최소 합계 확률이 예를 들어, 약 0.1 미만, 약 0.01 미만, 또는 약 0.001 미만인 경우 참조 서열과 유사한 것으로 간주된다.

- [0058] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "이중"은 천연적이지 않거나 자연적으로 발견되지 않는, 예를 들어, 기존 자연 조성물 또는 상태를 다른 공급원으로부터 유도되는 것으로 대체함으로써 달성될 수 있는 조성물 또는 상태를 지칭한다. 유사하게, 단백질이 자연적으로 발견되는 유기체 이외의 유기체에서 단백질의 발현은 이중 발현 시스템 및 이중 단백질을 구성한다.
- [0059] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "항체"는 면역글로불린 유전자 또는 면역글로불린 유전자의 단편에 의해 실질적으로 또는 부분적으로 인코딩되고 중앙 항원에 대한 특이성 또는 병리적 상태에서 과발현되는 분자에 대한 특이성을 갖는 하나 이상의 폴리펩타이드를 포함하는 단백질을 지칭한다. 인식된 면역글로불린 유전자는 카파, 람다, 알파, 감마, 델타, 엡실론 및 뮤(mu) 불변 영역 유전자 뿐만 아니라, 이들 유전자의 아형 및 무수한 면역글로불린 가변 영역 유전자를 포함한다. 경쇄(light chain; LC)는 카파 또는 람다로서 분류된다. 중쇄(heavy chain; HC)는 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론으로서 분류되며, 이는 결과적으로 면역글로불린 클래스, IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 각각을 정의한다. 전형적인 면역글로불린(예를 들어, 항체) 구조 단위는 사량체(tetramer)를 포함한다. 각각의 사량체는 2개의 동일한 쌍의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 각각의 쌍은 하나의 "가벼운" 사슬(약 25 kD) 및 하나의 "무거운" 사슬(약 50-70 kD)을 갖는다. 각각의 사슬의 N-말단은 항원 인식을 주로 담당하는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 정의한다.
- [0060] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "Fc 영역"은 면역글로불린 경쇄의 C-말단 영역을 정의하며, 이는 온전한 항체의 파파인 소화에 의해 생성될 수 있다. Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인인 C_{H2} 도메인 및 C_{H3} 도메인을 포함하고 선택적으로 C_{H4} 도메인을 포함한다. 항체의 Fc 부분은 수 개의 중요한 효과기 기능 예를 들어 사이토카인 유도, ADCC, 식균작용, 보체 의존적 세포독성(CDC) 및 항원 및 항원-항체 복합체의 반감기/제거율을 매개한다(예를 들어, 신생아 FcR(FcRn)은 엔도솜의 산성 pH에서 IgG의 Fc 영역에 결합하고 IgG를 분해로부터 보호하며, 이것에 의해 IgG의 긴 혈청 반감기에 기여한다). 항체 효과기 기능을 변경시키기 위한 Fc 부분에서의 아미노산 잔기의 대체는 당해 기술에 공지되어 있다(예를 들어, Winter 등의, 미국 특허 번호 제5,648,260호 및 제5,624,821호를 참조). 예시적 Fc 아미노산 치환은 FcγRs 및 C1q에 대한 결합을 폐지하지만, L234A/L235A/G237A 돌연변이 및 L234A/L235A/P329G 돌연변이를 포함하는 FcRn 결합을 유지한다.
- [0061] "폴리뉴클레오타이드"는 뉴클레오타이드 단위로 구성되는 중합체를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 자연 발생 핵산, 예컨대 데옥시리보핵산("DNA") 및 리보핵산("RNA") 뿐만 아니라 핵산 유사체를 포함한다. 핵산 유사체는 비-자연 발생 베이스, 자연 발생 포스포디에스테르 결합 이외의 다른 뉴클레오타이드와의 연결기(linkage)에 관여하는 뉴클레오타이드를 포함하거나 포스포디에스테르 결합 이외의 연결기를 통해 부착되는 베이스를 포함하는 것들을 포함한다. 따라서, 뉴클레오타이드 유사체는 예를 들어 그리고 비제한적으로, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 보라노포스페이트, 메틸포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2-O-메틸 리보뉴클레오타이드, 펩타이드-핵산(PNA) 등을 포함한다. 그러한 폴리뉴클레오타이드는 예를 들어, 자동화 DNA 합성기를 사용하여 합성될 수 있다. 용어 "핵산"은 전형적으로 큰 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 용어 "올리고뉴클레오타이드"는 전형적으로 짧은 폴리뉴클레오타이드를 지칭하며, 일반적으로 약 50 뉴클레오타이드보다 더 크지 않다. 뉴클레오타이드 서열이 DNA 서열(즉, A, T, G, C)에 의해 표현될 때, 이것은 또한 "U"가 "T"를 대체하는 RNA 서열(즉, A, U, G, C)을 포함한다는 것이 이해될 것이다.
- [0062] 종래의 표기법은 폴리뉴클레오타이드 서열을 설명하기 위해 본원에 사용된다: 단일-가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌측 단부는 5'-단부이며; 이중-가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌측 방향은 5'-방향으로 지칭된다. 발생기 RNA 전사체에 대한 뉴클레오타이드의 5' 내지 3' 첨가의 방향은 전사 방향으로 지칭된다. mRNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥은 "코딩 가닥"으로 지칭되며; 그러한 DNA로부터 전사되는 mRNA와 동일한 서열을 갖고 RNA 전사체의 5' 내지 5'-단부에 위치되는 DNA 가닥에 대한 서열은 "업스트림 서열"로 지칭되며; RNA와 동일한 서열을 갖고 코딩 RNA 전사체의 3' 내지 3' 단부인 DNA 가닥에 대한 서열은 "다운스트림 서열"로 지칭된다.
- [0063] "상보적"은 2개의 폴리뉴클레오타이드의 상호작용 표면과 함께 위상적 상용성 또는 일치성(matching)을 지칭한다. 따라서, 2개의 분자는 상보적으로서 설명될 수 있고, 더욱이, 접촉 표면 특성은 서로에 대해 상보적이다. 제1 폴리뉴클레오타이드는 제1 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열이 제2 폴리뉴클레오타이드의 폴리뉴클레오타이드 결합 파트너의 뉴클레오타이드 서열과 실질적으로 동일하거나, 제1 폴리뉴클레오타이드가 엄격한 혼성화 조건 하에서 제2 폴리뉴클레오타이드에 혼성화될 수 있는 경우 제2 폴리뉴클레오타이드에 상보적이다.
- [0064] "벡터"는 그것에 링크되는 또 다른 핵산을 세포 안으로 도입하기 위해 사용될 수 있는 폴리뉴클레오타이드이다. 벡터의 하나의 유형은 "플라스미드"이며, 이는 추가적인 핵산 세그먼트가 결합될 수 있는 선형 또는 원형 이중

가닥 DNA 분자를 지칭한다. 벡터의 다른 유형은 바이러스 벡터(예를 들어, 복제 결합 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)이며, 여기서 추가적인 DNA 세그먼트는 바이러스 게놈 안으로 도입될 수 있다. 특정 벡터는 그들이 도입되는 숙주 세포(예를 들어, 복제의 박테리아 기원을 포함하는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유동물 벡터)에서 자율적 복제를 할 수 있다. 다른 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유동물 벡터)는 숙주 세포로 도입 시에 숙주 세포의 게놈안으로 통합되고, 이것에 의해 호스트 게놈과 함께 복제된다. "발현 벡터"는 선택된 폴리뉴클레오타이드의 발현을 지시할 수 있는 벡터의 유형이다.

[0065] "조절 서열"은 그것이 작동가능하게 링크되는 핵산의 발현(예를 들어, 발현의 수준, 타이밍, 또는 위치)에 영향을 미치는 핵산이다. 조절 서열은 예를 들어, 조절된 핵산 상에 직접적으로, 또는 하나 이상의 다른 분자(예를 들어, 조절 서열 및/또는 핵산에 결합하는 폴리펩타이드)의 작용을 통해 그것의 효과를 가할 수 있다. 조절 서열의 예는 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 조절 요소(예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함한다. 조절 서열의 추가 예는 예를 들어, Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. 및 Baron 등의, 1995, Nucleic Acids Res. 23:3605-06에서 설명된다. 뉴클레오타이드 서열은 조절 서열이 뉴클레오타이드 서열의 발현(예를 들어, 발현의 수준, 타이밍, 또는 위치)에 영향을 미치는 경우 조절 서열에 "작동가능하게 링크된다".

[0066] "숙주 세포"는 본 개시의 폴리뉴클레오타이드를 발현시키기 위해 사용될 수 있는 세포이다. 숙주 세포는 원핵생물, 예를 들어, 대장균(*E. coli*)일 수 있거나, 그것은 진핵생물, 예를 들어, 단세포 진핵생물(예를 들어, 효모 또는 다른 진균), 식물 세포(예를 들어, 담배 또는 토마토 식물 세포), 동물 세포(예를 들어, 인간 세포, 원숭이 세포, 햄스터 세포, 랫트 세포, 마우스 세포, 또는 곤충 세포) 또는 하이브리도마일 수 있다. 전형적으로, 숙주 세포는 폴리펩타이드-인코딩 핵산으로 형질전환되거나 형질감염될 수 있는 배양 세포이며, 이는 그 다음 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 어구 "제조합 숙주 세포"는 발현될 핵산으로 형질전환되거나 형질감염된 숙주 세포를 나타내기 위해 사용될 수 있다. 숙주 세포는 또한 핵산을 포함하지만 그것이 핵산과 작동가능하게 링크 되도록 조절 서열이 숙주 세포 안으로 도입되지 않는 한 원하는 수준에서 그것을 발현시키지 않는 세포일 수 있다. 용어 숙주 세포는 특정 대상 세포를 지칭할 뿐만 아니라 그러한 세포의 자손 또는 잠재적인 자손을 지칭하는 것으로 이해된다. 특정 변형이 예를 들어, 돌연변이 또는 환경 영향으로 인해 다음 세대에서 발생할 수 있기 때문에, 그러한 자손은 사실상, 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 여전히 본원에 사용되는 바와 같은 용어의 범위 내에 포함된다.

[0067] 용어 "단리된 분자"(여기서 분자는 예를 들어, 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드임)는 그것의 기원 또는 유도의 공급원에 의해 (1) 그것의 원상태에서 그것을 동반하는 자연적으로 연관된 구성요소와 연관되지 않거나, (2) 동일한 종으로부터의 다른 분자가 실질적으로 없거나 (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해 발현되거나, (4) 자연적으로 발생하지 않는 분자이다. 따라서, 화학적으로 합성되거나, 그것이 자연적으로 기원하는 세포와 상이한 세포 시스템에서 발현되는 분자는 그것의 자연적으로 연관된 구성요소로부터 "단리"될 것이다. 분자는 또한 당해 분야에서 잘 알려진 정제 기술을 사용하는, 단리에 의해 자연적으로 연관된 구성요소가 실질적으로 없도록 렌더링될 수 있다. 분자 순도 또는 균질성은 당해 분야에서 잘 알려진 다수의 수단에 의해 분석될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드 샘플의 순도는 당해 분야에서 잘 알려진 기술을 사용하여 폴리펩타이드를 시각화하기 위해 겔의 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 및 염색을 사용하여 분석될 수 있다. 특정 목적을 위해, 더 높은 해상도는 정제를 위해 당해 분야에 잘 알려진 HPLC 또는 다른 수단을 사용하여 제공될 수 있다.

[0068] 단백질 또는 폴리펩타이드는 샘플의 적어도 약 60% 내지 75%가 폴리펩타이드의 단일 종을 나타낼 때 "실질적으로 순수한", "실질적으로 균질한", 또는 "실질적으로 정제된" 것이다. 폴리펩타이드 또는 단백질은 단량체 또는 다량체일 수 있다. 실질적으로 순수한 폴리펩타이드 또는 단백질은 전형적으로 단백질 샘플의 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% W/W, 보다 일반적으로 약 95%를 포함할 것이고, 바람직하게는 99% 초과 순도일 것이다. 단백질 순도 또는 균질성은 당해 분야에서 잘 알려진 얼룩으로 겔을 염색 시에 단일 폴리펩타이드 밴드를 시각화하기 전에, 당해 분야에서 잘 알려진 다수의 수단, 예컨대 단백질 샘플의 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 표시될 수 있다. 특정 목적을 위해, 더 높은 해상도는 정제를 위해 당해 분야에 잘 알려진 HPLC 또는 다른 수단을 사용함으로써 제공될 수 있다.

[0069] "링커(Linker)"는 2개의 다른 분자를, 공유적으로, 또는 이온성, 반데르발스 또는 수소 결합을 통해 연결하는 분자, 예를 들어, 5' 단부에서 하나의 상보적 서열 및 3' 단부에서 또 다른 상보적 서열에 혼성화되어, 따라서 2개의 비-상보적 서열을 연결하는 핵산 분자를 지칭한다. "절단가능 링커"는 절단가능 링커에 의해 연결되는 2개의 구성요소를 분리하기 위해 분리되거나 달리 절단될 수 있는 링커를 지칭한다. 절단가능 링커는 일반적으로 효소, 전형적으로 펩티다아제, 프로테아제, 뉴클레아제, 리파제 등에 의해 절단된다. 절단가능 링커는 또한 환

경 신호, 예컨대, 예를 들어, 온도, pH, 염 농도 등에서의 변화에 의해 절단될 수 있다.

[0070] 본원에 사용되는 바와 같은 용어들 "표지" 또는 "표지된"은 항체에 또 다른 분자의 편입을 지칭한다. 일 구현예에서, 표지는 검출가능한 마커, 예를 들어, 마킹된 아비딘(예를 들어, 광학 또는 열량측정 방법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소적 활성을 함유하는 스트렙타비딘)에 의해 검출될 수 있는 바이오티닐 모이어티의 폴리펩타이드에 대한 방사선표지된 아미노산의 편입 또는 부착이다. 다른 구현예에서, 표지 또는 마커는 치료제, 예를 들어, 약물 콘주게이트(conjugate) 또는 독소일 수 있다. 폴리펩타이드 및 당단백질을 표지하는 다양한 방법은 당해 기술에 공지되어 있고 사용될 수 있다. 폴리펩타이드에 대한 표지의 예는, 비제한적으로, 다음을 포함한다: 방사성 동위원소 또는 방사선택중(예를 들어, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), 형광 표지(예를 들어, FITC, 로다민, 란탄족 형광체), 효소적 표지(예를 들어, 홀스래디쉬 페록시다아제, β -갈락토시다아제, 루시페라제, 알칼리성 포스파타제), 화학발광 마커, 바이오티닐기, 이차 리포터에 의해 인식되는 예정된 폴리펩타이드 에피토프(예를 들어, 류신 지퍼 쌍 서열, 이차 항체용 결합 부위, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그), 자기 제제, 예컨대 가돌리늄 킬레이트, 독소 예컨대 백일해 독소, 탁솔, 사이코칼라신 B, 그라마이시딘 D, 에티뎀 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-테하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 및 퓨로마이신 및 그 유사체 또는 동족체. 일부 구현예에서, 표지는 잠재적인 입체 장애를 감소시키기 위해 다양한 길이의 스페이서 아암에 의해 부착된다.

[0071] 용어 "면역요법"은 특이적 종양 항원에 대한 고갈 항체를 사용하는 치료; 항체-약물 콘주게이트를 사용하는 치료; 공-자극 또는 공-억제 분자(면역 관문) 예컨대 CD276, CD272, CTLA-4, PD-1, PD-L1, CD40, SIRP α , CD47, OX-40, CD137, GITR, LAG3, ICOS, CD27, 4-1BB, TIM-3, B7-H4, Siglec 7, Siglec 8, Siglec 9, Siglec 15, 및 VISTA에 대한 작용적, 길항적, 또는 차단적 항체를 사용하는 치료; 이중특이적 T 세포 결합 항체(BiTE®) 예컨대 블리나투모맵을 사용하는 치료; 생물학적 반응 조절제 예컨대 IL-2, IL-12, IL-15, IL-21, GM-CSF, IFN- α , IFN- β 및 IFN- γ 의 투여를 수반하는 치료; 치료적 백신 예컨대 시푸류셀-T를 사용하는 치료; 수지상 세포 백신, 또는 종양 항원 펩타이드 백신을 사용하는 치료; 키메라 항원 수용체 (CAR)-T 세포를 사용하는 치료; CAR-NK 세포를 사용하는 치료; 종양 침윤 림프구(TIL)를 사용하는 치료; 입양 전달 항종양 T 세포(생체의 확장된 및/또는 TCR 형질전환)를 사용하는 치료; TALL-104 세포를 사용하는 치료; 및 면역자극 제제 예컨대 톨-유사 수용체(Toll-like receptor; TLR) 작용제 CpG 및 이미퀴모드를 사용하는 치료, 그리고 백신 예컨대 BCG를 사용하는 치료를 포함하지만 이에 제한되지 않는 암 치료를 지칭하는 반면에, 병용 요법은 종양 세포의 증가된 효과기 세포 사멸을 제공하며, 즉, 동반상승효과는 공-투여될 때 IL-15 작용제와 면역요법 사이에 존재한다.

[0072] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 특정 장애, 상태 또는 질환을 치료하기에 충분한 예컨대 그것의 증상 중 하나 이상을 개선하고/하거나, 완화하고/하거나, 줄이고/줄이거나 지연시키기에 충분한 화합물 또는 조성물의 양을 지칭한다. NHL 및 다른 암 또는 다른 원하지 않는 세포 증식에 관하여, 유효량은: (i) 암 세포의 수를 감소시키고/시키거나; (ii) 종양 크기를 감소시키고/시키거나; (iii) 말초 기관으로의 암 세포 침윤을 어느 정도까지 억제시키고, 지연시키고, 느리게하고 바람직하게는 정지시키고/시키거나; (iv) 종양 전이를 억제(즉, 어느 정도까지 느리게하고 바람직하게는 정지)시키고/시키거나; (v) 종양 성장을 억제시키고/시키거나; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 방지 또는 지연시키고/시키거나; (vii) 암과 연관되는 증상 중 하나 이상을 어느 정도까지 완화시키기에 충분한 양을 포함한다. 유효량은 하나 이상의 투여로 투여될 수 있다.

[0073] 용어 "환자," "개인," 및 "대상체"는 교환가능하게 사용되고 포유동물, 바람직하게는 인간 또는 비-인간 영장류 뿐만 아니라, 사육된 포유동물(예를 들어, 개과 또는 고양이), 실험실 포유동물(예를 들어, 마우스, 랫트, 토끼, 햄스터, 기니아 피그), 및 농업용 포유동물(예를 들어, 말과, 소과, 돼지, 양)을 지칭할 수 있다. 다양한 구현예에서, 환자는 외래환자, 또는 다른 임상 맥락으로서 병원, 정신과 치료 설비 내의 의사 또는 다른 건강 작업자의 보호 하에 있는 인간(예를 들어, 성인 남성, 성인 여성, 청소년 남성, 청소년 여성, 남성 아동, 여성 아동)일 수 있다. 다양한 구현예에서, 환자는 일차 면역 결핍, AIDS를 갖는 환자; 특정 면역억제 약물을 복용하고 있는 암 및 이식 환자; 및 면역계에 영향을 미치는 선천적 질환(예를 들어, 선천성 무감마글로불린혈증, 선천성 IgA 결핍)을 갖는 환자들을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 면역저하된 환자 또는 약화된 면역 시스템을 갖는 환자일 수 있다. 다양한 구현예에서, 환자는 높은 비율의 돌연변이를 갖는 것으로 보고되는 방광암, 폐암, 흑색종, 및 다른 암을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 면역원성 암을 갖는다(Lawrence 등의, Nature, 499(7457): 214-218, 2013).

- [0074] "약제학적 조성물"은 포유동물의 약제학적 용도에 적합한 조성물을 지칭한다. 약제학적 조성물은 약리학적으로 유효한 양의 활성제 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함한다. "약리학적으로 유효한 양"은 의도된 약리학 적 결과를 생산하기에 효과적인 제제의 그러한 양을 지칭한다. "약제학적으로 허용가능한 담체"는 표준 약제학적 담체, 비히클, 완충액, 및 부형제, 예컨대 포스페이트 완충 식염수 용액, 텍스트로스의 5% 수용액, 및 에멀 전, 예컨대 오일/물 또는 물/오일 에멀전, 및 다양한 유형의 습윤제 및/또는 아쥘반트(adjuvant) 중 임의의 것 을 지칭한다. 적합한 약제학적 담체 및 제형은 Remington's Pharmaceutical Sciences, 21st Ed. 2005, Mack Publishing Co, Easton에 설명된다. "약제학적으로 허용가능한 염"은 예를 들어, 금속 염(나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 등) 및 암모니아 또는 유기 아민의 염을 포함하는 약제학적 용도를 위한 화합물로 제형화될 수 있는 염이다.
- [0075] 어구 "투여하는" 또는 "투여 원인"은 환자에게 문제가 되고 있는 제제(들)/화합물(들)의 투여를 제어하고/하거나 허용하는 의료 전문가(예를 들어, 의사), 또는 환자의 의료 보호를 제어하는 사람에 의해 취해지는 행동을 지칭한다. 투여 원인은 적절한 치료 요법(regimen)의 진단 및/또는 결정, 및/또는 환자에 대한 특정 제제(들)/화합물을 처방하는 것을 수반할 수 있다. 그러한 처방은 예를 들어, 처방전 양식을 기안하고, 의료 기록을 주석화하는 등을 포함할 수 있다. 투여가 본원에 설명되는 경우, "투여 원인"이 또한 고려된다.
- [0076] "저항성 또는 난치성 암"은 예를 들어, 화학요법, 수술, 방사선 요법, 줄기 세포 이식, 및 면역요법을 포함하는 이전의 항-암 요법에 반응하지 않는 종양 세포 또는 암을 지칭한다. 종양 세포는 치료의 시작에서 저항성 또는 불응성일 수 있거나, 그들은 치료 동안 저항성 또는 불응성이 될 수 있다. 불응성 종양 세포는 치료의 개시에서 반응하지 않거나 짧은 기간 동안 초기에 반응하지만 치료에 반응할 수 없는 종양을 포함한다. 불응성 종양 세포는 또한 항암 요법에 의한 치료에 반응하지만 요법의 후속 라운드에 반응할 수 없는 종양을 포함한다. 본 발명의 목적을 위해, 불응성 종양 세포는 또한 항암 요법에 의한 치료에 의해 억제되는 것으로 보이지만 치료가 중단된 후 5년까지, 때때로 10년 이상까지 재발하는 종양을 포함한다. 항암 요법은 화학치료제 단독, 방사선 단독, 표적 요법 단독, 수술 단독, 또는 이들의 조합을 이용할 수 있다. 용이한 설명을 위해 그리고 비제한적으로, 불응성 종양 세포는 저항성 종양과 교환가능하다는 것이 이해될 것이다.
- [0077] 용어들 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 생물학적 장애 및/또는 그것의 동반 증상 중 적어도 하나를 완화시키거나 폐기시키기 위한 방법을 지칭한다. 본원에 사용되는 바와 같이, 질환, 장애 또는 병태를 "경감시키다"는 것은 질환, 장애, 또는 병태의 증상의 중증도 및/또는 발생 빈도를 감소시키는 것을 의미한다. 또한, "치료"에 대한 본원의 언급은 치료적, 완화적 및 예방적 치료에 대한 언급을 포함한다.
- [0078] 본원에 설명되는 본 개시의 양태 및 구현에는 양태 및 구현으로 "구성되는" 및/또는 "본질적으로 구성되는"을 포함한다는 것이 이해된다.
- [0079] "약"에 대한 언급은 본원의 값 또는 파라미터가 그러한 값 또는 파라미터 자체에 관한 변동을 포함(설명)한다. 예를 들어, "약 X"에 관한 설명은 "X"의 설명을 포함한다.
- [0080] 본원 및 첨부된 청구항들에 설명되는 바와 같이, 단수 형태("a", "or", 및 "the")는 맥락이 달리 명확히 명시하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다. 본원에 설명되는 본 개시의 양태 및 변동은 양태 및 변동으로 "구성되는" 및/또는 "본질적으로 구성되는"을 포함한다는 것이 이해된다.
- [0081] IL-15/IL-15R α Sushi 복합체
- [0082] 인터루킨-15(IL-15)는 중화 항-IL-2 항체의 존재에서 IL-2-의존적 CTLL-2 T-세포주의 증식을 자극하는 그것의 능력에 기초하여 2개의 독립적인 그룹에 의해 식별되는 사이토카인이다(Steel 등의, Trends in Pharmacological Sciences, 33(1):35-41, 2012). IL-15 및 인터루킨-2(IL-2)는, 그들의 공유 수용체(R) 신호전달 구성요소 (IL-2/15R $\beta\gamma$)와 일치하는, 시험관내에서 유사한 생물학적 특성을 갖는다. 그러나, IL-15 대 IL-2에 대한 특 이성은 IL-15R $\alpha\beta\gamma$ 및 IL-2R $\alpha\beta\gamma$ 이종삼량체 고-친화도 수용체 복합체를 완성하고 그것에 의해 리간드 및 고-친화도 수용체가 발현되는 것에 따라 차별적인 반응성을 허용하는 독특한 개별(private) α -사슬 수용체에 의해 제공된다. 흥미롭게도, IL-15 및 IL-15R α 전사체 둘 다는 IL-2/IL-2R α 보다 훨씬 더 넓은 조직 분포를 갖는다. 또한, 다중 복합체 전사 후 조절 기전은 IL-15 발현을 엄격하게 제어한다. 따라서, IL-15 및 IL-15R α 발현의 차별적인 패턴뿐만 아니라, 복합체 조절에 기초하여, 이러한 수용체/리간드 쌍의 중요한 생체내 기능은 IL-2 및 IL-2R α 의 그것들과 다를 수 있을 것이다. IL-15의 생물학을 조사하는 현재까지의 연구는 수 개의 주요 비중복 규칙, 예컨대 자연 살해(NK) 세포인 NK-T 세포 및 장 상피내 림프구 발달 및 기능 동안 IL-15의 중요성을 식별

하였다. 자가면역 과정 예컨대 류마티스성 관절염 및 악성종양 예컨대 성인 T-세포 백혈병 동안 IL-15에 대한 역할은 IL-15의 조절장치가 숙주에 대해 유해한 효과를 야기할 수 있다는 것을 시사한다(Fehniger 등의, Blood, 97:14-32, 2001).

[0083] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어들 "천연 IL-15" 및 "천연 인터루킨-15"는 단백질 또는 폴리펩타이드의 맥락에서 미성숙한 또는 전구체 및 성숙한 형태를 포함하는 임의의 자연 발생 포유동물 인터루킨-15 아미노산 서열을 지칭한다. 천연 포유동물 인터루킨-15의 다양한 종의 아미노산 서열에 대한 유전자은행 수탁 번호는 NP_000576 (인간, 미성숙한 형태), CAA62616(인간, 미성숙한 형태), NP_001009207(펠리스 카투스, 미성숙한 형태), AAB94536(래투스, 미성숙한 형태), AAB41697(래투스, 미성숙한 형태), NP_032383(무스 무스쿨러스, 미성숙한 형태), AAR19080(갯과), AAB60398(붉은털원숭이, 미성숙한 형태), AAI00964(인간, 미성숙한 형태), AAH23698(무스 무스쿨러스, 미성숙한 형태), 및 AAH18149(인간)을 포함한다. 본 발명의 다양한 구현예에서, 천연 IL-15는 자연 발생 포유동물 IL-15의 미성숙한 또는 전구체 형태이다. 다른 구현예에서, 천연 IL-15는 자연 발생 포유동물 IL-15의 성숙한 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15는 자연 발생 인간 IL-15의 전구체 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15는 자연 발생 인간 IL-15의 성숙한 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15 단백질/폴리펩타이드는 단리되거나 정제된다. 다양한 구현예에서, IL-15 도메인은 서열번호: 1에 제시되는 인간 IL-15 전구체 서열의 아미노산 서열로부터 유래된다:

[0084] MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIED
LIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLLLEQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSS
NGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHVHVMFINTS (서열번호: 1)

[0085] IL-15 수용체는 그것이 IL-2 수용체와 공유하는 베타(β) 및 감마(γ) 서브유닛, 및 IL-15와 고친화도로 결합하는 알파(α) 서브유닛으로 구성되는 유형 I 사이토카인 수용체이다. 전장 인간 IL-15R α 는 32 AA의 신호 펩타이드, 173 AA의 세포외 도메인, 21 AA의 막관통 도메인, 및 37-AA 세포질 테일(tail)을 포함하는 다수의 N- 또는 O-링크된 글리코실화 부위를 갖는 유형-1 막관통 단백질이다(Anderson 등의, J. Biol Chem, 270:29862- 29869, 1995). IL-15R 알파의 전체 세포외 도메인에 대응하는 IL-15R 알파 사슬의 자연 가용성 형태는 고친화도 IL-15 길항제로서 작용한다는 것이 이전에 입증되었다. 그러나, 그러한 발견과 첨예하게 대조적으로, IL-15에 대한 결합 친화도의 대부분을 갖는, IL-15R 알파의 제조합, 가용성 스시(sushi) 도메인은 IL-15R 베타/감마 이중이량체를 통해 그것의 결합 및 생물학적 효과(아포토시스로부터의 증식 및 보호)를 향상시킴으로써 강력한 IL-15 작용제로서 작용하는 반면, 그것은 IL-15 결합 및 삼분체(tripartite) IL-15R 알파/베타/감마 맴브레인 수용체의 기능에 영향을 미치지 않는다는 것이 입증되었다. 이들 결과는, 자연적으로 생산되는 경우, 그러한 가용성 스시 도메인이 IL-15 트랜스-제시 이전에 수반될 수도 있다는 것을 시사하였다(Mortier 등의, J. Biol Chem, 281(3):1612-1619, 2006).

[0086] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어들 "천연 IL-15R α " 및 "천연 인터루킨-15 수용체 알파"는 단백질 또는 폴리펩타이드의 맥락에서 미성숙한 또는 전구체 형태와 성숙한 형태 및 자연 발생 동형체를 포함하는 임의의 자연 발생 포유동물 인터루킨-15 수용체 알파("IL-15R α ") 아미노산 서열을 지칭한다. 다양한 천연 포유동물 IL-15R α 의 아미노산 서열에 대한 유전자은행 수탁 번호의 비-제한적인 예는 NP_002180(인간), ABK41438(붉은털원숭이), NP_032384(무스 무스쿨러스), Q60819(무스 무스쿨러스), Q13261(인간)를 포함한다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 포유동물 IL-15R α 폴리펩타이드의 미성숙한 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 포유동물 IL-15R α 폴리펩타이드의 성숙한 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 포유동물 IL-15R α 폴리펩타이드의 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 포유동물 IL-15R α 폴리펩타이드의 전장 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 인간 IL-15R α 폴리펩타이드의 미성숙한 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 인간 IL-15R α 폴리펩타이드의 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 인간 IL-15R α 폴리펩타이드의 전장 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 단백질 또는 폴리펩타이드는 단리되거나 정제된다. 다양한 구현예에서, IL-15R α 도메인은 서열번호: 3에 제시되는 인간 IL-15R α 서열의 아미노산 서열로부터 유도된다:

[0087] MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYIC
NSGFKRKAGTSSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAHVHQRPAAPPSTVTTAGVTP
QPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSPSTGTTEISSHESSHGTPS
QTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPP
LASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLNCSHHL (서열번호: 3)

[0088] 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 는 자연 발생 인간 IL-15R α 폴리펩타이드의 전장 세포의 형태이다. 다양한 구현예에서, 천연 IL-15R α 단백질 또는 폴리펩타이드는 단리되거나 정제된다. 다양한 구현예에서, IL-15R α 세포의 도메인은 서열번호: 4에 제시되는 인간 IL-15R α 서열의 아미노산 서열로부터 유도된다:

ITCPPPMSVEHADIWKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTP
SLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVP
GSQLMPSPKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
(서열번호: 4)

[0089]

[0090] 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체를 포함하며 여기서 IL-15 도메인은 서열번호: 2에 제시되는 바와 같은 성숙한 인간 IL-15 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하고:

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVK/TAMKCFLELQVISLESGLDASHD
TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHVQMFINTS
(서열번호: 2)

[0091]

[0092] 여기서 IL-15R α Sushi 도메인은 서열번호: 5에 제시되는 바와 같은 성숙한 인간 IL-15R α 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함한다:

ITCPPPMSVEHADIWKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTP
SLKCIRDPALVHQRPAAPP (서열번호: 5)

[0093]

[0094] 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 서열번호: 2에 제시되는 바와 같은 성숙한 인간 IL-15 폴리펩타이드의 서열로부터 유도되는 서열을 포함하는 IL-15 변이체(또는 돌연변이체)일 것이다. IL-15의 변이체(또는 돌연변이체)는 천연 아미노산, 성숙한 서열 내의 그것의 위치 및 변이체 아미노산을 사용하여 본원에 지칭된다. 예를 들어, "huIL-15S58D"는 서열번호: 2의 위치 58에서 S의 D로의 치환을 포함하는 인간 IL-15를 지칭한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는 IL-15R α 폴리펩타이드를 결합시키고 IL-15 작용제 또는 길항제로서 기능한다. 다양한 구현예에서, 작용제 활성을 갖는 IL-15 변이체는 슈퍼 작용제 활성을 갖는다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는 IL-15R α 와 그것의 연관과 독립적으로 IL-15 작용제 또는 길항제로서 기능할 수 있다. IL-15 작용제는 야생형 IL-15와 비교하여 비교가능하거나 증가된 생물학적 활성에 의해 예시화된다. IL-15 길항제는 야생형 IL-15와 비교하여 감소된 생물학적 활성에 의해 또는 IL-15-매개된 반응을 억제하는 능력에 의해 예시화된다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체는 증가된 또는 감소된 활성으로

IL-15R β yc 수용체에 결합한다. 다양한 구현예에서, IL-15 변이체의 서열은 천연 IL-15 서열과 비교하여, 적어도 하나의 아미노산 변화, 예를 들어 치환 또는 결실을 가지며, 그러한 변화는 IL-15 작용제 또는 길항제 활성을 야기한다. 다양한 구현예에서, 아미노산 치환/결실은 IL-15R β 및/또는 **Vc**와 상호작용하는 IL-15의 도메인에 있다. 다양한 구현예에서, 아미노산 치환/결실은 IL-15R α 폴리펩타이드에 대한 결합 또는 IL-15 변이체를 생산하는 능력에 영향을 미치지 않는다. IL-15 변이체를 생성하는 적합한 아미노산 치환/결실은 본원에 제공되는 바와 같은, 합리적인 또는 무작위 돌연변이유발 및 기능적 검정을 통한, 알려진 IL-15 구조, IL-15와 상동성 분자 예컨대 알려진 구조를 갖는 IL-2와의 비교, 또는 다른 실증적 방법에 기초하여 식별될 수 있다. 추가적으로, 적합한 아미노산 치환은 보존적 또는 비-보존적 변화 및 추가적인 아미노산의 삽입일 수 있다. 다양한 구현예에서, 본 발명의 IL-15 변이체는 서열번호: 2에 제시되는 성숙한 인간 IL-15 서열의 위치 30, 31, 32, 62, 63, 67, 68, 또는 108에서 하나 또는 하나보다 많은 아미노산 치환을 함유한다. 다양한 구현예에서, D30T, V31Y, H32E, S58R, S58Q, T62D, V63A, V63R, V63K, I68H, I68F, I68D, I68K, I68Q, I68G, Q108A, Q108S, Q108E, Q108K, 또는 Q108M 치환 또는 치환 조합은 길항제 활성을 갖는 IL-15 변이체를 야기하고 S58D 치환은 작용제 활성을 갖는 IL-15 변이체를 야기한다.

[0095]

다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 위치 111-114에서 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다(서열번호: 39). 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 위치 109-114에서 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다(서열번호: 40). 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 위치 108-114에서 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다(서열번호: 41). 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 위치 105-114에서 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다(서열번호: 42). 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 N-말단에서 1, 또는 2, 또는 3, 또는 4, 또는 5, 또는 6 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다(서열번호: 56-61). 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α

Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 서열번호: 62 및 63에 의해 표현되는 아미노산 치환 및 결실의 조합을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다. 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 위치 N95(서열번호: 43) 후 'GS'(서열번호: 12) 삽입을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다. 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 위치 N95(서열번호: 44) 후 'GSSGG'(서열번호: 153) 삽입을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다. 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 IL-15 도메인은 위치 N95(서열번호: 45) 후 'GSSGGSGGS'(서열번호: 154) 삽입을 갖는 인간 IL-15 변이체 폴리펩타이드일 것이다.

[0096] Fc 도메인

[0097] IgG 클래스의 면역글로불린은 인간 혈액에서 가장 풍부한 단백질 중 하나이다. 그들의 순환 반감기는 21일만큼 길게 도달할 수 있다. 융합 단백질은 IgG의 Fc 영역과 또 다른 단백질의 도메인, 예컨대 다양한 사이토카인 및 수용체를 결합시키는 것으로 보고되어 왔다(예를 들어, Capon 등의, Nature, 337:525-531, 1989; Chamow 등의, Trends Biotechnol., 14:52-60, 1996); 미국 특허 번호 제5,116,964호 및 제5,541,087호를 참조). 원형(prototype) 융합 단백질은 IgG Fc의 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 통해 링크되는 동종이량체 단백질이며, 중쇄 가변성 및 CH1 도메인 및 경쇄 없는 IgG 분자와 유사한 분자를 야기한다. Fc 도메인을 포함하는 융합 단백질의 이량체 성질(nature)은 다른 분자와의 고차 상호작용(즉 2가 또는 이중특이적 결합)을 제공할 시에 유리할 수 있다. 구조적 상동성으로 인해, Fc 융합 단백질은 유사한 동형을 갖는 인간 IgG와 비교가능한 생체내 약동학적 프로파일을 나타낸다.

[0098] 용어 "Fc"는 단량체 형태든 다량체 형태든, 전체 항체의 비-항원-결합 단편의 서열을 포함하는 분자 또는 서열을 지칭한다. 천연 Fc의 원래 면역글로불린 공급원은 바람직하게는 인간 기원이고 임의의 면역글로불린일 수 있다. 천연 Fc's는 공유(즉, 디설파이드 결합) 및 비-공유 연관에 의해 이량체 형태 또는 다량체 형태로 링크될 수 있는 단량체 폴리펩타이드로 구성된다. 천연 Fc 분자의 단량체 서브유닛 사이의 분자간 디설파이드 결합의 수는 클래스(예를 들어, IgG, IgA, IgE) 또는 서브클래스(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgA1, IgA2)에 따라 범위가 1 내지 4에 이른다. 천연 Fc의 일 예는 IgG의 파파인 소화에서 기인하는 디설파이드-결합된 이량체이다(Ellison 등의 (1982), Nucleic Acids Res. 10: 4071-9 참조). 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "천연 Fc"는 단량체 형태, 이량체 형태, 및 다량체 형태에 일반적이다. Fc 도메인은 단백질 A, 단백질 G, 다양한 Fc 수용체 및 보체 단백질을 위한 결합 부위를 함유한다.

[0099] 다양한 구현예에서, 용어 "Fc 변이체"는 천연 Fc로부터 개질되지만 여전히 회수 수용체인 FcRn에 대한 결합 부위를 포함하는 분자 또는 서열을 지칭한다. 국제 출원 WO 97/34631(1997년 9월 25일에 공개됨) 및 WO 96/32478은 예시적인 Fc 변이체 뿐만 아니라, 회수 수용체와의 상호작용을 설명하고, 이로써 참고로 통합된다. 더욱이, 천연 Fc는 그들이 본 발명의 융합 분자에 대해 요구되지 않는 구조적 특징 또는 생물학적 활성을 제공하기 때문에 제거될 수 있는 부위를 포함한다. 따라서, 다양한 구현예에서, 용어 "Fc 변이체"는 (1) 디설파이드 결합 형성, (2) 선택된 숙주 세포와의 비상용성 (3) 선택된 숙주 세포에서 발현 시의 N-말단 또는 C-말단 이질성, (4) 당화, (5) 보체와의 상호작용, (6) 회수 수용체 이외의 Fc 수용체에 대한 결합, 또는 (7) 항체-의존적 세포 세포독성(antibody-dependent cellular cytotoxicity; ADCC)에 영향을 미치거나 이에 수반되는 하나 이상의 천연 Fc 부위 또는 잔기가 결여된 분자 또는 서열을 포함한다.

[0100] 용어 "Fc 도메인"은 위에 정의된 바와 같은 천연 Fc 및 Fc 변이체 분자 및 서열을 포함한다. Fc 변이체 및 천연 Fc's와 같이, 용어 "Fc 도메인"은 전체 항체로부터 소화되든 재조합 유전자 발현에 의해 또는 다른 수단에 의해 생산되든, 단량체 형태 또는 다량체 형태의 분자를 포함한다. 다양한 구현예에서, Fc 도메인 내의 Fc 도메인 단량체 각각은 Fc 도메인과 ^{Fcy} 수용체 사이의 상호작용 또는 결합을 감소시키기 위해 CH2 항체 불변 도메인에 아미노산 치환을 포함한다. 다양한 구현예에서, Fc 도메인의 각각의 서브유닛은 활성화 Fc 수용체에 대한 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 3 아미노산 치환을 포함하며 여기서 상기 아미노산 치환은 L234A, L235A 및 G237A이다(서열번호: 6).

[0101] Fc 도메인 내의 2개의 Fc 도메인 단량체 각각은 2개의 단량체의 이중이량체화를 촉진시키는 아미노산 치환을 포함한다. 다양한 다른 구현예에서, Fc 도메인 단량체의 이중이량체화는 "뿔-인투-홀(knob-into-hole)" 잔기 쌍과 같은, 2개의 Fc 도메인 단량체에 상이하지만, 호환가능한 치환을 도입함으로써 촉진될 수 있다. "뿔-인투-홀" 기술은 또한 미국 특허 공개 번호 제8,216,805호에 개시된다. 더 다른 구현예에서, 하나의 Fc 도메인 단량체는 뿔(knob) 돌연변이 T366W를 포함하고 다른 Fc 도메인 단량체는 홀(hole) 돌연변이 T366S, L358A, 및 Y407V를

포함한다. 다양한 구현예에서, 2개의 **Cys** 잔기가 도입되었으며("놉(knob)" 측면 상의 S354C 및 "홀(hole)" 측면 상의 Y349C) 이는 안정화 디설파이드 브릿지를 형성한다(서열번호: 7 및 8).

[0102] 일 양태에서, 본 발명의 IL-15 융합 단백질은 IL-15 융합 단백질을 형성하기 위해 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체 및 직접적으로 또는 펩타이드 링커 서열을 통해 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체에 부착되는 적어도 하나의 이중 단백질을 포함한다. 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "융합 단백질"은 재조합 DNA 기술을 통해 부착되는 이중 폴리펩타이드를 갖는 단백질을 지칭한다. 다양한 구현예에서, 이중 단백질은 Fc 도메인(또는 그것의 기능적 단편)이고 결과 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체-Fc 융합 단백질이다. 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체는 융합 분자에 대해 연장된 반감기를 부여하는 적어도 하나의 폴리펩타이드에 융합된다. 그러한 폴리펩타이드는 신생아 **Fcy** /수용체, 인간 혈청 알부민에 결합하는 IgG Fc 또는 다른 폴리펩타이드, 또는 IgG 불변 도메인의 존재로 인해 생체내 반감기를 증가시킨, IgGs, 비-IgG 면역글로불린, 단백질 및 비-단백질 제제를 포함하는, 연장된 혈청 반감기를 갖는 단백질에 결합하는 폴리펩타이드, 또는 FcRn에 대한 불변 도메인 또는 단편의 친화도를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 변형을 갖는, FcRn을 결합시키는 이것의 일부를 포함한다. 증가된 반감기를 갖는 그러한 단백질 및 분자는 더 작은 양 및 또는 덜 빈번한 투약이 그러한 분자의 치료적, 예방적 또는 진단적 사용에 요구된다는 이점을 갖는다(예를 들어, 미국 특허 번호 제7,658,921호 참조). 다양한 구현예에서, Fc 도메인은 인간 IgG1 Fc 도메인, 인간 IgG2 Fc 도메인, 인간 IgG3 Fc 도메인, 인간 IgG4 Fc 도메인, IgA Fc 도메인, IgD Fc 도메인, IgE Fc 도메인, IgG Fc 도메인 및 IgM Fc 도메인; 또는 이들의 임의의 조합으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 다양한 구현예에서, Fc 도메인은 변경된 보체 또는 Fc 수용체 결합 특성을 갖는 Fc 도메인을 야기하는 아미노산 변화를 포함한다. 변경된 보체 또는 Fc 수용체 결합 특성을 갖는 Fc 도메인을 생산하기 위한 아미노산 변화는 당해 기술에 알려져 있다.

[0103] 다양한 구현예에서, Fc 도메인은 돌연변이되어 생체내 반감기를 더 연장시킬 수 있다. 다양한 구현예에서, Fc 도메인의 각각의 서브유닛은 인간 FcRn에 대한 결합을 향상시킨 3개의 아미노산 치환을 포함하며 여기서 상기 아미노산 치환은 미국 특허 공개 번호 7,658,921에 개시된 M252Y, S254T, 및 T256E이다(서열번호: 105). 다양한 구현예에서, Fc 도메인의 각각의 서브유닛은 인간 FcRn에 대한 결합을 향상시킨 하나의 아미노산 치환을 포함하며 여기서 상기 아미노산 치환은 미국 특허 공개 번호 제7,371,826호에 개시되는 N434A이다(서열번호: 106). 다양한 구현예에서, Fc 도메인의 각각의 서브유닛은 인간 FcRn에 대한 결합을 향상시킨 하나의 아미노산 치환을 포함하며 여기서 상기 아미노산 치환은 미국 특허 공개 번호 제8,546,543호에 개시되는 M428L 및 N434S이다. 다양한 구현예에서, 반감기 연장 돌연변이는 활성화 Fc 수용체에 대한 결합을 감소/폐지시키고 따라서 효과기 기능을 약화/폐지하는 아미노산 치환과 결합될 수 있다.

[0104] 다양한 구현예에서, 이량체 IL-15/IL-15R α 복합체-Fc 융합 단백질을 만들기 위해 사용되는 Fc 도메인 서열은 감소된/폐지된 효과기 기능을 갖고 서열번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 갖는 IgG1-Fc 도메인이다.

[0105] 다양한 구현예에서, 이량체 IL-15/IL-15R α 복합체-Fc 융합 단백질을 만들기 위해 사용되는 Fc 도메인은 감소된/폐지된 효과기 기능 및 연장된 반감기를 갖고 서열번호: 105에 제시된 아미노산 서열을 갖는 IgG1-Fc 도메인이다.

[0106] 다양한 구현예에서, 이량체 IL-15/IL-15R α 복합체-Fc 융합 단백질을 만들기 위해 사용되는 Fc 도메인은 감소된/폐지된 효과기 기능 및 연장된 반감기를 갖고 서열번호: 106에 제시된 아미노산 서열을 갖는 IgG1-Fc 도메인이다.

[0107] 다양한 구현예에서, 1가 IL-15/IL-15R α 복합체-Fc 융합 단백질을 만들기 위해 사용되는 이중이량체 Fc 도메인 서열은 감소된/폐지된 효과기 기능을 갖고 서열번호: 7에 제시된 서열을 갖는 놉-Fc 도메인이다.

[0108] 다양한 구현예에서, 1가 IL-15/IL-15R α 복합체-Fc 융합 단백질을 만들기 위해 사용되는 이중이량체 Fc 도메인 서열은 감소된/폐지된 효과기 기능을 갖고 서열번호: 8에 제시된 서열을 갖는 홀-Fc 도메인이다.

[0109] 다양한 구현예에서, 1가 IL-15/IL-15R α 복합체-Fc 융합 단백질을 만들기 위해 사용되는 이중이량체 Fc 도메인은 감소된/폐지된 효과기 기능 및 연장된 반감기를 갖고 서열번호: 107에 제시된 아미노산 서열을 갖는 놉-Fc 도메인이다.

[0110] 다양한 구현예에서, 1가 IL-15/IL-15Ra 복합체-Fc 융합 단백질을 만들기 위해 사용되는 이중이량체 Fc 도메인은 감소된/폐지된 효과기 기능 및 연장된 반감기를 갖고 서열번호: 108에 제시된 아미노산 서열을 갖는 홀-Fc 도메인이다.

[0111] 종양 연관 항원 항체 및 단백질/펩타이드 바인더

[0112] 다양한 구현예에서, 이종 단백질은 질환 세포 또는 질환 조직 상의 종양 연관 항원(tumor associated antigen; TAA)에 결합할 수 있는 항체, 항체 단편, 또는 단백질 또는 펩타이드를 포함할 수 있다. TAA는 면역 반응이 요구되는 임의의 분자, 고분자, 분자의 조합 등일 수 있다. TAA는 하나보다 많은 폴리펩타이드 서브유닛을 포함하는 단백질일 수 있다. 예를 들어, 단백질은 이량체, 삼량체, 또는 고차 다량체일 수 있다. 다양한 구현예에서, 단백질의 2개 이상의 서브유닛은 공유 결합, 예컨대, 예를 들어, 다이설파이드 결합과 연결될 수 있다. 다양한 구현예에서, 단백질의 서브유닛은 비-공유 상호작용과 함께 유지될 수 있다. 따라서, TAA는 당업자가 면역 반응을 유도하기 원하는 임의의 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 핵산, 지질, 탄수화물, 또는 작은 유기 분자, 또는 그 임의의 조합일 수 있다. 다양한 구현예에서, TAA는 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 약 50, 약 55, 약 60, 약 65, 약 70, 약 75, 약 80, 약 85, 약 90, 약 95, 약 100, 약 150, 약 200, 약 250, 약 300, 약 400, 약 500, 약 600, 약 700, 약 800, 약 900 또는 약 1000개의 아미노산을 포함하는 펩타이드이다. 다양한 구현예에서, 펩타이드, 폴리펩타이드, 또는 단백질은 주사에 의해 피험자에게 통상적으로 투여되는 분자이다. 다양한 구현예에서, 투여 후, 종양-특이적 항체 또는 결합 단백질은 융합 분자를 질환 부위, 예컨대 암 부위로 안내하는 표적화 모이어티의 역할을 하며, 여기서 활성 도메인은 질환 세포 또는 질환 조직 상의 그것의 동족 수용체와 상호작용할 수 있다.

[0113] 전술한 마커 중 임의의 마커는 본 발명의 작제물을 위한 질병 연관 표적 또는 TAA 표적으로서 사용될 수 있다. 다양한 구현예에서, 본 개시의 작제물 및 방법에서 사용을 위해 고려되는 하나 이상의 질환 연관 표적 또는 그것의 변이체, 또는 TAA, TAA 변이체, 또는 TAA 돌연변이체는 표 2에 제공되는 리스트로부터 선택되거나, 유도된다.

표 2

[0114] 종양 연관 항원 리스트

종양 연관 항원	RefSeq (단백질)
Her2/neu	NP_001005862
Her3	NP_001005915
Her4	NP_001036064
EGF	NP_001171601
EGFR	NP_005219
CD2	NP_001758
CD3	NM_000732
CD5	NP_055022
CD7	NP_006128
CD13	NP_001141
CD19	NP_001171569
CD20	NP_068769
CD21	NP_001006659
CD22	NP_001762
CD23	NP_001193948
CD30	NP_001234
CD33	NP_001234.3
CD34	NP_001020280
CD38	NP_001766
CD40	NP_001241
CD46	NP_002380
CD55	NP_000565
CD59	NP_000602
CD69	NP_001772
CD70	NM_001252
CD71	NP_001121620
CD80	NP_005182
CD97	NP_001020331
CD117	NP_000213

CD127	NP_002176
CD134	NP_003318
CD137	NP_001552
CD138	NP_001006947
CD146	NP_006491
CD147	NP_001719
CD152	NP_001032720
CD154	NP_000065
CD195	NP_000570
CD200	NP_001004196
CD212	NP_001276952
CD223	NP_002277
CD253	NP_001177871
CD272	NP_001078826
CD274 (PD-L1)	NP_001254635
CD276	NP_001019907
CD278	NP_036224
CD279 (PD-1)	NP_005009
CD309 (VEGFR2)	NP_002244
DR6	NP_055267
Kv1.3	NP_002223
5E10	NP_006279
MUC1	NP_001018016
uPA	NP_002649
SLAMF7 (CD319)	NP_001269517
MAGE 3	NP_005353
MUC 16 (CA-125)	NP_078966
KLK3	NP_001025218
K-ras	NP_004976
메소텔린	NP_001170826
p53	NP_000537
서바이빈	NP_001012270
G250 (신장 세포 암 항원)	유전자은행 CAB82444.1
PSMA	NP_001014986
HLA-DR	NP_001020330
1D10	NP_114143
콜라겐 타입 I	NP_000079
콜라겐 타입 II	NP_000080
피브로넥틴	XP_005246463
테나신	NP_002151
기질 메탈로프로티나아제 -2 (MMP-2)	NP_001121363
기질 메탈로프로티나아제 -9 (MMP-9)	NP_004985
기질 메탈로프로티나아제 -14 (MMP-14)	NP_004986
섬유아세포 활성화 단백질 (FAP)	NM_004460.3
Siglec-8	NP_055257
Siglec-9	NP_001185487
Siglec-15	NP_998767
레구마인	NP_001008530
티로시나아제	NP_000363
멜란-A (MART 1)	NP_005502
SSX-2	NP_003138
MAGE-1	NP_004979
NY-ESO-1 (CTAG1)	NP_001318
프레임	NP_006106
PSA	NP_001639
C35	NP_115715

SSX-4	NP_783856
gp100 (Pme117)	NP_008859
TTF1	NP_003308
맘마글로빈	NP_002402
Brst2	NP_002643
메소텔린, 아이소폼 1	NP_005814
메소텔린, 아이소폼 2	NP_037536
PSCA	NP_005663
SYCP-1	NP_003167
PLK1	NP_005321
VEGF-A	NP_001020537.2
알파 페토프로테인(AFP)	NP_001125

[0115] 종양-연관 항원의 추가 예는 TRP-1, TRP-2, MAG-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15(58), CEA, RAGE, NY-BSO(LAGE), SCP-1, Hom/Mel-40, H-Ras, BCR-ABL, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, 인간 유도종바이러스(human papillomavirus; HPV) 항원 E6 및 E7, TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, p185erbB2, p180erbB-3, c-met nm-23H1, PSA, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, Numa, K-ras, β -Catenin, CDK4, Muni-1, p16, TAGE, PSCA, CT7, telomerase, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, β -HCG, BCA225, BTAA, CA 15-3(CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\KF1, CO-029, FGF-5, G250, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90(Mac-2 결합 단백질\시클로필린 C-관련 단백질), TAAL6, TAG72, TLP, 및 TPS를 포함한다.

[0116] 면역 관문 조절제

[0117] 다수의 면역-관문 단백질 항원은, 예를 들어, CD152(활성화된 CD8+ T 세포, CD4+ T 세포 및 조절 T 세포에 의해 발현됨), CD279(활성화된 T 세포(CD4 및 CD8 둘 다), 조절 T 세포, 활성화된 B 세포, 활성화된 NK 세포, 아네르기성 T 세포, 단핵구, 수지상 세포에 의해 발현되는, 종양 침윤 림프구 상에 발현됨), CD274(T 세포, B 세포, 수지상 세포, 대식세포, 혈관 내피 세포, 이자 섬 세포 상에 발현됨), 및 CD223(활성화된 T 세포, 조절 T 세포, 아네르기성 T 세포, NK 세포, NKT 세포, 및 플라스마사이토이드 수지상 세포에 의해 발현됨)을 포함하는 다양한 면역 세포 상에서 발현되는 것으로 보고되었다(예를 들어, Pardoll, D., Nature Reviews Cancer, 12:252-264, 2012 참조). 면역-관문 단백질인 것으로 결정되는 항원에 결합하는 항체는 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 다양한 항-CD276 항체는 기술 분야에 설명되었고(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20120294796호(Johnson 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조); 다양한 항-CD272 항체는 기술 분야에 설명되었고(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20140017255호(Mataraza 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조); 다양한 항-CD152/CTLA-4 항체는 기술 분야에 설명되었고(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20130136749호(Korman 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조); 다양한 항-LAG-3/CD223 항체는 기술 분야에 설명되었고(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20110150892(Thudium 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조); 다양한 항-CD279/PD-1 항체는 기술 분야에 설명되었고(예를 들어, 미국 특허 번호 제7,488,802호(Collins 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조); 다양한 항-CD274/PD-L1 항체는 기술 분야에 설명되었고(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20130122014호(Korman 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조); 다양한 항-TIM-3 항체는 기술 분야에 설명되었고(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20140044728호(Takayanagi 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조); 및 다양한 항-B7-H4 항체는 기술 분야에 설명되었다(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20110085970호(Terrett 등) 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조). 이러한 참조문헌 각각은 이로써 본원에 교시되는 특이적 항체 및 서열에 대해 전체적으로 참조로 통합된다.

[0118] 다양한 구현예에서, 이중 단백질은 면역 세포의 표면 상에 존재하는 면역-관문 단백질 항원에 대한 결합을 나타내는 항체, 항체 단편, 또는 단백질 또는 펩타이드를 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 면역-관문 단백질 항원은 CD276, CD272, CD152, CD223, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD40, SIRP α , CD47, OX-40, GITR, ICOS, CD27, 4-1BB, TIM-3, B7-H4, Siglec-7, Siglec-8, Siglec-9, Siglec-15, 및 VISTA로 구성되지만, 이에 제한되지 않는 군(group)으로부터 선택된다.

[0119] 다양한 구현예에서, 항체는 서열번호: 109-110에 제시되는 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 인간화된 항-FAP 항체이다. 다양한 구현예에서, 항체는 길항적 프로그래밍된 데스-1(Programmed Death-1; PD-1) 항체 또는 항체 단편이다. 다양한 구현예에서, 항체는 서열번호: 111-112에 제시되는 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 길항

적 인간화된 PD-1 항체이다. 다양한 구현예에서, 항체는 서열번호: 113-114에 제시되는 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 길항적 인간 PD-1 항체이다. 다양한 구현예에서, 항체는 길항적 프로그래밍된 데스 리간드-1(PD-L1) 항체 또는 항체 단편이다.

링커

다양한 구현예에서, 이중 단백질(예를 들어, Fc 도메인 또는 항체/항체 단편)은 폴리펩타이드 링커 서열에 의해 IL-15/IL-15R α Sushi(또는 그 기능적 단편) 복합체의 IL-15 폴리펩타이드에 공유적으로 링크된다. 다양한 구현예에서, 링커는 상대적으로 이차 구조가 없는 5, 10, 15, 20, 30, 40 이상의 아미노산 사이의 인공 서열일 수 있다. 다양한 구현예에서, 링커는 G/S 함량이 풍부하다(예를 들어, 링커 내의 아미노산의 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90% 이상은 G 또는 S임). 다양한 구현예에서, 링커는 서열번호: 9-12 및 서열번호: 47, 및 서열번호: 153-154에 제시되는 서열의 군으로부터 선택된다. 각각의 펩타이드 링커 서열은 독립적으로 선택될 수 있다.

신규한 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체 융합 단백질의 예

다양한 구현예에서, 본 발명의 예시적 IL-15/IL-15R α Sushi 이중이량체 Fc 융합 단백질은 융합 단백질 ID 번호 및 융합 단백질 사슬 1 및 사슬 2 서열번호와 함께 표 3A에 열거된다.

표 3A

예시적 IL-15/IL-15R α Sushi 이중이량체 Fc 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:	
	사슬 1	사슬 2
P-0153	13	14
P-0156	15	16
P-0155	17	18

다양한 구현예에서, 본 발명의 예시적 1가 IL-15/IL-15R α Sushi (비-공유) Fc 융합 단백질은 융합 단백질 ID 번호 및 융합 단백질 사슬 1, 사슬 2 및 사슬 3 서열번호와 함께 표 3B에 열거된다.

표 3B

예시적 1가 IL-15/IL-15R α Sushi (비-공유) Fc 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:		
	사슬 1	사슬 2	사슬 3
P-0197	13	5	7
P-0201	15	5	7
P-0207	18	5	7
P-0217	54	5	7
P-0219	54	4	7
P-0221	19	5	7
P-0222	19	4	7

다양한 구현예에서, 본 발명의 예시적 2가 IL-15/IL-15R α Sushi (비-공유) Fc 융합 단백질은 융합 단백질 ID 번호 및 융합 단백질 사슬 1, 사슬 2 및 사슬 3 서열번호와 함께 표 3C에 열거된다.

표 3C

예시적 2가 IL-15/IL-15R α Sushi (비-공유) Fc 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:		
	사슬 1	사슬 2	사슬 3
P-0198	13	5	55
P-0234	20	5	x
P-0223	21	5	x

다양한 구현예에서, 본 발명의 예시적 2가 IL-15/IL-15R α ECD (비-공유) Fc 융합 단백질은 융합 단백질 ID 번호

및 융합 단백질 사슬 1 및 사슬 2 서열번호와 함께 표 3D에 열거된다.

표 3D

예시적 2가 IL-15/IL-15R αECD (비-공유) Fc 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:	
	사슬 1	사슬 2
P-0220	20	4
P-0224	21	4

다양한 구현예에서, 본 발명의 예시적 1가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질은 융합 단백질 ID 번호 및 융합 단백질 사슬 1, 사슬 2 및 사슬 3 서열번호와 함께 표 3E에 열거된다.

표 3E

예시적 1가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:		
	사슬 1	사슬 2	사슬 3
P-0165	2	14	8
P-0166	2	22	8

다양한 구현예에서, 본 발명의 2가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질(또한 이하에서 "P-0218"로서 지칭됨)은 서열번호: 2에 제시되는 아미노산 서열을 갖는 사슬 1(IL-15), 서열번호: 23에 제시되는 아미노산 서열을 갖는 사슬 2(Fc-링커-IL-15R α-Sushi+)를 포함한다.

다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체는 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32, 서열번호: 33, 서열번호: 34, 서열번호: 35, 서열번호: 36, 서열번호: 37, 서열번호: 38, 서열번호: 39, 서열번호: 40, 서열번호: 41, 서열번호: 42, 서열번호: 43, 서열번호: 44, 및 서열번호: 45, 서열번호: 56, 서열번호: 57, 서열번호: 58, 서열번호: 59, 서열번호: 60, 서열번호: 61, 서열번호: 62, 서열번호: 63, 서열번호: 66, 서열번호: 67, 서열번호: 68, 서열번호: 69, 서열번호: 70, 서열번호: 71, 서열번호: 72, 서열번호: 73, 서열번호: 74, 서열번호: 75, 서열번호: 76, 서열번호: 77, 서열번호: 78, 서열번호: 79, 서열번호: 80, 및 서열번호: 81에 제시되는 서열로 구성되는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 IL-15 변이체를 포함할 것이다.

다양한 구현예에서, 본 발명의 도 1에 예시되는 다양한 형식의 IL-15에 S58D 돌연변이를 포함하는 예시적 IL-15/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질은 융합 단백질 ID 번호 및 융합 단백질 사슬 1, 사슬 2 및 사슬 3 서열번호와 함께 표 3F에 열거된다.

표 3F

IL-15에 S58D 돌연변이를 포함하는 예시적 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:		
	사슬 1	사슬 2	사슬 3
P-0313	46	5	x
P-0314	23	24	x
P-0666	48	5	7
P-0667	49	5	7
P-0668	50	5	x
P-0669	24	22	8
P-0670	24	51	8
P-0671	24	52	x

다양한 구현예에서, 2개 이상의 이중이량체 사슬을 포함하는 추가적인 IL-15 변이체/IL-15R α 복합체-Fc 융합

단백질은 표 3G에 제시된다:

표 3G

추가적인 IL-15 변이체 /IL-15Ra 복합체-Fc 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:		
	사슬 1	사슬 2	사슬 3
P-0739	82	5	x
P-0740	83	5	x
P-0741	84	5	x
P-0742	85	5	x
P-0743	86	5	x
P-0744	87	5	x
P-0771	88	5	x
P-0184	26	14	8
P-0769	89	5	x
P-0770	90	5	x
P-0356	91	5	x
P-0357	92	5	x
P-0358	93	5	x
P-0738	94	5	x
P-0736	95	5	x
P-0737	96	5	x
P-0764	97	7	5
P-0793	98	7	5
P-0805	99	8	5
P-0797	100	8	5
P-0796	101	8	5
P-0773	102	5	x
P-0772	103	5	x
P-0768	104	5	x
P-0866	149	5	x
P-0867	150	5	x
P-0868	151	5	x
P-0822	152	5	x

다양한 구현예에서, IL-15/IL15R α-항체 융합 단백질에서 약독화된 효능을 갖는 IL-15 변이체의 사용은, 말초 활성화를 최소화하고, 항원-싱크를 완화시키고, 항체 아암을 통한 종양 표적화를 촉진시키기 위해, IL-15 모이 어티가 경로의 과도한 활성화를 야기하지 않으면서 항체가 충분한 표적 점유를 달성할 수 있는 최적의 투약을 달성하기 위해 IL-15와 표적화 항체 사이의 화학양론적 균형의 확립을 용이하게 할 수 있다.

다양한 구현예에서, 2개 이상의 이중이량체 사슬을 포함하는 예시적 IL-15 변이체/IL-15R α 복합체-PD-1 길항제 항체 융합 단백질은 표 3H에 제시된다:

표 3H

[0156] 예시적 IL-15 변이체/IL-15R α 복합체- PD-1 길항제 항체 융합 단백질

융합 단백질 ID	융합 단백질 서열번호:			
	사슬 1	사슬 2	사슬 3	사슬 4
P-0820	138	114	5	x
P-0801	139	144	114	5
P-0821	140	144	114	5
P-0870	141	114	5	x
P-0856	142	144	114	5
P-0857	143	144	114	5
P-0858	145	114	5	x
P-0886	146	114	5	x
P-0887	147	114	5	x
P-0888	148	114	5	x

[0157]

[0158] 폴리뉴클레오타이드

[0159] 다른 양태에서, 본 개시는 본 개시의 IL-15, IL-15 변이체, IL-15R α , IL-15R α 변이체, Fc, Fc 변이체, IL-15-Fc 융합 단백질, IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질, 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질을, 항체 표적화 TAA 또는 면역 관련 조절제, 항체 단편, IL-15-항체 융합 단백질, IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다. 대상(subject) 핵산은 단일-가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 그러한 핵산은 DNA 또는 RNA 분자일 수 있다. DNA는 예를 들어, PCR에 의해 증폭되는 cDNA, 게놈 DNA, 합성 DNA, DNA, 및 이들의 조합을 포함한다. IL-15/IL-15R α Sushi 복합체를 인코딩하는 게놈 DNA는 다수의 종에 대해 이용가능한 게놈 라이브러리로부터 취득된다. 합성 DNA는 코딩 영역 및 측접(fanking) 서열의 일부 또는 전부를 재구성하는 단편의 어셈블리 전에 중첩 올리고뉴클레오타이드 단편의 화학적 합성으로부터 이용가능하다. RNA는 T7 프로모터 및 RNA 중합효소를 사용하는 벡터와 같은, mRNA의 고-수준 합성을 지시하는 원핵 발현 벡터로부터 취득될 수 있다. cDNA는 IL-15를 발현시키는 다양한 조직으로부터 단리되는 mRNA로부터 제조되는 라이브러리로부터 취득된다. 본 개시의 DNA 분자는 전장 유전자 뿐만 아니라 폴리뉴클레오타이드 및 그것의 단편을 포함한다. 전장 유전자는 또한 N-말단 신호 서열을 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 그러한 핵산은 예를 들어, 신규한 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질을 만들기 위한 방법에서 사용될 수 있다.

[0160] 다양한 구현예에서, 단리된 핵산 분자는 본원에 설명되는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 본원에 설명되는 적어도 하나의 이중 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 더 포함한다. 다양한 구현예에서, 핵산 분자는 본원에 설명되는 링커 또는 힌지 링커를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 더 포함한다.

[0161] 다양한 구현예에서, 본 개시의 재조합 핵산은 발현 작제물(construct)에서 하나 이상의 조절 뉴클레오타이드 서열에 작동가능하게 링크될 수 있다. 조절 서열은 기술적으로 인식되고 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질의 발현을 지시하도록 선택된다. 따라서, 용어 조절 서열은 프로모터, 인핸서, 및 다른 발현 조절 요소를 포함한다. 예시적인 조절 서열은 Goeddel; Gene Expression Technology: Methods in Enzymology, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)에 설명된다. 전형적으로, 상기 하나 이상의 조절 뉴클레오타이드 서열은 프로모터 서열, 리더 또는 신호 서열, 리보솜 결합 부위, 전사 시작 및 종결 서열, 번역 시작 및 종결 서열, 및 인핸서 또는 활성제 서열을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 당해 분야에 알려진 바와 같은 구성적 또는 유도가능 프로모터는 본 개시에 의해 고려된다. 프로모터는 자연 발생 프로모터, 또는 하나보다 많은 프로모터의 요소를 결합시키는 하이브리드 프로모터일 수 있다. 발현 작제물은 에피솜, 예컨대 플라스미드 상의 세포에 존재할 수 있거나, 발현 작제물은 염색체에 삽입될 수 있다. 다양한 구현예에서, 발현 벡터는 형질전환된 숙주 세포의 선택을 허용하기 위해 선택가능한 마커 유전자를 함유한다. 선택가능한 마커 유전자는 당해 분야에서 잘 알려져 있고 사용되는 숙주 세포에 따라 달라질 것이다.

[0162] 본 개시의 또 다른 양태에서, 대상 핵산은 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체를 인코딩하고 적어도 하나의 조절 서열에 작동가능하게 링크되는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터에 제공된다. 용어 "발현 벡터"는 폴리뉴클레오타이드 서열로부터 폴리펩타이드를 발현시키기 위한 플라스미드, 파아지, 바이러스 또는 벡터를 지칭한다. 숙주 세포에서의 발현에 적합한 벡터는 쉽게 이용가능하고 핵산 분자는 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 벡터로 삽입된다. 그러한 벡터는 DNA 서열의 발현을 조절하는 매우 다양한 발현 조절 서열을 포함할 수 있

으며 그것에 동작가능하게 링크될 때 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질을 인코딩하는 DNA 서열을 발현시키기 위해 이들 벡터에 사용될 수 있다. 그러한 유용한 발현 조절 서열은 예를 들어, SV40의 초기 및 후기 프로모터, tet 프로모터, 아데노바이러스 또는 사이토메갈로바이러스 급초기 프로모터, RSV 프로모터, lac 시스템, trp 시스템, TAC 또는 TRC 시스템, 발현이 T7 RNA 중합효소에 의해 지시되는 T7 프로모터, 파아지 람다의 주요 오퍼레이터 및 프로모터 영역, fd 코트 단백질을 위한 조절 영역, 3-포스포글리세레이트 키나제 또는 다른 당분해 효소를 위한 프로모터, 산 포스포타제, 예를 들어, PhoS의 프로모터, 효모 α -메이팅(α -mating) 인자의 프로모터, 배칼로바이러스 시스템의 다면체 프로모터 및 원핵 또는 진핵 세포 또는 그것의 바이러스의 유전자의 발현을 조절하는 것으로 알려진 다른 서열, 및 다양한 이들의 조합을 포함한다. 발현 벡터의 디자인은 형질전환될 숙주 세포의 선택 및/또는 발현되도록 요구되는 단백질의 유형과 같은 그러한 인자에 의존할 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 또한, 벡터의 복제수, 그러한 복제수를 조절하는 능력 및 벡터, 예컨대 항생제 마커에 의해 인코딩되는 임의의 다른 단백질의 발현이 또한 고려되어야 한다.

[0163] 본 개시의 재조합 핵산은 클로닝된 유전자, 또는 이것의 일부를 원핵 세포, 진핵 세포(효모, 조류, 곤충 또는 포유동물), 또는 둘 다에서 발현에 적합한 벡터에 결합시킴으로써 생산될 수 있다. 재조합 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 생산을 위한 발현 비히클은 플라스미드 및 다른 벡터를 포함한다. 예를 들어, 적합한 벡터는 다음 유형의 플라스미드를 포함한다: pBR322-유도 플라스미드, pEMBL-유도 플라스미드, pEX-유도 플라스미드, pBTac-유도 플라스미드 및 원핵 세포, 예컨대 대장균(*E. coli*)에서 발현을 위한 pUC-유도 플라스미드.

[0164] 일부 포유동물 발현 벡터는 박테리아에서 벡터의 번식을 용이하게 하기 위한 원핵 서열, 및 진핵 세포에서 발현되는 하나 이상의 진핵 전사 단위 둘 다를 함유한다. pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo 및 pHyg 유도 벡터는 진핵 세포의 형질감염에 적합한 포유동물 발현 벡터의 예이다. 이들 벡터 중 일부는 원핵 및 진핵 세포 둘 다에서 복제 및 약물 내성 선택을 용이하게 하기 위해, pBR322와 같은, 박테리아 플라스미드로부터의 서열로 개질된다. 대안적으로, 바이러스 예컨대 소과 유두종 바이러스(BPV-1), 또는 엡슈타인-바르 바이러스(pHEBo, pREP-유도 및 p205)의 유도체는 진핵 세포에서 단백질의 일시적인 발현을 위해 사용될 수 있다. 다른 바이러스(레트로바이러스 포함) 발현 시스템의 예는 이하 유전자 요법 전달 시스템의 설명에서 발견될 수 있다. 플라스미드의 조제 및 숙주 유기체의 형질 전환에 이용되는 다양한 방법은 당해 기술에 잘 알려져 있다. 원핵 및 진핵 세포 둘 다에 대한 다른 적합한 발현 뿐만 아니라, 일반적인 재조합 절차에 대해, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch and Maniatis(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) Chapters 16 및 17을 참조한다. 일부 사례에서, 배칼로바이러스 발현 시스템의 사용에 의해 재조합 폴리펩타이드를 발현시키는 것이 바람직할 수 있다. 그러한 배칼로바이러스 발현 시스템의 예는 pVL-유도 벡터(예컨대 pVL1392, pVL1393 및 pVL941), pAcUW-유도 벡터(예컨대 pAcUW1), 및 pBlueBac-유도 벡터(예컨대 pBlueBac III를 함유하는 B-gal)를 포함한다.

[0165] 다양한 구현예에서, 벡터는 Pcmv-Script 벡터(Stratagene, La Jolla, Calif.), pcDNA4 벡터(Invitrogen, Carlsbad, Calif.) 및 pCI-neo 벡터(Promega, Madison, Wis.)와 같은, CHO 세포에서 대상체 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질의 생산을 위해 설계될 것이다. 명백한 바와 같이, 대상체 유전자 작제물은, 예를 들어, 정제를 위한, 융합 단백질 또는 변이체 단백질을 포함하는, 단백질을 생산하기 위해, 배양에서 번식되는 세포에서 대상체 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질의 발현을 야기하기 위해 사용될 수 있다.

[0166] 본 개시는 또한 대상체 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질 중 하나 이상에 대한 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 재조합 유전자로 형질감염되는 숙주 세포에 관한 것이다. 숙주 세포는 임의의 원핵 또는 진핵 세포일 수 있다. 예를 들어, 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체는 박테리아 세포 예컨대 대장균(*E. coli*), 곤충 세포(예를 들어, 배칼로바이러스 발현 시스템을 사용함), 효모, 또는 포유동물 세포에서 발현될 수 있다. 다른 적합한 숙주 세포는 당업자에게 알려져 있다.

[0167] 따라서, 본 개시는 추가로 대상체 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질을 생산하는 방법에 관한 것이다. 예를 들어, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체를 인코딩하는 발현 벡터로 형질감염되는 숙주 세포는 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체의 발현이 발생하도록 허용하는 적절한 조건 하에서 배양될 수 있다. IL-15/IL-15R α Sushi 복합체는 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질을 함유하는 배지 및 세포의 혼합물로부터 분리 및 단리될 수 있다. 대안적으로, IL-15/IL-15R α Sushi 복합체는 세포질적으로 또는 멤브레인 분획으로 유지되고 세포 채취되고, 용해되고 단백질 단리될 수 있다. 세포 배양은 숙주 세포,

배지 및 다른 부산물을 포함한다. 세포 배양에 대한 적합한 배지는 당해 기술에 잘 알려져 있다.

[0168] 본 개시의 폴리펩타이드 및 단백질은 당업자에게 잘 알려진 단백질 정제 기술에 따라 정제될 수 있다. 이들 기술은, 한 수준에서, 단백질성 및 비-단백질성 분획의 조분류(crude fractionation)를 수반한다. 펩타이드 폴리펩타이드를 다른 단백질로부터 분리한 경우, 관심 있는 펩타이드 또는 폴리펩타이드는 부분적인 또는 완전한 정제(또는 균질성에 대한 정제)를 달성하기 위해 크로마토그래피 및 전기영동 기술을 사용하여 더 정제될 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "단리된 폴리펩타이드" 또는 "정제된 폴리펩타이드"는 다른 구성요소로부터 단리가능한 조성물을 지칭하도록 의도되며, 여기서 폴리펩타이드는 그것의 자연적으로-수득가능한 상태에 대해 어느 정도로 정제된다. 따라서, 정제된 폴리펩타이드는 또한 그것이 자연적으로 발생할 수 있는 환경으로부터 자유로운 폴리펩타이드를 지칭한다. 일반적으로, "정제된"은 다양한 다른 구성요소를 제거하기 위해 분별화를 거친 폴리펩타이드 조성물을 지칭할 것이고, 이 조성물은 실질적으로 그것의 발현된 생물학적 활성을 유지한다. 용어 "실질적으로 정제된"이 사용되는 경우, 이러한 지정은 폴리펩타이드 또는 펩타이드가 조성물 내의 단백질의 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 85%, 또는 약 90% 이상을 구성하는, 조성물의 주요 구성요소를 형성하는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 조성물을 지칭할 것이다.

[0169] 정제에 사용하기에 적합한 다양한 기술이 당업자에게 잘 알려져 있을 것이다. 이들은, 예를 들어, 원심 분리 전에, 암모늄 설페이트, PEG, 항체(면역침강) 등을 사용하여 또는 열 변성에 의한 침전; 크로마토그래피 예컨대 친화성 크로마토그래피(단백질-A 칼럼), 이온 교환, 겔 여과, 역상, 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite), 소수성 상호작용 크로마토그래피; 등전점 포커싱; 겔 전기영동; 이들 기술의 조합을 포함한다. 일반적으로 당업계에서 알려진 바와 같이, 다양한 정제 단계를 수행하는 순서가 변화될 수 있거나, 특정 단계들이 생략될 수 있고, 실질적으로 정제된 폴리펩타이드의 적합한 제조 방법을 여전히 야기하는 것으로 여겨진다.

[0170] 약제학적 조성물

[0171] 또 다른 양태에서, 본 개시는 약제학적으로 허용가능한 담체를 갖는 혼합물에 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 용합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 그러한 약제학적으로 허용가능한 담체는 당업자에 의해 잘 알려지고 이해되었으며 광범위하게 설명되었다(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990을 참조). 약제학적으로 허용가능한 담체는 예를 들어, 조성물의 pH, 삼투질농도, 점도, 명료성, 색상, 등장성, 냄새, 멸균, 안정성, 용해 또는 방출 속도, 흡착 또는 침투를 개질, 유지 또는 보존하기 위한 목적을 위해 포함될 수 있다. 그러한 약제학적 조성물은 폴리펩타이드의 물리적 상태, 안정성, 생체내 방출 속도, 및 생체내 청소능의 속도에 영향을 미칠 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용가능한 담체는 아미노산(예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신); 항미생물제; 항산화제(예컨대 아스코르브산, 아황산나트륨 또는 나트륨 수소-설파이트); 완충액(예컨대 보레이트, 바이카보네이트, 트리스-HCl, 시트레이트, 포스페이트, 다른 유기 산); 증량제(예컨대 만니톨 또는 글리신), 킬레이트제(예컨대 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA)); 착화제(예컨대 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-사이클로덱스트린 또는 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린); 충전제; 단당류; 이당류 및 다른 탄수화물(예컨대 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린); 단백질(예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 착색제; 풍미제 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체(예컨대 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩타이드; 염 형성 반대 이온(예컨대 나트륨); 보존제(예컨대 벤즈알코올 클로라이드, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 또는 과산화수소); 용매(예컨대 글리세린, 프로필렌 글라이콜 또는 폴리에틸렌 글라이콜); 당 알코올(예컨대 만니톨 또는 소르비톨); 현탁화제; 계면활성제 또는 습윤제(예컨대 플루로닉스, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트 예컨대 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 킬록사팔); 안정성 증진제(수크로스 또는 소르비톨); 등장성 증진제(예컨대 알칼리 할로젠화금속(바람직하게는 나트륨 또는 칼륨 클로라이드, 만니톨 소르비톨)); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및/또는 약제학적 아췌반트를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0172] 약제학적 조성물의 일차 비히클 또는 담체는 본질적으로 수성 또는 비-수성일 수 있다. 예를 들어, 적합한 비히클 또는 담체는 가능하게는 비경구 투여를 위한 조성물에 공통인 다른 물질로 보충되는, 주사용 물, 생리학적 식염수 또는 인공 뇌척수액일 수 있다. 혈청 알부민과 혼합되는 중성 완충 식염수 또는 염수는 더 예시적인 비히클이다. 다른 예시적인 약제학적 조성물은 약 pH 7.0 내지 8.5의 트리스(Tris) 완충액, 또는 약 pH 4.0 내지 5.5의 아세테이트 완충액을 포함하며, 이는 소르비톨 또는 그것의 적합한 대체제를 더 포함할 수 있다. 본 개시의 일 구현예에서, 조성물은 동결건조된 케이크 또는 수용액의 형태로 원하는 정도의 순도를 갖는 선택된 조성물과 선택적인 제형 제제(Remington's Pharmaceutical Sciences, supra)를 혼합함으로써 보관용으로 제조될 수 있다. 또한, 치료적 조성물은 적절한 부형제 예컨대 수크로스를 사용하여 리오필리제이트로서 제형화될 수

있다. 최적의 약제학적 조성물은 예를 들어, 의도된 투여 경로, 전달 형식, 및 원하는 투여량에 따라 당업자에 의해 결정될 것이다.

[0173] 비경구 투여가 고려될 때, 치료적인 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 비히클에서 원하는 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체를 포함하는 무 발열원, 비경구로 허용가능한 수용액의 형태일 수 있다. 비경구 주사에 대해 특히 적합한 비히클은 폴리펩타이드가 적절하게 보존된, 멸균, 등장성 용액으로서 제형화되는 멸균 증류수이다. 다양한 구현예에서, 주사가능 투여에 적합한 약제학적 제형은 수용액으로, 바람직하게는 생리학적으로 양립가능한 완충액 예컨대 헵크스(Hanks) 용액, 링거액, 또는 생리학적 완충 식염수로 제형화될 수 있다. 수성 주사 현탁액은 나트륨 카복시메틸 셀룰로오스, 소르비톨, 또는 텍스트란과 같은, 현탁액의 점도를 증가시키는 서브스틴스를 함유할 수 있다. 추가적으로, 활성 화합물의 현탁액은 적절한 유성 주사 현탁액으로서 제조될 수 있다. 선택적으로, 현탁액은 또한 화합물의 용해도를 증가시키고 고농축 용액의 제조를 허용하기 위해 적합한 안정화제 또는 제제를 함유할 수 있다.

[0174] 다양한 구현예에서, 치료적인 약제학적 조성물은 콜로이드성 분산 시스템을 사용하여 표적화된 전달을 위해 제형화될 수 있다. 콜로이드성 분산 시스템은 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로구형체, 비드, 및 수중유 에멀전, 교질입자, 혼합된 교질입자, 및 리포솜을 포함하는 지질-기반 시스템을 포함한다. 리포솜 생산에 유용한 지질의 예는 포스파티딜 화합물, 예컨대 포스파티딜글리세롤, 포스파티딜콜린, 포스파티딜세린, 포스파티딜에탄올아민, 스펅고지질, 세레브로시드, 및 강글리오사이드를 포함한다. 예시적인 인지질은 에그(egg) 포스파티딜콜린, 디팔미토일포스파티딜콜린, 및 디스테아로일포스파티딜콜린을 포함한다. 리포솜의 표적화는 예를 들어, 기관-특이성, 세포 특이성, 및 소기관-특이성에 기초하여 또한 가능하고 당해 기술에 알려져 있다.

[0175] 다양한 구현예에서, 약제학적 조성물의 경구 투여가 고려된다. 이러한 방식으로 투여되는 약제학적 조성물은 정제 및 캡슐과 같은 고형 투약 형태의 배합에서 관례상 사용되는 그러한 담체의 유무에 관계없이 제형화될 수 있다. 경구 투여를 위한 고형 투약 형태(캡슐, 정제, 환제, 당의정, 파우더, 과립, 등)에서, 본 개시의 하나 이상의 치료적 화합물은 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체, 예컨대 나트륨 시트레이트 또는 인산제이칼슘, 및/또는 다음 중 임의의 것과 혼합될 수 있다: (1) 충전제 또는 증량제, 예컨대 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨, 및/또는 규산; (2) 결합제, 예컨대, 예를 들어, 카복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐 피롤리돈, 수크로스, 및/또는 아카시아; (3) 습윤제, 예컨대 글리세롤; (4) 붕해제, 예컨대 한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 실리케이트, 및 탄산나트륨; (5) 용액 지연제, 예컨대 파라핀; (6) 흡수 가속제, 예컨대 사차 암모늄 화합물; (7) 습윤제, 예컨대, 예를 들어, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트; (8) 흡수제, 예컨대 카올린 및 벤토나이트 점토; (9) 윤활제, 예컨대 탈크, 칼슘 스테아레이트, 스테아르산마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글라이콜, 나트륨 라우릴 설페이트, 및 이들의 혼합물; 및 (10) 착색제. 캡슐, 정제 및 환제의 경우, 약제학적 조성물은 또한 완충제를 포함할 수 있다. 유사한 유형의 고체 조성물은 또한 고분자량 폴리에틸렌 글라이콜 등 뿐만 아니라, 락토스 또는 유당과 같은 그러한 부형제를 사용하여 연질 및 경질-충진된 젤라틴 캡슐에서 충전제로서 이용될 수 있다. 경구 투여를 위한 액체 투약 형태는 약제학적으로 허용가능한 에멀전, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽, 및 엘릭시르를 포함한다. 활성 성분에 더하여, 액체 투약 형태는 당업계에서 통상적으로 사용되는 불활성 희석제, 예컨대 물 또는 다른 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글라이콜, 1,3-부틸렌 글라이콜, 오일(특히, 면종자, 땅콩, 옥수수, 세균, 올리브, 캐스터, 및 참깨 오일), 글리세롤, 테트라하이드로푸틸 알코올, 폴리에틸렌 글라이콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 그리고 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 불활성 희석제를 제외하고, 경구 조성물은 또한 아쥘만트 예컨대 습윤제, 유화 및 현탁화 제제, 감미제, 풍미제, 착색제, 방향제, 및 보존제를 포함할 수 있다.

[0176] 다양한 구현예에서, 피부 또는 점막 멤브레인에 대한 약제학적 조성물의 국소 투여가 고려된다. 국소 제형은 피부 또는 각질층 침투 증진제로서 효과적인 것으로 알려진 광범위한 제제 중 하나 이상을 더 포함할 수 있다. 이들의 예들은 2-피롤리돈, N-메틸-2-피롤리돈, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 프로필렌 글라이콜, 메틸 또는 이소프로필 알코올, 디메틸 설펝사이드, 및 아존(azone)이다. 추가적인 제제는 제형을 화장용으로 허용가능하게 만들기 위해 더 포함될 수 있다. 이들의 예들은 지방, 왁스, 오일, 염료, 향료, 보존제, 안정화제, 및 표면-활성제이다. 각질용해성 제제 예컨대 당해 분야에서 알려진 것들이 또한 포함될 수 있다. 예들은 살리실산 및 황이다. 국소 또는 경피 투여를 위한 투약 형태는 파우더, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 용액, 패치, 및 흡입제를 포함한다. 활성 화합물은 약제학적으로 허용가능한 담체, 및 요구될 수 있는 임의의 보존제, 완충액, 또는 추진제와 멸균 조건 하에서 혼합될 수 있다. 연고, 페이스트, 크림 및 젤은, 본 개시의 당해 화합물(예를 들어, IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질)에 더하여, 부형제, 예컨대 동물 및 식물성 지방,

오일, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸쓰, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글라이콜, 실리콘, 벤토나이트, 규산, 탈크 및 산화아연, 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0177] 본원에 사용하기 위해 고려되는 추가적인 약제학적 조성물은 지속- 또는 조절-전달 제형에 폴리펩타이드를 수반하는 제형을 포함한다. 다양한 구현예에서, 약제학적 조성물은 나노 입자, 서방형 하이드로겔로서 제형화되거나, 중앙용해 바이러스에 통합될 수 있다. 그러한 나노입자 방법은, 예를 들어, 약물 담체로서 소수성 백본 및 친수성 가지(branch)를 갖는 폴리머로 구성되는 나노입자의 캡슐화, 극미립자의 캡슐화, 에멀전에서 리보솜으로의 삽입, 및 다른 분자에 대한 접합을 포함한다. 나노입자의 예는 키토산 및 카르보폴로 코팅되는 점막접착성 나노입자로 코팅되는 점막접착성 나노입자(Takeuchi 등의, Adv. Drug Deliv. Rev. 47(1):39-54, 2001) 및 하전된 조합 폴리에스터, 폴리(2-설포부틸-비닐 알코올) 및 폴리(D,L-락틱-코-글리콜산)를 함유하는 나노입자(Jung 등의, Eur. J. Pharm. Biopharm. 50(1):147-160, 2000)를 포함한다. 알부민-기반 나노입자 조성물은 타산과 같은 소수성 약물을 전달하기 위한 약물 전달 시스템으로서 개발되어왔다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제5,916,596호; 제6,506,405호; 제 6,749,868호; 제6,537,579호; 제7,820,788호; 및 제7,923,536호를 참조한다. 파크리타셀의 알부민 안정화 나노입자 제형인 Abraxane®은 2005년에 미국에서 승인되었고 이후 전이성 유방암을 치료하기 위해 다양한 다른 국가에서 승인되었다.

[0178] 다양한 다른 지속- 또는 조절-전달 수단, 예컨대 리포솜 담체, 생체분괴성 극미립자 또는 다공성 비드 및 데포 주사를 제형화하기 위한 기술이 또한 당업자에게 알려져 있다.

[0179] 치료적으로 이용될 약제학적 조성물의 유효량은, 예를 들어, 치료적 맥락 및 목적에 의존할 것이다. 따라서, 당업자는 치료를 위한 적절한 투여량 수준이 부분적으로, 전달되는 분자, 폴리펩타이드가 사용되고 있는 증상(indication), 투여 경로, 및 환자의 크기(체중, 체표면 또는 장기 크기) 및 조건(나이 및 일반적인 건강)에 의존하여 변할 것이라는 것을 인식할 것이다. 따라서, 임상상의 최적의 치료 효과를 획득하기 위해 투여량을 적정하고 투여 경로를 수정할 수 있다. 전형적인 투여량은 위에 언급된 인자에 따라, 범위가 약 0.0001 mg/kg에서 약 100 mg/kg까지일 수 있다. 폴리펩타이드 조성물은 바람직하게는 피하로 또는 정맥내로 주사되거나 투여될 수 있다. 지속-작용성 약제학적 조성물은 특정 제형의 반감기 및 제거율에 따라 매 3일 내지 4일, 매주, 격주로, 또는 매월 투여될 수 있다. 투약의 빈도는 사용되는 제형에서 폴리펩타이드의 약동학적 파라미터에 의존할 것이다. 전형적으로, 조성물은 원하는 효과를 달성하는 투여량이 도달될 때까지 투여된다. 따라서, 조성물은 경시적으로 단일 용량으로서, 또는 (동일 또는 상이한 농도/투여량에서) 다중 용량으로서, 또는 연속적 주입으로서 투여될 수 있다. 적절한 투여량의 추가적인 개량은 일상적으로 이루어진다. 적절한 투여량은 적절한 용량-반응 데이터의 사용을 통해 확인될 수 있다.

[0180] 약제학적 조성물의 투여 경로는 정맥내, 복강내, 중앙내, 뇌내(실질내), 뇌심실내, 근육내, 안구내, 동맥내, 문내, 병소내 경로, 수질내, 척추강내, 방광내, 심실내, 경피, 피하, 또는 복강내 뿐만 아니라; 비강내, 장관, 국소, 설하, 요도, 질, 또는 직장 수단에 의한, 지속 방출 시스템에 의한 또는 이식 디바이스에 의한 주사를 통한, 예를 들어 경구인, 알려진 방법과 일치한다. 원하는 경우, 조성물은 볼러스 주사에 의해 또는 계속해서 주입에 의해, 또는 이식 디바이스에 의해 투여될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 조성물은 멤브레인, 스펀지, 또는 원하는 분자가 흡수되거나 캡슐화된 다른 적절한 물질의 이식을 통해 국소적으로 투여될 수 있다. 이식 디바이스가 사용되는 경우, 디바이스는 임의의 적합한 조직 또는 장기로 이식될 수 있고, 원하는 분자의 전달은 확산, 적기-방출 볼러스, 또는 연속 투여를 통해서 일 수 있다.

[0181] 치료 용도

[0182] 본 개시는 대상체에서 암 세포를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 대상체에게 약제학적으로 허용가능한 담체로 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질의 치료 유효량을 (단일요법으로서 또는 병용 치료 요법으로) 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 그러한 투여는 암 세포의 성장 및/또는 증식을 억제한다. 구체적으로, 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질은 암으로서 특징화되는 장애를 치료할 시에 유용하다. 그러한 장애는 고형 종양, 예컨대 유방, 기도, 뇌, 생식 기관, 소화관, 요로, 눈, 간, 피부, 두경부, 갑상선, 부갑상선의 암 및 그것의 원격 전이, 림프종, 육종, 다발성 골수종 및 백혈병을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 유방암의 예는 침습성 관상 암종, 침습성 소엽 암종, 관상피내 암종, 및 상피내 소엽 암종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 기도의 암의 예는 소세포 및 비-소세포 폐 암종 뿐만 아니라, 기관지선종 및 흉막폐 모세포종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 뇌암의 예는 뇌간 및 시상하부 신경아교종, 소뇌 및 뇌 별아교세포종, 신경교세포종, 수모세포종, 뇌실막세포종 뿐만 아니라, 신경외배엽 및 송과체 종양을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 남성 생식 기관의 종양은 전립선 및 고환암을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

여성 생식 기관의 종양은 자궁내막, 자궁경부, 난소, 질, 및 외음부 암 뿐만 아니라, 자궁의 육종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 소화관의 종양은 항문, 결장, 결장직장, 식도, 담낭, 위, 간, 유방, 췌장, 직장, 작은-장, 및 타액샘 암을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 요로의 종양은 방광, 음경, 신장, 신우, 요관, 및 요도 암을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 안암은 안구내 흑색종 및 망막모세포종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 간 암의 예는 간세포 암종(섬유층판 변이체를 갖거나 그렇지 않은 간 세포 암종), 담관암종(간내 담관 암종), 및 혼합된 간세포 담관암종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 피부암은 편평 세포 암종, 카포시 육종, 악성 흑색종, 머털 세포 피부암, 및 비-흑색종 피부암을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 헤드-및-목 암은 비인두 암, 및 입술 및 구강 암을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 림프종은 AIDS-관련 림프종, 비-호지킨 림프종, 피부 T-세포 림프종, 호지킨 질환, 및 중추신경계의 림프종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 육종은 연조직, 골육종, 악성 섬유질 조직구종, 림프육종, 및 횡문근육종의 육종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 백혈병은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수형성 백혈병, 및 모발 세포 백혈병을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, 암은 액티빈 A, 마이오스타틴, TGF- β 및 GDF15와 같은 TGF- β 패밀리 일원의 높은 발현을 갖는 암, 예를 들어, 췌장 암, 위 암, 난소암, 결장직장암, 흑색종 백혈병, 폐암, 전립선암, 뇌암, 방광암, 및 두경부 암일 것이다.

[0183] 본 개시는 아쥘반트(adjuvant)로서 기존 암 치료제의 치료 효과를 향상시키는 것을 통해 불응성 또는 저항 액체 또는 고형 종양을 치료하는 방법을 제공한다.

[0184] 본 개시는 또한 대상체에서 간염 A, 간염 B, 간염 C, HIV 감염 AIDS, 인간 파필로마바이러스(HPV) 감염, 생식기 사마귀 등을 포함하는 바이러스성 감염을 치료하는 방법을 제공하며, 약제학적으로 허용가능한 담체로 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 용합 단백질을 필요로 하는 인간 환자에 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 그러한 투여는 바이러스의 성장 및/또는 복제를 억제한다.

[0185] "치료 유효량" 또는 "치료적으로 효과적인 용량"은 치료되고 있는 장애의 증상 중 하나 이상을 어느 정도까지 완화시킬 투여되는 치료제의 그러한 양을 지칭한다.

[0186] 치료적으로 효과적인 용량은 IC₅₀을 결정함으로써 세포 배양물 검정으로부터 초기에 추정될 수 있다. 그 다음, 용량은 세포 배양물에서 결정되는 바와 같은 IC₅₀을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하기 위해 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 그러한 정보는 인간의 유용한 용량을 보다 정확하게 결정하기 위해 사용될 수 있다. 혈장의 수준은 예를 들어, HPLC에 의해 측정될 수 있다. 정확한 조성물, 투여 경로 및 투여량은 대상체의 상태를 고려하여 개별 의사에 의해 선택될 수 있다.

[0187] 투약 요법은 최적의 원하는 반응(예를 들어, 치료적 또는 예방적 반응)을 제공하기 위해 조정될 수 있다. 예를 들어, 단일 볼러스가 투여될 수 있고, 수 개의 분할 용량(다중 또는 반복 또는 유지)이 경시적으로 투여될 수 있고 용량이 치료적 상황의 긴급에 의해 표시되는 바와 같이 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다. 그것은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여량 단위 형태로 비경구 조성물을 조제하는 것이 특히 유리하다. 본원에서 사용되는 바와 같은 투여량 단위 형태는 치료될 포유동물 대상체에 대한 일원화된 투여량으로서 적합화되는 물리적으로 별개의 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 요구된 약제학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생산하기 위해 계산되는 활성 화합물의 미리결정된 양을 포함한다. 본 개시의 투여량 단위 형태의 명세는 항체의 고유 특성 및 달성될 특정 치료적 또는 예방적 효과에 의해 주로 구별될 것이다.

[0188] 따라서, 당업자는, 본원에 제공되는 본 개시에 기초하여, 용량 및 투약 요법이 치료적 분야에 잘-알려진 방법에 따라 조정된다는 것을 인식할 것이다. 즉, 최대 내성있는 용량은 쉽게 확립될 수 있고, 검출가능한 치료적 이점을 대상체에게 제공하는 유효량이 또한 결정될 수 있으며, 검출가능한 치료적 이점을 대상체에게 제공하는 각각의 제제를 투여하기 위한 시간적 요건도 마찬가지이다. 따라서, 특정 용량 및 투여 요법이 본원에 예시되지만, 이들 예는 본 개시를 실시할 시에 대상체에게 제공될 수 있는 용량 및 투여 요법을 결코 제한하지 않는다.

[0189] 투여량 값은 완화된 조건의 유형 및 중증도에 따라 다를 수 있고 단일 또는 다중 용량을 포함할 수 있다는 점이 주목되어야 한다. 임의의 특정 대상체의 경우, 특이적 투약 요법은 개인적인 필요 및 조성물의 투여를 관리 또는 감독하는 사람의 전문 판단에 따라 경시적으로 조정되어야 하고, 본원에 제시되는 투약 범위는 단지 예시적인 것이고 청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하도록 의도되지 않는다는 것이 더 이해되어야 한다. 또한, 본 개시의 조성물을 갖는 투약 요법은 질환의 유형, 대상체의 연령, 체중, 성별, 의료 병태, 상태의 중증도, 투여 경로, 및 이용되는 특정 항체를 포함하는, 다양한 인자에 기초할 수 있다. 따라서, 투약 요법은 상당히 다를 수 있지만, 표준 방법을 사용하여 일상적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 용량은 약동학적 또는 약력학적 파라

미터에 기초하여 조정될 수 있으며, 이는 임상 효과 예컨대 독성 효과 및/또는 실험실 값을 포함할 수 있다. 따라서, 본 개시는 당업자에 의해 결정된 바와 같은 대상체 내(intra-subject) 용량-단계적 확대(dose-escalation)를 망라한다. 적절한 투여량 및 요법을 결정하는 것은 관련된 기술에 잘-알려져 있고 일단 본원에 개시되는 교시가 주어지는 경우 당업자에 의해 망라되는 것으로 이해될 것이다.

[0190] 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질의 치료적 또는 예방적 유효량에 대한 예시적, 비제한적 일일 투약 범위(dosing range)는 0.0001 내지 100 mg/kg, 0.0001 내지 90 mg/kg, 0.0001 내지 80 mg/kg, 0.0001 내지 70 mg/kg, 0.0001 내지 60 mg/kg, 0.0001 내지 50 mg/kg, 0.0001 내지 40 mg/kg, 0.0001 내지 30 mg/kg, 0.0001 내지 20 mg/kg, 0.0001 내지 10 mg/kg, 0.0001 내지 5 mg/kg, 0.0001 내지 4 mg/kg, 0.0001 내지 3 mg/kg, 0.0001 내지 2 mg/kg, 0.0001 내지 1 mg/kg, 0.0010 내지 50 mg/kg, 0.0010 내지 40 mg/kg, 0.0010 내지 30 mg/kg, 0.0010 내지 20 mg/kg, 0.0010 내지 10 mg/kg, 0.0010 내지 5 mg/kg, 0.0010 내지 4 mg/kg, 0.0010 내지 3 mg/kg, 0.0010 내지 2 mg/kg, 0.0010 내지 1 mg/kg, 0.01 내지 50 mg/kg, 0.01 내지 40 mg/kg, 0.01 내지 30 mg/kg, 0.01 내지 20 mg/kg, 0.01 내지 10 mg/kg, 0.01 내지 5 mg/kg, 0.01 내지 4 mg/kg, 0.01 내지 3 mg/kg, 0.01 내지 2 mg/kg, 0.01 내지 1 mg/kg, 0.1 내지 50 mg/kg, 0.1 내지 40 mg/kg, 0.1 내지 30 mg/kg, 0.1 내지 20 mg/kg, 0.1 내지 10 mg/kg, 0.1 내지 5 mg/kg, 0.1 내지 4 mg/kg, 0.1 내지 3 mg/kg, 0.1 내지 2 mg/kg, 또는 0.1 mg/kg, 1 내지 50 mg/kg, 1 내지 40 mg/kg, 1 내지 30 mg/kg, 1 내지 20 mg/kg, 1 내지 10 mg/kg, 1 내지 5 mg/kg, 1 내지 4 mg/kg, 1 내지 3 mg/kg, 1 내지 2 mg/kg, 또는 1 내지 1 mg/kg 체중일 수 있다. 투여량 값은 완화될 조건의 유형 및 중증도에 따라 다를 수 있다는 점이 주목되어야 한다. 임의의 특정 대상체의 경우, 특이적 투약 요법은 개인적인 필요 및 조성물의 투여를 관리 또는 감독하는 사람의 전문 판단에 따라 경시적으로 조정되어야 하고, 본원에 제시되는 투여량 범위는 단지 예시적인 것이고 청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하도록 의도되지 않는다는 것이 더 이해되어야 한다.

[0191] 본 개시의 약제학적 조성물의 독성 및 치료 인덱스는 예를 들어, LD₅₀(모집단의 50%에 치명적인 용량) 및 ED₅₀(모집단의 50%에 치료적으로 효과적인 용량)을 결정하기 위한 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성 및 치료 효과적인 용량 사이의 용량 비는 치료 인덱스이고 그것은 비 LD₅₀/ED₅₀로서 표현될 수 있다. 큰 치료 인덱스를 나타내는 조성물이 일반적으로 선호된다.

[0192] IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질 약제학적 조성물의 투여의 투약 빈도는 요법의 특성 및 치료되는 특정 질환에 의존한다. 대상체는 원하는 치료 결과가 달성될 때까지, 규칙적 간격, 예컨대 매주 또는 매월 치료될 수 있다. 예시적인 투약 빈도는: 중단 없이 1주에 1회 또는 2회; 1주에 1회 또는 2회; 격주로; 2주에 1회; 3주에 1회; 3주에 1회, 2주 동안 중단 없이 약하게, 그 다음 매월, 3주 동안 중단 없이 약하게, 그 다음 매월; 격월로 1회; 3개월마다 1회; 4개월마다 1회; 5개월마다 1회; 또는 6개월마다 1회, 또는 매년을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0193] 병용 요법

[0194] 본원에 사용되는 바와 같이, 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 및 하나 이상의 다른 치료적 제제를 지칭하는 용어들 "공-투여", "공-투여된" 및 "~와 결합하여"는 다음을 의미하고, 지칭하고 포함하도록 의도된다: 그러한 구성요소가 상기 대상체에게 실질적으로 동일한 시간에서 상기 구성요소를 방출하는 단일 투약 형태로 함께 제형화될 때, 치료를 필요로 하는 대상체에 대한 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 및 치료제(들)의 그러한 조합의 동시 투여; 그러한 구성요소가 상기 대상체에 의해 실질적으로 동일한 시간에서 복용되는 별개의 투약 형태로 서로 떨어져서 제형화되어, 그 결과 상기 구성요소가 상기 대상체에게 실질적으로 동일한 시간에서 방출될 때, 치료를 필요로 하는 대상체에 대한 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 및 치료제(들)의 그러한 조합의 실질적 동시 투여; 그러한 구성요소가 각각의 투여 사이에서 상당한 시간 간격으로 상기 대상체에 의해 연속적인 시간에서 복용되는 별개의 투약 형태로 서로 떨어져서 제형화되어, 그 결과 상기 구성요소가 상기 대상체에 실질적으로 상이한 시간에서 방출될 때, 치료를 필요로 하는 대상체에 대한 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 및 치료제(들)의 그러한 조합의 순차적인 투여; 및 그러한 구성요소가 제어된 방식으로 상기 구성요소를 방출하는 단일 투약 형태로 함께 제형화되어 그 결과 그들이 상기 대상체에 동일한 및/또는 상이한 시간에서 동시에, 연속적으로, 및/또는 중첩적으로 방출될 때, 치료를 필요로 하는 대상체에 대한 본 개시의 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 및 치료제(들)의 그러한 조합의 순차적인 투여, 여기서 각각의 부분은 동일 또는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다.

[0195] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 암 또는 암 전이를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 면역요법, 세포독성 화학요법, 소분자 키나제 억제제 표적 요법, 수술, 방사선 요법, 및 줄기 세포 이식을 포함하지만, 이에 제

한되지 않는 제2 요법과 조합으로 본 발명의 약제학적 조성물의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 그러한 방법은 예방적 암 예방, 수술 후 암 재발 및 전이의 예방에서, 그리고 다른 종래의 암 요법의 아류반트로서 사용될 수 있다. 본 개시는 종래의 암 요법(예를 들어, 화학요법, 방사선 요법, 광선요법, 면역요법, 및 수술)의 유효성이 본원에 설명되는 조합 방법의 사용을 통해 향상될 수 있다는 것을 인식한다.

[0196] 다수의 종래의 화합물이 항-신생물성 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 이들 화합물은 고형 종양을 수축시키거나, 전이 및 추가 성장을 방지하거나, 백혈병성 또는 골수 악성종양에서 악성 T-세포의 수를 감소시키기 위해 화학요법에서 약제학적 제제로서 사용되어 왔다. 화학요법이 다양한 유형의 악성종양을 치료할 시에 효과적이었지만, 많은 항-신생물성 화합물은 바람직하지 않은 부작용을 유도한다. 2개 이상의 상이한 치료가 조합될 때, 치료는 상승작용으로 작용하고 각각의 치료의 투여량의 감소를 허용할 수 있어서, 이것에 의해 더 높은 투여량에서 각각의 화합물에 의해 가해지는 해로운 부작용을 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 다른 사례에서, 치료에 불응성인 악성종양은 2개 이상의 상이한 치료의 병용 요법에 반응할 수 있다.

[0197] 다양한 구현예에서, 제2 항암제, 예컨대 화학치료제가 환자에게 투여될 것이다. 예시적인 화학치료제의 목록은, 비제한적으로, 다우노루비신, 닥티노마이신, 독소루비신, 블레오마이신, 미토마이신, 질소 머스타드, 클로르암부실, 멜팔란, 사이클로포스파마이드, 6-머캅토피린, 6-티오구아닌, 벤다무스틴, 사이타라빈(CA), 5-플루오로우라실(5-FU), 플록수리딘(5-FUdR), 메토틱렉세이트(MTX), 콜히친, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드, 테니포시드, 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴, 펜토스타틴, 클라드리빈, 사이타라빈, 젬시타빈, 프탈라트렉세이트, 미톡산트론, 디에틸stil베스트롤(DES), 플루라다빈(fluradabine), 이포스파마이드, 하이드록시우레아탁산(예컨대 파클리탁셀 및 독세탁셀) 및/또는 안트라사이클린 항생제 뿐만 아니라, 비제한적으로, DA-EPOCH, CHOP, CVP 또는 FOLFOX와 같은 제제의 조합을 포함한다. 다양한 구현예에서, 그러한 화학치료제의 투여량은, 비제한적으로, 약 10 mg/m^2 , 20 mg/m^2 , 30 mg/m^2 , 40 mg/m^2 , 50 mg/m^2 , 60 mg/m^2 , 75 mg/m^2 , 80 mg/m^2 , 90 mg/m^2 , 100 mg/m^2 , 120 mg/m^2 , 150 mg/m^2 , 175 mg/m^2 , 200 mg/m^2 , 210 mg/m^2 , 220 mg/m^2 , 230 mg/m^2 , 240 mg/m^2 , 250 mg/m^2 , 260 mg/m^2 , 및 300 mg/m^2 중 임의의 것을 포함한다.

[0198] 다양한 구현예에서, 본 개시의 병용 요법은, 비제한적으로, 특이적 종양 항원에 대한 고갈 항체를 이용하는 치료; 항체-약물 콘주게이트를 사용하는 치료; 공-자극 또는 공-억제 분자(면역 관문) 예컨대 CD276, CD272, CTLA-4, PD-1, PD-L1, CD40, SIRP α , CD47, OX-40, CD137, GITR, LAG3, ICOS, CD27, 4-1BB, TIM-3, B7-H4, Siglec 7, Siglec 8, Siglec 9, Siglec 15 및 VISTA에 대한 작용적, 길항적, 또는 차단적 항체를 사용하는 치료; 이중특이적 T 세포 결합 항체(BiTE®) 예컨대 블리나투모맵을 사용하는 치료; 생물학적 반응 조절제 예컨대 IL-2, IL-7, IL-12, IL-21, GM-CSF, IFN- α , IFN- β 및 IFN- γ 의 투여를 수반하는 치료; 치료적 백신 예컨대 시푸류셀-T를 사용하는 치료; 수지상 세포 백신, 또는 종양 항원 펩타이드 백신을 사용하는 치료; NK 세포를 사용하는 치료; TCR-T 세포를 사용하는 치료; 키메라 항원 수용체 (CAR)-T 세포를 사용하는 치료; CAR-NK 세포를 사용하는 치료; iPS 유도-NK 세포, iPS 유도 TCR-T 세포, iPS 유도 CAR-T 세포 또는 iPS 유도 CAR-NK 세포를 사용하는 치료; 수지상 돌기 세포를 사용하는 치료; 종양 침윤 림프구(tumor infiltrating lymphocyte; TIL)를 사용하는 치료; 입양 전달된 항종양 T 세포(생체의 확장된 및/또는 TCR 형질전환)를 사용하는 치료; 백신 예컨대 바실리 칼메트-구에린(BCG)을 사용하는 치료; TALL-104 세포를 사용하는 치료; 면역자극 제제 예컨대 톨-유사 수용체(Toll-like receptor; TLR) 작용제 CpG를 사용하는 치료, 및 이미퀴모드를 포함하는 면역요법의 치료 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있으며; 여기서 병용 요법은 종양 세포의 증가된 효과기 세포 사멸을 제공하며, 즉, 동반상승효과는 공-투여될 때 IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질과 면역요법 사이에 존재한다.

[0199] 다양한 구현예에서, 병용 요법은 동일한 약제학적 조성물 또는 별도의 약제학적 조성물로, IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 또는 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질 및 제2 제제 조성물을 동시에 투여하는 단계를 포함한다. 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 조성물 및 제2 제제 조성물은 순차적으로 투여되며, 즉, IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 조성물은 제2 제제 조성물의 투여 전후에 투여된다. 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 조성물 및 제2 제제 조성물의 투여는 동반하며, 즉, IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 조성물 및 제2 제제 조성물의 투여 기간은 서로 중첩한다. 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 조성물 및 제2 제제 조성물의 투여는 비-동반이다. 예를 들어, 다양한 구현예에서, IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 조성물의 투여는 제2 제제 조성물이 투여되기 전에 종결된다. 다양한 구현예에서, 제2 제제 조성물의 투여는 IL-15/IL-15R α Sushi 융합 단백질 조성물이 투여되기 전에 종결된다.

도면의 간단한 설명

[0200]

도 1은 본 발명의 IL-15/IL-15R α -Fc 융합 단백질에 대한 수 개의 형식(format)을 도시한다. (A) IL-15/IL-15R α 이중이량체 Fc 융합 형식. (B) 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식. (C) 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식; (D) 1가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질 형식. (E) 2가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질 형식. 각각의 융합 단백질 형식에 대해, IL-15/IL-15R α 복합체는 Fc 도메인의 C-말단 또는 N-말단에 있을 수 있고; IL-15R α 는 IL-15R α Sushi 도메인 또는 IL-15R α ECD 일 수 있다.

도 2는 SDS-PAGE 및 SEC-HPLC 각각에 의해 결정되는 바와 같은, P-0217, P-0234, 및 P-0313인, 예시적인 IL-15/IL-15R α (비-공유)-Fc 융합 단백질의 A) 순도 및 B) 단량체 백분율을 도시한다. 3개의 융합 단백질 모두는 C-말단에서 IL-15/IL-15R α 복합체를 포함한다. P-0217은 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합이고, P-0234는 P-0217의 이량체 카운터파트이고, P-0313은 P-0234와 동일한 융합 구성을 공유하지만 IL-15 도메인에서 S58D 치환과만 다르다.

도 3은 상이한 구성의 수 개의 IL-15/IL-15R α -Fc 융합 단백질의 SEC 크로마토그램을 도시한다. 이들 예시적인 융합 단백질은 모두 달리 언급되지 않는 한 C-말단에서 IL-15/IL-15R α 복합체를 포함한다. P-0162는 단량체 IL-15 단독 Fc 융합 단백질이다. P-0197은 그것의 개략도가 도 1b에 도시된 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합이다. P-0153은 이중이량체 Fc 융합 형식을 갖는 단량체 IL-15/IL-15R α 융합이다(도 1a). P-0167은 및 P-0198은 P-0162 및 P-0197 각각의 이량체 카운터파트이다. P-0234, 및 P-0220, 및 P-0223은 모두 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다(도 1c). P-0220은 IL-15R α ECD를 함유하고, P-0234는 IL-15R α Sushi+ 도메인을 함유하고; P-0223은 그것의 IL-15/IL-15R α 복합체가 Fc의 N-말단에 부착되는 P-0234와 다르다.

도 4는 ELISA 검정에서 IL-15R β 에 대한 결합 활성 상의 상이한 IL-15/IL-15R α Fc 융합 형식의 효과를 도시한다. IL-15R α 는 IL-15 Fc 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성을 증가시키는 것으로 입증된다. P-0157은 N-말단 2가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질이고; P-0153은 C-말단 IL-15/IL-15R α Sushi 이중이량체 Fc 융합 단백질이고; P-0162는 IL-15R α Sushi가 복합체화되지 않은 C-말단 1가 IL-15 Fc 융합 단백질이다.

도 5는 IL-15 Fc 융합 단백질의 생물학적 활성에 대한 IL-15R α 의 효과를 도시한다. IL-15R α 는 IL-15 Fc 융합 단백질의 생물학적 활성을 향상시키는 것으로 입증된다. CD69 양성 NK(도 5a) 및 CD8 T(도 5b) 세포의 유도는 생체외(ex vivo) 인간 PBMC FACS 기초 검정에서 측정되었다. P-0197은 C-말단 1가 IL-15/IL-15R α Sushi (비-공유) Fc 융합 단백질이고; P-0162는 IL-15R α Sushi가 복합체화되지 않는 P-0197과 동일한 구조를 갖는 융합 단백질이다.

도 6은 IL-15 Fc 융합 단백질의 생물학적 활성에 대한 IL-15/IL-15R α 착물화(complexation)의 상이한 구성의 효과를 도시한다. CD69 양성 NK(도 6a) 및 CD8+ T(도 6b) 세포의 유도는 생체외 인간 PBMC FACS 기초 검정에서 측정되었다. P-0165는 C-말단 1가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질이고; P-0197은 C-말단 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이고; P-0153은 C-말단 IL-15/IL-15R α 이중이량체 Fc 융합 단백질이다.

도 7은 상이한 형식에서 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 생물학적 활성에 대한 링커의 효과를 도시한다. CD69 양성 NK(도 7a) 및 CD8 T(도 7b) 세포의 유도는 생체외 인간 PBMC FACS 기초 검정에서 측정되었다. P-0165 및 P-0166은 15-아미노산 강성(rigid) 링커 및 10-아미노산 연성(flexible) 링커 각각을 갖는 1가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합이다. P-0197, P-0207, 및 P-0217은 각각 15 아미노산 강성 링커, 10 아미노산 연성 링커 및 15 아미노산 연성 링커를 갖는 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다.

도 8은 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 활성에 대한 N- 또는 C-말단 융합의 효과를 도시한다. 퍼센트 Ki67 양성 CD8 T 세포는 치료 후 생체외 인간 PBMC FACS 기초 검정에서 측정되었다. (A) P-0218 및 벤치마크는 각각 C-말단 및 N-말단 2가 IL-15(비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질이다. (B) P-0234 및 P-0223은 각각 C-말단 및 N-말단 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다.

도 9는 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 생물학적 활성에 대한 IL-15R α 전체 ECD 또는 Sushi 도메인의 효과를 도시한다. CD69 양성 NK 세포의 유도는 생체외 인간 PBMC FACS 기초 검정에서 측정되었다. (A) P-0234 및 P-0220은 각각 IL-15R α Sushi 및 전체 ECD를 갖는 C-말단 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다. (B) P-0223 및 P-0224는 각각 IL-15R α Sushi 및 전체 ECD를 갖는 N-말단 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다. (C) P-0221 및 P-0222는 각각 IL-15R α Sushi 및 전체 ECD를 갖는 N-말단 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다.

도 10은 IL-15 폴리펩타이드의 S58D 치환이 CD8+ T 세포 (A), CD4+ T 세포 (B), 및 NK 세포 (C)에 대해 STAT5 인산화율 유도하기 위해 IL-15 융합 단백질의 능력을 향상시켰다는 것을 도시한다. P-0218 및 P-0314는 각각 IL-15 야생형 및 S58D 변이체를 포함하는 2가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질이다. P-0234 및 P-0313은 각각 IL-15 야생형 및 S58D 변이체를 포함하는 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다.

도 11은 IL-15 (S58D) 변이체-함유 융합 단백질이 CD8+ T 세포 (A), CD4+ T 세포 (B) 및 NK 세포 (C)에 대해 Ki67 발현을 유도하기 위해 향상된 능력을 나타냈다는 것을 도시한다. P-0218 및 P-0314는 각각 IL-15 야생형 및 S58D 변이체를 포함하는 2가 IL-15(비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질이다. P-0234 및 P-0313은 각각 IL-15 야생형 및 S58D 변이체를 포함하는 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다.

도 12는 4일간의 반복된 투약 연구에서 rhIL-15, 벤치마크 및 P-0234로 치료된 마우스에서 IL-15의 혈청 농도를 도시한다. 암컷 B Balb/C 마우스는 비히클, rhIL-15(0.03 mg/kg), 벤치마크(0.1 및 0.5mg/kg), 또는 P-0234(0.1 및 0.5 mg/kg)로 매일 복강내 주사되었다. 말단 혈액은 4일째 되는 마지막 주사 후 1시간에 수집되었고 혈청 IL-15 수준은 ELISA 검정을 사용하여 측정되었다.

도 13은 4일간의 반복된 투약 연구 동안 rhIL-15, 벤치마크 및 P-0234으로 치료된 Balb/C 마우스에서 (A) 체중 및 (B) 0 일부터 체중의 % 변화를 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현된다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석(one-way anova)에 의해 수행되었다. 0 일째 대비 *** $p<0.001$ 이며; PBS 그룹 대비 # $p<0.05$ 이다.

도 14는 4일간의 반복된 투약 연구에서 Balb/C 마우스의 말초 혈액 내의 NK 세포 증식 및 확장에 대한 IL-15 화합물의 효과를 도시한다. 4일간의 투여 후, 혈액은 FACS에 의해 Ki67 측정 및 NK 세포 표현형을 위해 수집되었다. (A) 증식 마커 Ki67 양성 NK 세포의 백분율; (B) CD3 음성 림프구 모집단 내의 NK 세포의 백분율. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. 비히클 그룹 대비 **** $p<0.0001$ 이며, 벤치마크의 등가 용량 대비 # $p<0.001$ & ## $p<0.01$ 이다.

도 15는 4일간의 반복된 투약 연구에서 Balb/C 마우스의 비장 NK 세포의 증식, 확장 및 활성화에 대한 IL-15 화합물의 효과를 도시한다. (A) 증식 마커 Ki67 양성 비장 NK 세포의 백분율; (B) 비장 내의 총 NK 세포; (C) CD69 양성 비장 NK 세포의 백분율. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. 비히클 그룹 대비 **** $p<0.0001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$ 이다.

도 16은 Balb/C 마우스에서 단일 복강내 주사 후 P-0313 및 벤치마크의 혈청 농도를 도시한다. 혈액은 -24시간 (투여전) 및 투여 후 1, 4, 24, 72, 144 및 192 시간에서 0.3 mg/kg P-0313 또는 벤치마크로 치료된 마우스로부터 수집되었다. (A) 인간 Fc-IL-15 복합체를 검출하는 인-하우스 ELISA 검정; (B) 인간 IL-15를 검출하는 상업적 ELISA 검정.

도 17은 8일의 기간에서 P-0313 및 벤치마크의 단일 주사 후 Balb/C 마우스의 체중을 도시한다.

도 18은 Balb/C 마우스에서 단일 주사 후 NK 세포 (A) 및 CD8+ T 세포 (B) 상의 Ki67 발현에 대한 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 용량- 및 시간-의존적 효과를 도시한다. 혈액은 FACS 분석에 의한 림프구 표현형 및 Ki67 측정을 위해 -24시간(투여전), 및 1, 4, 24, 72, 144 및 192 시간에서 수집되었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 이원분산분석(two-way anova)에 의해 수행되었다. 각각의 시점에서 PBS 그룹 대비 **** $p<0.0001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$ 이다.

도 19는 Balb/C 마우스에서 단일 주사 후 말초 혈액에서 NK 세포 (A) 및 CD8+ T 세포 (B)의 확장에 대한 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 용량- 및 시간-의존적 효과를 도시한다. 혈액은 FACS 분석에 의한 림프구 표현형을 위해 -24시간(투여전), 및 1, 4, 24, 72, 144 및 192 시간에서 수집되었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 이원분산분석에 의해 수행되었다. 각각의 시점에서 PBS 그룹 대비 **** $p<0.0001$, *** $p<0.001$, * $p<0.05$ 이다.

도 20은 마우스 CT26 폐 전이 모델에서 P-0313 및 벤치마크에 의한 폐 전이의 억제 효과를 도시한다. 비히클, 벤치마크(0.3mg/kg) 또는 P-0313(0.03 및 0.1 mg/kg)은 CT26 세포의 주사 후 1일에 개시된 3 $\times$ Q5D 용량으로 주어졌다. 마우스는 폐 전이성 결절의 현미경적 계수를 위해 16일째 되는 날 희생되었다. (A) 각각의 치료 그룹으로부터의 전이성 결절을 예시하는 광학 현미경 하에 획득되는 대표적인 폐 사진. (B) 모든 동물의 폐 결절 카운트. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 **** $p<0.0001$, * $p<0.05$ 이다.

도 21은 P-0313 또는 벤치마크로 치료 후 CT26 폐 전이 모델에서의 면역-약력학적 프로파일링을 도시한다. CT26 전이 마우스에서 μ l 전혈 당 순환하는 A) NK 세포, 및 B) CD8+ T 세포의 수의 증가는 P-0313, 벤치마크, 또는 PBS의 3회의 Q5D 복강내 주사 후 3일에 유세포 분석에 의해 결정되었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 **** p<0.0001, *** p<0.001, ** p<0.01이다.

도 22는 CT26 폐 전이 모델에서 P-0313 또는 벤치마크로 치료된 마우스의 비장 중량을 도시한다. 비장은 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 3회의 Q5D 복강내 주사 후 3일에 수집되었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 **** p<0.0001이다.

도 23은 P-0313 또는 벤치마크로 치료된 CT26 폐 전이 마우스의 간독성 평가를 도시한다. 간은 3회의 Q5D 치료 후 3일에 수집되었다. A) 간 중량; B) 혈청 ALT 수준; 및 C) 혈청 AST 수준. 혈청 내의 ALT 및 AST 수준은 상업적 ELISA 키트를 사용하여 결정되었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다.

도 24는 피하로 확립된 CT26 췌장 결장직장 종양 모델에서 P-0313의 항종양 효능을 도시한다. 1×10^5 CT26 세포는 0 일째 되는 날 피하로 주사되었다. 비히클(PBS) 또는 P-0313(0.1 또는 0.05 mg/kg)은 평균 종양 부피가 약 70 mm^3 (11일)일 때 개시되는 2회 주사를 위해 Q5D를 제공하고 있었다. (A) CT26 피하(s. c.) 종양의 성장 곡선. (B) 기준선으로부터의 체중 변화. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 ** p<0.0001이다.

도 25는 (A) 비히클 PBS, (B) 0.05 mg/kg P-0313, 또는 (C) 0.01 mg/kg P-0313을 받은 개별 마우스의 피하 CT26 종양 성장 곡선을 도시한다. n = 10/그룹이다.

도 26은 CT26 췌장 결장직장 암종 종양 모델에서 P-0313으로 치료된 마우스의 NK 및 CD8 T 세포 증식 및 확장을 도시한다. 종양 이식 후 11일에 개시되는 2회의 Q5D 치료 후, NK 세포 및 CD8+ T 세포에 대한 Ki67 발현 (A-B) 및 (μ l 전혈 당) 순환 세포 수 (C-D)의 증가는 유세포 분석에 의해 19일째 되는 날 결정되었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었으며; 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 **** p<0.0001, * p<0.05이다.

도 27은 P-0313으로 치료된 CT26 결장직장 종양을 가진 마우스에서 비장 NK 및 CD8 T 세포의 면역-표현형을 도시한다. 종양 이식 후 11일에 개시되는 2회의 Q5D 치료 후, 21일째 되는 날 비장 NK 세포 (A) 및 CD8+ T 세포 (B)의 수의 증가는 유세포 분석에 의해 결정되었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었으며; 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 **** p<0.0001이다.

도 28은 비-확립된 CT26 결장직장 종양 모델에서 P-0313의 항종양 효능을 도시한다. 1×10^5 CT26 세포의 피하 이식 3일 후, 마우스는 비히클(PBS) 또는 P-0313(0.1 mg/kg) 5회의 Q5D가 주어졌다. (A) 0일째 되는 날 종양 세포 이식 후 CT26 피하 종양의 성장 곡선. (B) 25일째 되는 날 종양 중량. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 *** p<0.001, * p<0.05이다.

도 29는 P-0313으로 치료된 CT26 종양을 가진 마우스의 비장 중량 및 체중 퍼센트 변화를 도시한다. 마우스는 CT26 종양 세포 이식 3일 후 비히클(PBS) 또는 P-0313(0.1 mg/kg) 5회의 Q5D 주사가 주어졌다. (A) 25일째 되는 날 비장 중량. (B) 25일 동안 체중 퍼센트 변화. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표현되었다. 통계적인 분석은 Tukey의 사후 검증 전에 일원분산분석에 의해 수행되었다. PBS 그룹 대비 ** p<0.01이다.

도 30은 A) 2가 형식의 동종이량체 중쇄, B) 1가 형식의 이종이량체 중쇄, 및 C) 경쇄의 C-말단에 융합되는 IL-15/IL-15R α 복합체를 갖는 예시적 IL-15/IL-15R α (비-공유) 항체 융합 단백질을 도시한다.

도 31은 CD8+ T 세포 상에서 Ki67 발현을 유도할 시에 사이토카인의 활성화에 대한 A) S58, B) V63, C) I68, 또는 D) Q108 위치에서의 다양한 IL-15 단일 아미노산 치환의 영향을 도시한다. 모든 예시적 IL-15 변이체 융합 단백질은, 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식을 갖는, P-0764 및 P-0793(도 31d)을 제외하고 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식을 갖는다. 잘-특정화된 2가 IL-15 S58D/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질인 P-0313은 대조군으로서 포함되었다.

도 32는 신선한 인간 PBMC에서 IL-15 변이체 융합 단백질로 처리 후 CD8+ T 세포 상의 Ki67 발현의 용량-의존적

유도를 도시한다. P-0866, P-0867, 및 P-0868은 모두 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식이고 각각 IL-15의 N-말단에서 1, 2, 및 3 아미노산 결실을 포함한다. P-0234는 야생형 IL-15를 포함하는 동일한 형식이다.

도 33은 신선한 인간 PBMC에서 CD8 $^{+}$ T 세포 상의 Ki67 발현의 용량-의존적 유도를 분석함으로써 조합 돌연변이를 포함하는 다양한 IL-15 융합 단백질의 활성 평가를 도시한다. A) P-0773, P-0772, 및 P-0768은 그들의 각각의 단일 아미노산 변화-포함 등가물인 P-0358(I68H), P-0736(I68Q), 및 P-0737(I68G)에 대한 하나의 추가적인 V63A 치환을 포함한다. P-0771은 단일 V63A 돌연변이를 함유한다. 모든 예시적 IL-15 변이체 융합 단백질은 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식이다. B) P-0886 및 P-0888은 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) 항체 융합 단백질이다. P-0886은 IL-15 N-말단에서 2-아미노산 결실을 포함하는 반면 P-0888은 하나의 추가적인 V63A 단일 아미노산 치환을 함유한다. P-0313 및 P-0234는 매우 강력한 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이고 대조군으로서 포함되었다.

도 34는 신선한 인간 PBMC에서 다양한 IL-15 변이체 융합 단백질로 치료 후 A) CD8 $^{+}$ T 세포 및 B) NK 세포 상의 Ki67 발현의 용량-의존적 유도를 도시한다. 매우 강력한 대조군인 P-0313과 비교하여, 모든 시험 화합물은 다양한 수준의 활성 약독화를 입증하였다.

도 35는 신선한 인간 PBMC에서 IL-15 변이체 융합 단백질로 처리 후 CD8 $^{+}$ T 세포 상의 Ki67 발현의 용량-의존적 유도를 도시한다. A) P-773은 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식인 반면 P-0870은 IL-15 효능을 약독화시키는, V63A/I68H인, 이상적인 아미노산 치환을 포함하는 P-0773의 항체 융합 카운터파트이다. B) P-867은 IL-15의 N-말단에서 2-아미노산 결실을 포함하는 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식인 반면, P-0886은 P-0867의 항체 융합 카운터파트이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0201] 다음 실시예는 본 개시를 보다 완전히 예시하기 위해 제공되지만 그 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않는다.
- [0202] 실시예 1
- [0203] IL-15/IL-15R α Sushi-Fc 융합 단백질의 구조, 발현, 및 정제
- [0204] 모든 유전자는 포유동물 세포에서 발현에 최적화된 코돈이었으며, 이는 수령체 포유동물 발현 벡터(GenScript)로 합성 및 서브클로닝되었다. 단백질 발현은 CMV 프로모터에 의해 유도되고 합성 SV40 폴리A(polyA) 신호 서열은 CDS의 3' 단부에 존재한다. 선도 서열은 분비를 위한 적절한 신호전달 및 처리를 보장하기 위해 작제물의 N-말단에서 조작되었다.
- [0205] 융합 단백질은 폴리에틸렌이민을 사용하여 포유동물 발현 벡터와 현탁액에서 성장하는 HEK293-F 세포를 공-형질 감염시킴으로써 생산되었다(PEI, 25,000 MW linear, Polysciences). 2개 이상의 발현 벡터가 있는 경우, 벡터는 1:1 비로 형질감염될 것이다. 형질감염을 위해, HEK293 세포는 무혈청 FreeStyleTM 293 발현 배지(ThermoFisher)에서 배양되었다. 1000 ml 진탕 플라스크(최대 작업 용적 330 mL)에서의 생산을 위해, 0.8×10^6 세포/ml의 밀도에서의 HEK293 세포는 형질감염 전에 24시간 씨딩되었다. 330 μ g DNA의 총량에 대한 발현 벡터는 16.7 ml Opti-mem 배지(ThermoFisher)와 혼합되었다. 16.7 ml Opti-mem 배지에 희석된 0.33 mg PEI의 첨가 후, 혼합물은 15초 동안 와동되었고 후속으로 10분 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 그 다음, DNA/PEI 용액이 세포에 첨가되었고 8%의 CO₂ 분위기를 갖는 인큐베이터의 37°C에서 인큐베이션되었다. 2 mg/L의 최종 농도의 나트륨 부티레이트(Millipore Sigma)는 단백질 발현을 유지시키는 것을 돕기 위해 4일째에 세포 배양물에 첨가되었다. 6일의 배양 후, 상청액은 2200 rpm에서 20분 동안 원심분리에 의해 정제를 위해 수집되었다. 용액은 멸균 여과되었다(0.22 μ m 필터, Corning).
- [0206] 대안적으로, 작제물은 제조자의 지시에 따라 ExpiCHO 세포(ThermoFisher)에서 생산되었다.
- [0207] 분비된 단백질은 단백질 A 친화성 크로마토그래피를 사용하여 세포 배양물 상청액으로부터 정제되었다. 세포 배양물 상청액은 포스페이트 완충 식염수, pH 7.2(ThermoFisher)의 5 칼럼 부피(column volume; CV)로 평형화된 HiTrap MabSelect SuRe 5 ml 칼럼(GE Healthcare) 상으로 장입되었다. 미결합된 단백질은 pH 7.2의 5 CV로 세척함으로써 제거되었고, 표적 단백질은 25 mM 나트륨 시트레이트, 25 mM 염화나트륨, pH 3.2로 용출되었다. 단백질 용액은 3%의 1 M Tris pH 10.2를 첨가함으로써 중화되었다. 표적 단백질은 Amicon® Ultra-15 Ultracel 10K(Merck Millipore)를 사용하여 PBS, pH 7.2로 농축 및 완충 교환되었다.

- [0208] 정제된 분자의 순도 및 분자량은 환원제 및 쿠마씨(ImperialTM 단백질 염색, ThermoFisher)로의 염색의 존재 및 부재에서 SDS-PAGE에 의해 분석되었다. NuPAGE® Pre-Cast 겔 시스템(4-12% Bis-Tris, ThermoFisher)은 제조자의 지침에 따라 사용되었다. 분자의 응집 함량은 Agilent 1200 고-성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 시스템 상에서 분석되었다. 샘플은 25℃에서 이동상으로서 150 mM 인산나트륨, pH 7.0을 사용하여 AdvanceBio 크기-배제 칼럼(300Å, 4.6 x 150 mm, 2.7 μm, LC 칼럼, Agilent) 상으로 주사되었다.
- [0209] 정제된 단백질 샘플의 단백질 농도는 아미노산 서열에 기초하여 계산되는 몰 소광 계수에 의해 분할되는 나노드롭(Nanodrop) 분광측정기(ThermoFisher)를 사용하여 280 nm에서 흡광도를 측정함으로써 결정되었다. 정제된 단백질 샘플의 내독소 수준은 제조자의 지침에 따라 Endosafe nexgen-PTS(Charles River)를 사용하여 측정되었다.
- [0210] 단리된 IL-15/IL-15Rα Fc 융합 단백질의 단백질 프로파일을 입증하는 예로서, P-0217, P-0234, 및 P-0313의 SDS-PAGE 분석이 도 2a에 도시된다. P-0217, P-0234, 및 P-0313은 모두 C-말단에서 IL-15/IL-15Rα 복합체를 포함하는 IL-15/IL-15Rα (비-공유)-Fc 융합 단백질이다. P-0217은 1가 IL-15/IL-15Rα (비-공유) Fc 융합이고, P-0234는 P-0217의 이량체 카운터파트이고, P-0313은 P-0234와 동일한 융합 구성을 공유하지만 IL-15 도메인에서 S58D 치환과만 다르다.
- [0211] 8.6 kDa의 계산된 분자량을 갖는 IL-15Rα sushi+ 도메인은 1가 및 2가 Fc 융합 둘 다를 위해 Fc 도메인에 융합되는 IL-15 또는 IL-15 변이체와 비-공유적으로 연관되었고, 그것은 변성 조건 하에서 해리되었고 첨예한(sharp) 밴드로서 예상된 위치로 이동되었다(도 2a). 겔 상의 IL-15Rα-sushi+ 밴드의 존재는 세포 배양물 성장 동안 IL-15와 IL-15Rα 사이의 비-공유 결합을 확인하였고; 그러한 연관은 저-pH 용출 조건 하에서 단백질 A 정제 동안 유지되었다.
- [0212] 도 2b의 크기 배제 크로마토그램은 1-2% 응집만이 추가적인 연마 없이 초기 단백질 A 포획 단계 후에 모든 3개의 융합 단백질에 대해 존재하였음에 따라 2개의 융합 형식에 대해 낮은 응집 성향을 나타냈다. 첨예한 주요 피크는 천연 완충 조건 하에서 IL-15 및 IL-15Rα의 비-공유 연관에도 불구하고 긴밀함을 더 시사한다.
- [0213] 또한, 융합 단백질의 발현 수준은 동일한 벡터 및 배양 조건 하에서 Fc-전용 단백질의 그것과 (2 배수 차이 내에서) 비교가능할 수 있었다. 높은 수율 및 낮은 응집 성향은 IL-15/IL-15Rα (비-공유) Fc 융합 단백질의 두 1가 및 2가의 양호한 현상성 프로파일을 입증하였다. 추가적으로, P-0313에 의해 예시화되는, IL-15에서의 아미노산 치환은 융합 단백질의 발현 프로파일에 영향을 미치지 않았으며; P-0313은 그것의 야생형 등가물 P-0234와 거의 동일한 순도 및 응집 성향을 나타냈다(도 2).
- [0214] 실시예 2
- [0215] 상이한 융합 단백질 형식의 순도-집중 현상성 평가는 융합 단백질 현상성 프로파일을 향상시킬 시에 적절하게 복합체화된 IL-15Rα 도메인의 역할을 강조하였다.
- [0216] 단백질 A 정제된 샘플의 SEC 분석은 단백질 응집 성향 및 순도에 대한 상이한 융합 형식의 영향을 평가하기 위해 사용되었다. 단백질 발현 수준은 세포 성장 변동으로 인해 상이한 배치(batch) 사이에서 다를 수 있지만, 단백질 응집 성향 및 순도는, P-0234에 대해 도 3f 및 도 3h에 의해 예시된 바와 같이, 로트(lot)마다 거의 변동이 없는 특정 단백질과 연관되는 내재적 특성인 것으로 보였다는 것이 발명자들의 관찰이었다.
- [0217] 첫째, IL-15-Fc 융합 단백질의 단백질 순도에 대한 IL-15Rα의 착물화(complexation)의 영향은 5 분자에 기초하여 평가되었다. P-0162는 홀-Fc-링커1-IL-15 사슬(서열번호: 13) 및 빈(empty) 홑-Fc 사슬(서열번호: 7)을 함유하는 C-말단 단량체 IL-15 단독 Fc 융합 단백질이다. P-0197은 그것의 개략도가 도 1b에 도시된 C-말단 1가 IL-15/IL-15Rα (비-공유) Fc 융합이다. P-0197은 IL-15와 비-공유적으로 복합체화된 자유 IL-15Rα Sushi+ 도메인의 존재에 의해 P-0162와 다르다. P-0153은 그것의 카툰(cartoon) 다이어그램이 도 1a에 도시된 이중이량체 Fc 융합 형식을 갖는 N-말단 단량체 IL-15/IL-15Rα 융합이다. P-0167(서열번호: 13 및 55) 및 P-0198은 각각 P-0162 및 P-0197의 이량체 카운터파트이다. 5 분자의 크기 배제 다이어그램이 도 3a 내지 도 3e에 예시된다.
- [0218] 도 3a에서 알 수 있는 바와 같이, IL-15Rα가 없는 IL-15-Fc 단량체 융합은 84.5%의 단량체 함량을 갖고 다수의 불순물은 더 낮은 분자량을 갖는다. 대조적으로, P-0197은 98.6% 단량체 함량을 함유하고(도 3b), 순도에서의 그러한 상당한 개선은 자유 IL-15Rα Sushi+ 도메인으로부터 명백하게 기여되었다. IL-15-Fc 융합 단백질의 단백질 품질에 대한 자유 IL-15Rα Sushi+ 도메인의 효과는 이량체 형식에 대해 더 강조되었으며, 이는 각각 도 3d 및 도 3e에서 P-0167 및 P-0198 SEC 크로마토그램으로 도시된다. P-0167은 주요 피크의 양면 상에 솔더를 갖는 넓고 불규칙한 피크를 포함한다. 보다 현저히, P-0167은 신선한 인간 PBMC의 NK 및 T 세포를 활성화시킬 시에

상당히 손상된 생체의 활성을 나타냈으며, 이는 단백질의 부정확한 폴딩으로 인한 가능성이 있었다. 그러나, 비-공유결합된 IL-15R α Sushi+ 도메인을 이량체 형태로 함유하는 P-0198은 90.5% 단량체 함량을 갖는 침예한 주요 피크를 입증하였다(도 3e). 어느 정도 흥미로운 점은, IL-15R α Sushi+ 도메인이 자유롭지 않지만, P-0153의 경우와 같이 매칭 이중이량체 Fc에 공유적으로 융합될 때, IL-15-Fc와의 그것의 착물화는 단백질 순도에서 임의의 개선을 산출하지 않았으며; 오히려, 단백질 샘플은 >25% 이량체 및 더 높은 분자량 가요성 응집체를 함유한다(도 3c). Fc 도메인에 대한 IL-15 및 IL-15R α 둘 다의 융합은 그들이 생리학적 방식으로 상호작용하는 것을 방지하는 공간적 제약을 생성했을 가능성이 있다. 요약하면, IL-15R α Sushi+ 도메인은 IL-15-Fc 융합 단백질 순도 및 생체물리학적 특성을 현저히 향상시킬 수 있지만, IL-15R α 도메인이 호의적이고 구속받지 않은 방식으로 IL-15와 연관될 수 있을 때만이다.

[0219] 둘째, IL-15/IL-15R α -Fc 융합 단백질의 현상성에 대한 IL-15R α ECD(서열번호: 4) 대 IL-15R α Sushi+(서열번호: 5)의 효과는 P-0234과 P-0220을 비교함으로써 평가되었다. 두 작제물은 P-0234에서 IL-15R α Sushi+ 도메인, 및 P-0220에서 IL-15R α ECD를 갖는 도 1c에 도시된 바와 같은 동일한 구성을 공유하는 C-말단 Fc 융합이다. 그것의 SEC 크로마토그램은 도 3f 및 도 3g에 각각 도시된다. IL-15R α ECD 도메인을 포함하는 단백질인 P-0220은 그것의 IL-15R α Sushi+-함유 카운터파트 P-0234보다 더 낮은 순도(88.5% 대 100%)를 가질 뿐만 아니라, 세포의 동일한 배치(batch)에서 2.5배 더 낮은 수준에서 발현되었다. 요약하면, IL-15R α Sushi+ 도메인은 더 개발가능한 IL-15/IL-15R α 융합 단백질을 구성할 시에 IL-15R α ECD보다 선호되는 파트너라는 것이 분명하다.

[0220] 또한, IL-15/IL-15R α -Fc 융합 단백질의 현상성에 대한 융합 말단의 영향이 평가되었다. P-0234 및 P-0223은 각각 Fc의 C-말단 및 N-말단에 부착되는 IL-15/IL-15R α Sushi 복합체를 갖는 이량체 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다. 그것의 SEC 크로마토그램(도 3h 및 도 3i)은 순도에서 다소 미묘한 차이를 도시한다(98.5% 대 93.9%). 그러나 정제된 P-0223은 일관되게 더 높은 분자량 종의 넓은 피크 및 더 낮은 분자 불순물을 함유하는 작지만 주목할 만한 피크를 함유하며, 이는 사실상 P-0234에 사실상 존재하지 않았다. 작은 차이에도 불구하고, C-말단 융합을 갖는 P-0234은 이론의 여지가 없이 더 양호한 SEC 순도 프로파일을 갖고 두 분자가 비교가능한 수준에서 발현했다는 것을 고려하면 현상성 관점으로부터 선호된 형식이다.

[0221] 결론적으로, IL-15R α 서브유닛을 IL-15-Fc 융합과 복합체화하는 것은 현저하게 발현, 순도를 개선시키고, 응집을 저감시킬 수 있고; 그러한 개선은 최소 공간적 제약으로 IL-15와의 적절한 IL-15R α 연관을 요구한다. 그리고 IL-15R α ECD의 절단된 및 기능적 버전인 IL-15R α Sushi+는 생산성 및 순도 평가 둘 다에 기초하여 전장 ECD보다 선호되는 것으로 나타났다. 또한, IL-15/IL-15R α 복합체를 Fc의 C-말단에 배치시키는 것은 고순도를 달성하기 위해 N-말단 융합보다 유리하다. 결과적으로, P-0234에 의해 예시화되는 이량체 IL-15/IL-15R α (비-공유) C-말단 Fc 융합 형식은 모든 바람직한 구성요소를 통합하고 우월한 형식을 나타낸다.

[0222] 실시예 3

[0223] IL-15R α 의 비-공유 연관은 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 수용체 결합 및 생물학적 활성을 향상시킨다.

[0224] IL-15는 고친화도로 그것의 특이적 수용체 IL-15R α 에 결합하고 둘 다는 항원 제시 세포 상에서 발현된다. IL-15와 IL-15R α 의 연관은 NK, T 및 B 세포를 포함하는, 반응 림프구 상에서 IL-15R β 및 γ_c 로 구성되는 이중이량체 수용체 복합체로 IL-15를 트랜스-제시한다. 리간드-삼량체 수용체 복합체(IL-15-IL-15R $\alpha\beta\gamma$)의 형성은 다운스트림 생물학적 효과를 초래하는 세포내 신호전달 캐스케이드를 개시한다. IL-15 수용체 생물학의 복잡성은 형태적으로 효과적인 리간드-삼량체 수용체 신호전달 복합체를 가능하게 하는 최적의 IL-15 융합 단백질을 조작하기 위한 도전을 회피한다.

[0225] 우리는 N-말단 또는 C-말단에서 인간 IgG의 Fc 일부에 대한 IL-15의 공유결합이 IL-15R α Fc 융합 단백질과의 비-공유 연관에서 IL-15보다 생체내 반감기 연장에 대해 보다 유리할 것이라고 가정하였다. 우리는 IL-15R α 도메인이 중간 친화도 IL-2R $\beta\gamma$ 수용체와 그것의 상호작용을 향상시키고 고친화도 리간드-삼량체 수용체 신호전달 복합체의 형성을 용이하게 하기 위해 IL-15 Fc 융합 단백질에 대해 요구된다고 더 상정하였다. 더욱이, 우리는 IL-15 Fc 융합 단백질과 IL-15R α 도메인의 비-공유 연관이 천연 IL-15와 IL-15R α 연관 및 IL-15 트랜스-제시를 위한 최적의 형태를 유지시킨다고 믿는다. 또한, 우리는 IL-15와 IL-15R α 도메인 사이의 극도로 높은 결합 친화도로 인하여 그러한 융합 단백질 복합체를 생산하는 것이 실행가능하다고 가정하였다.

[0226] 다양한 구성의 IL-15/IL-15R α 도메인 복합체를 함유하는 IL-15 Fc 융합 단백질의 상이한 형식이 구성되었다.

IL-15R β 서브유닛에 대한 융합 단백질의 결합 활성이 결정되었고 림프구 활성화를 자극할 시의 그것의 생물학적 활성은 인간 CD8 및 NK 세포 상의 CD69 발현을 측정함으로써 분석되었다. 융합 단백질의 예시적인 구조 다이어그램이 도 1에 도시된다.

[0227] 결합 활성은 ELISA 검정에서 시험되었다. 간단히, Nunc Maxisorp(ThermoFisher) 플레이트는 바이카보네이트 완충액 pH 9.4(ThermoFisher)의 1 μ g/웰(100 μ l/웰)에서 huIL-15R β -6His로 4°C에서 밤샘 코팅되었다. PBS/0.05% Tween20로 3회 세척한 후, 플레이트는 비특이적 결합을 차단하기 위해 2시간 동안 실온에서 슈퍼블록(SuperBlock)(300 μ l/웰)으로 인큐베이션되었다. 세척 후, 차단 완충액을 사용한 3배의 연속 희석에서 각각의 IL-15 화합물은 플레이트(100 μ l/웰)에 첨가되었고 1시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 세척 후, Fc 융합은 차단 완충액(ThermoFisher)(100 μ l/웰)의 1:5000 희석에서 홀스래디쉬 페록시다아제(HRP)와 접합되는 염소 항-인간 IgG Fc 이차 항체로 실온에서 1 시간 인큐베이션에 의해 검출되었다. 세척 후, TMB 기질(ThermoFisher)이 첨가되었다(100 μ l/웰). 플레이트는 밀봉되었고 어두운 실온에서 5-20분 인큐베이션되었다. 반응은 2N 황산(Ricca Chemical)(50 μ l/웰)을 첨가함으로써 중단되었고 흡광도는 450-590 nm에서 판독되었다.

[0228] 생물학적 활성은 인간 NK 및 CD8 T 세포 상의 CD69 발현의 유도를 측정함으로써 결정되었다. CD69는 림프구 활성화 동안 초기에 유도되는 세포 표면 당단백질이다. 생체외 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 검정은 IL-15 치료 다음에 CD69를 발현시키는 NK 또는 CD8 T 세포의 수/퍼센트를 분석하기 위해 확립되었다. 구체적으로, 인간 PBMC는 오클라호마 혈액 연구소(Blood Oklahoma Institute)로부터 구매되는 버피 코트(buffy coat)로부터 피콜-하이팩(Ficoll-Hypaque) 원심분리에 의해 분리되었다. 정제된 인간 PBMC는 각각의 IL-15 시험 화합물의 연속 희석으로 처리되었고 48 시간 동안 37°C에서 인큐베이션되었다. 세포는 300 xg 원심분리에 의해 수집되었고 FACS 완충액에서 재현탁되었다. 인간 TruStain FcX(1:50 희석)을 첨가함으로써 Fc 수용체를 차단한 후, 세포는 항-인간 CD56-FITC, 항-인간 CD69-PE 및 항-인간 CD8-APC 항체(1:50 희석)로 염색되었다. 실온에서 항체와 함께 30분 인큐베이션 후, 세포는 수집 및 세정되었고, FACS 완충액에서 재현탁되었고 유세포 분석을 위해 준비되었다. CD69 발현은 CD56+ NK 및 CD8+ T 세포 상에서 결정되었고 데이터는 게이팅된 모집단에서 CD69 양성 세포의 %로서 표현된다.

[0229] P-0157은 N-말단 2가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질이며; P-0153은 C-말단 IL-15/IL-15R α Sushi 이중이량체 Fc 융합 단백질이며; P-0162는 IL-15R α Sushi가 복합체화되지 않은 C-말단 1가 Fc-IL-15 융합 단백질이다. ELISA 결합 검정은 IL-15R α Sushi 도메인의 편입이 IL-15R α 가 복합체화되지 않은 융합 단백질(P-0162)(도 4)과 비교하여 IL-15R β 에 대한 IL-15 Fc 융합 단백질(P-0157 및 P0153)의 결합 강도를 상당히 증가시켰다는 것을 나타냈으며, 수용체와 융합 단백질의 상호작용을 용이하게 할 시에 IL-15R α 의 필수적인 역할을 시사한다. 더욱이, 수용체 결합 활성은 IL-15 및 IL-15R α 둘 다 IL-15R α Fc 융합 단백질(P-0157)에 비-공유적으로 한정되는 IL-15와 대조적으로 이중이량체 형태(P-0153)로 Fc에 공유적으로 접합되었을 때 감소되었으며(도 4), 형태적으로 구속된 융합 형식이 수용체 결합 활성에 부정적으로 영향을 미친다는 것을 시사한다.

[0230] 결합 효능과 일치하여, IL-15R α 의 편입은 또한 IL-15R α 를 갖지 않는 융합 단백질과 비교하여 IL-15 융합 단백질의 생물학적 활성을 증가시켰다. P-0197은 C-말단 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이고 P-0162는 IL-15R α Sushi가 포함되지 않은 P-0197과 동일한 구조를 공유한다. P-0197은 IL-15R α 의 붕괴에 기인하는, P-0162와 비교하여 CD69 양성 NK 세포(도 5a) 및 CD8 T 세포(도 5b) 각각의 유도에서 10배 및 6배 증가된 효능을 입증하였다.

[0231] 마지막으로, 3개의 C-말단 1가 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 생물학적 활성이 비교되었다. P-0165는 IL-15R α 가 Fc 도메인에 융합되고 IL-15가 비-공유 결합되는 Fc 융합 단백질이며; P-0197은 Fc 도메인에 융합되는 IL-15 및 비-공유 결합되는 IL-15R α 와 역으로 구성되며; P-0153은 IL-15 및 IL-15R α 둘 다 Fc 도메인에 융합되는 이중이량체 구조를 갖는다. 도 6에 도시된 바와 같이, IL-15 또는 IL-15R α 와 비-공유 착물화를 갖는 융합 단백질은 두 IL-15/IL-15R α 가 Fc에 공유적으로 및 이중이량체로 융합되는 융합 단백질보다 CD69 양성 NK(도 6a) 및 CD8 T 세포(도 6b)의 유도에서 더 양호한 효능을 입증하였다. 데이터는 IL-15와 IL-15R α 사이의 형태적으로 최적의 연관이 IL-15 융합 단백질이 그것의 수용체를 결합시키고 그것의 생물학적 활성을 가하는 데 중요하다는 것을 시사한다. 증가된 형태적 제약, 예를 들어 이중이량체 Fc 융합 형식은 생물학적 활성에 부정적으로 영향을 미친다.

[0232] 실시예 4

[0233] IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 활성에 대한 링커의 효과

[0234] 단백질 도메인을 결합시키기 위한 적합한 링커의 선택은 융합 단백질 조작에서 중요하다. 펩타이드 링커는 융합 단백질 도메인 사이의 공간적 거리를 제공하고 그것의 독립적인 폴딩을 허용할 뿐만 아니라, 융합 단백질의 구조적 안정성 및 기능적 특성에 직접적으로 영향을 미친다. 여기서, 우리는 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 생물학적 활성에 대한 링커의 연성 및 길이의 효과를 조사한다.

[0235] 생물학적 활성은 이전에 설명된 바와 같은 생체의 인간 PBMC FACS-기반 검정에서 인간 NK 및 CD8 T 세포 상의 CD69 발현의 유도를 측정함으로써 결정되었다. P-0165 및 P-0166은 각각 10 아미노산 강성(rigid) 및 연성(flexible) 링커를 갖는 단량체 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합이다. P-0197, P-0207 및 P-0217은 모두 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다. P-0197은 강성 링커를 포함하고, P-0207은 10-아미노산 GS 풍부 연성 링커를 함유하고, P-0217은 15-아미노산 연성 링커를 갖는다. 결과(도 7a 및 도 7b)는 Fc 및 IL-15(P-0165 및 P-0166) 또는 Fc 및 IL-15R α (P-0197, P-0207 및 P-0217)를 결합시키는 펩타이드 링커의 강성 또는 길이는 시험되는 융합 단백질의 생물학적 활성에 영향을 미치지 않았다는 것을 나타냈다.

[0236] 실시예 5

[0237] IL-15/IL-15R α 융합 단백질의 활성에 대한 원자가의 효과

[0238] 치료 용도를 위한 Fc 융합 단백질은 IgG1 Fc가 힌지 영역에 형성되는 디설파이드 결합으로 인해 자연적으로 동종이량체화되기 때문에 대부분 동종이량체이다. 이량체 단백질은 결합능, 안정성, 양, 크기 및 기능에서 이점을 갖는다. 그러나, Fc 조작은 단량체성 Fc 융합 단백질을 생성할 수 있을 것이다. 변경은 생물학적 활성, 약동학, 부작용에 영향을 미치거나, 조직 침투를 위해 이량체 단백질의 크기를 감소시킬 수 있을 것이다. IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 생물학적 활성에 대한 원자가의 효과를 평가하기 위해, 상이한 IL-15/IL-15R α Fc 융합 구성을 갖는 단량체 형태 및 동종이량체 형태 둘 다가 구성되었고 생물학적 활성 시험되었다.

[0239] 생물학적 활성은 이전에 설명된 바와 같은 생체의 인간 PBMC FACS-기반 검정에서 인간 NK 및 CD8 T 세포 상의 CD69 발현의 유도를 측정함으로써 결정되었다. 결과는 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 동종이량체 형태가 시험된 모든 융합 형식에 걸쳐 각각의 단량체 카운터파트와 비교하여 생물학적 활성에서 대략 2배 향상을 보였다는 것을 나타냈으며(표 4), 이량체 원자가가 기능적에서 이점을 제공할 수 있다는 것을 시사한다.

[0240] 표 4

[0241] IL-15/IL-15R α 융합 단백질의 생물학적 활성에 대한 IL-15/IL-15R α Sushi 복합 원자가의 영향

단백질 ID	설명	활성화 EC ₅₀ (pM)	
		CD8 ⁺ T 세포	CD56 ⁺ NK
P-0166	IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 단량체, C-말단	17.4	5.9
P-0218	P-0166의 이량체 카운터파트	10	3.1
P-0217	IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 단량체, C-말단	139	28.3
P-0234	P-0217의 이량체 카운터파트	45.8	4.1
P-0197	IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 단량체, C-말단, 강성 링커	498	X
P-0198	P-0197의 이량체 카운터파트	293	X
P-0221	IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 단량체, N-말단	50.3	12.5
P-0223	P-0221의 이량체 카운터파트	47.2	9.1

[0242]

[0243] 실시예 6

[0244] IL-15의 생물학적 활성에 대한 N- 또는 C-말단 Fc 융합의 효과

[0245] Fc 융합 단백질은 간격 링커에 의해 연결되는 Fc의 N- 또는 C-말단에 IL-15/IL-15R α 복합체를 배치시킴으로써 구성될 수 있다. 최적의 스캐폴드는 융합 단백질이 정확하게 폴딩되고 발현되는지 여부, 및 생물학적 활성이 유지되는지 여부에 의해 결정된다. IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질은 IL-15/IL-15R α 복합체를 링커에 의해 이격되

는 N- 또는 C-말단에 부착시킴으로써 생성되었다. IL-15/IL-15R α 복합체는 또한 C- 및 N-말단 융합의 맥락에서 상이하게 구성되었다. P-0218은 C-말단 2가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질이고, 벤치마크는 IL-15에 N72D 치환을 추가적으로 포함하는 P-0218의 N-말단 카운터파트이다. P-0234는 C-말단 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이고, P-0223은 P-0234의 N-말단 카운터파트이다.

[0246] 융합 단백질의 생물학적 활성은 IL-15 화합물 치료 다음에 NK 및 CD8 T 세포의 핵에서 Ki67 발현을 측정함으로써 결정되었다. IL-15는 NK, T 및 B 세포 증식 및 분화를 자극하는 강력한 림프구 성장 인자이다. Ki67은 세포 주기(G1, S, G2 및 M)의 모든 활성 단계에서 유도되는 핵 단백질이지만, 휴지기 단계(G0)에서 그렇지 않고 따라서 세포 증식을 위한 마커이다.

[0247] 생체의 인간 PBMC 검정이 확립되었다. 간단히, 정제된 인간 PBMC는 IL-15 시험 화합물의 연속 희석으로 처리되었고 5일 동안 37°C에서 인큐베이션되었다. 5일째, 세포는 FACS 완충액(1% FBS/PBS)으로 한 번 세정되었고 Fc-차단제 및 항-인간 CD56-FITC, 항-인간 CD8-APC 및 항-인간 CD4-Percp-cy5.5(1:50 희석)를 포함하는 표면 마커 항체로 먼저 염색되었다. 30분 인큐베이션 및 세정 후, 세포 펠릿은 200 μ l/웰의 1x Foxp3 고정화 및 투과화 작업 용액에 의해 충분히 재현탁되었고 암흑의 실온에서 30분 동안 인큐베이션되었다. 원심분리 후, 200 μ l의 1x 투과화 완충액이 또 다른 세정을 위해 각각의 웰에 첨가되었다. 세포 펠릿은 항-인간 Ki67-PE(1:10 희석)를 갖는 투과화 완충액에서 재현탁되었다. 실온에서 30분 인큐베이션 후, 세포는 수집 및 세정되었고, FACS 완충액에서 재현탁되었고 유세포 분석을 위해 준비되었다. 데이터는 게이팅된 모집단에서 Ki67 양성 세포의 %로서 표현되었다.

[0248] 도 8에 도시된 바와 같이, C-말단 Fc 융합(P-0218 및 P-0234)은 일관되게 N-말단 Fc 융합 카운터파트(벤치마크 및 P-0223)보다 Ki67 양성 CD8 T 세포 또는 CD8 T 세포 증식의 더 강한 유도를 입증하였다(도 8a 및 도 8b). 데이터는 Fc의 C-말단이 IL-15/IL-15R α 복합체의 연결(linkage)을 위한 바람직한 부위이고 생물학적 활성의 보존을 허용한다는 것을 시사한다.

[0249] 실시예 7

[0250] IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 활성에 대한 수용체-알파 도메인 선택의 효과

[0251] IL-15는 IL-15R α 의 세포의 도메인(ECD)에 결합하고 결합은 주로 스시-도메인(sushi-domain)으로 지칭되는 보존된 단백질 결합 모티프에 기여된다. 융합 단백질의 구성을 위해, IL-15R α 의 짧은 및 절단된 버전은 크기 및 구조 복잡성을 감소시키기 위해 바람직할 수 있다. 결합 특이성 및 친화도를 보장하기 위해, IL-15의 결합을 부여하는 ECD 도메인의 전체 또는 일부(추가적인 12 AA를 갖는 스시 도메인)는 융합 단백질로 구성되었고 기능적 활성이 결정되었다.

[0252] P-0234 및 P-0220은 C-말단 이량체 IL-15/IL-15R α (비-공유) 융합 단백질이며, 여기서 IL-15R α 는 각각 스시(sushi) 및 전체 ECD이다. P-0223 및 P-0224는 N-말단 이량체 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이며, 여기서 IL-15R α 는 각각 스시 및 전체 ECD이다. P-0221 및 P-0222는 N-말단 1가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이며, 여기서 IL-15R α 는 각각 스시 및 전체 ECD이다. 결과는 IL-15R α Sushi 도메인과 비-공유적으로 복합체화되는 융합 단백질이 N-말단 또는 C-말단, 이량체성 또는 단량체로서의 융합 형식과 관계없이, CD69 양성 NK 세포를 유도할 시에 IL-15R α 전체 ECD로 복합체화되는 것보다 더 강력하였다는 것을 나타냈다(도 9). 데이터는 IL-15R α Sushi 도메인이 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질을 구성하고 신호전달 수용체와 상호작용하는 IL-15에 대해 최적의 형태를 부여하기 위해 전체 ECD보다 더 바람직하다고 시사한다.

[0253] 실시예 8

[0254] IL-15 돌연변이체 및 IL-15R β 에 대한 변이체 융합 단백질의 결합 활성

[0255] IL-15 작용제, 슈퍼-작용제 또는 길항제를 검색할 시에, 결실, 삽입 또는 점 돌연변이는 IL-15와 수용체 베타 또는 감마 사이의 접촉 계면에서 인간 IL-15 펩타이드 서열로 도입되었다. 변이체는 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 상이한 형식으로 도입되었고 IL-15R β 에 대한 결합 활성은 이전에 설명된 바와 같은 효소-링크된 면역흡착 검정(Enzyme-linked Immunosorbent Assay; ELISA)에 의해 정량화되었다.

[0256] 표 5는 C-말단 IL-15 변이체/IL-15R α 이종이량체 Fc 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성을 도시한다. IL-15 변이체는 인간 IL-15 펩타이드에 도입되는 아미노산 결실, 삽입 또는 점 돌연변이를 갖는다. IL-15의 C-말단으로부터의 3 아미노산의 절단은 전장 야생형 IL-15 융합 단백질과 비교하여 IL-15R β 에 대한 융합 단백질의 결합 활성을 유지시킨 반면, IL-15의 C-말단으로부터의 6 또는 9 아미노산의 추가적인 절단은 융합 단백질의 결합 활

성에서 점진적인 감소를 초래하였다. N95 이후 다양한 길이를 갖는 GS 삽입은 모두 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성의 감소를 야기하였다.

[0257] 표 6은 단량체 IL-15 변이체(비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성을 도시하며, 여기서 인간 IL-15 도메인은 위치 58, 62, 63, 67 또는 68에서 단일 아미노산 치환을 함유한다. IL-15 (I67V) 변이체를 함유하는 Fc 융합 단백질인 P-0185는 야생형 융합 단백질과 IL-15R β 에 대한 유사한 결합 활성을 입증하였다. 세린으로부터 아스파르트산(S58D)으로 위치 58에서의 아미노산 치환을 갖는 IL-15 변이체를 포함하는 융합 단백질인 P-0182는 야생형 융합 단백질과 비교하여 IL-15R β 에 대한 결합 효력에서 4배의 향상을 입증하였다. IL-15의 위치 62, 63 및 68에서의 치환은 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성에서 상이한 정도의 감소를 야기하였다.

[0258] 표 7은 이량체 IL-15 변이체/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성을 도시하며, 여기서 인간 IL-15는 N95 이후 위치 58 또는 68에서 단일 아미노산 치환 또는 아미노산 삽입을 함유한다. 유사하게, P-0182(표 4)에서 보이는 바와 같이, S58D와 동일한 IL-15 변이체를 함유하는 P-0313은 그것의 각각의 야생형 융합 단백질 P-0234와 비교하여 IL-15R β 에 대한 결합 효력에서 2배의 향상을 입증하였다. 데이터는 IL-15 펩타이드에서의 S58D 치환이 IL-15를 향상된 수용체 결합 활성에 기인한 슈퍼-작용제로 조정할 수 있다는 개념을 강화시켰다.

[0259] 요약하면, IL-15 변이체 Fc 융합 단백질은 생성되었고 차별적인 IL-15R β 결합 활성으로 식별되었다. IL-15 변이체 중 일부는 그것의 야생형 카운터파트와 비교하여 IL-15R β 에 결합하는 감소된 효력을 나타냈다(표 5-7). 일부 변이체, 예컨대 P-0173 및 P-0185는 야생형과 유사하게 IL-15R β 에 대한 결합 활성을 유지하였다(표 5). 인간 IL-15 도메인에서 위치 58에서의 세린의 아스파르트산으로의 치환을 갖는 단일 점 돌연변이는 IL-15R β 에 대한 융합 단백질(P-0182 및 P-0313)의 향상된 결합 활성을 제공하였다(표 6 및 표 7).

[0260] 표 5

[0261] IL-15 변이체/IL-15R α 이중이량체 Fc 단백질의 IL-15R β 결합 활성

단백질 ID	IL-15/IL-15R α 이중이량체 Fc 융합 형식	ELISA 결합	
		EC ₅₀ (nM)	배수 변화
P-0153	IL-15 야생형	0.65	1
P-0173	IL-15d1 (111-114 결실)	0.66	1
P-0174	IL-15d2 (108-114 결실)	4.54	7
P-0175	IL-15d3 (105-114 결실)	23.1	36
P-0176	IL-15i1 (N95 후 GS 삽입)	10.2	16
P-0177	IL-15i2 (N95 후 GSGG 삽입)	38.0	59
P-0178	IL-15i3 (N95 후 GSSGSGGS 삽입)	23.1	36

[0262]

[0263] 표 6

[0264] 단량체 IL-15 변이체 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성

단백질 ID	1가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 형식	ELISA 결합 EC ₅₀ (nM)	배수 변화
P-0165	IL-15 야생형	1.24	1
P-0182	IL-15S58D	0.31	0.25
P-0183	IL-15 T62D	6.29	5
P-0184	IL-15 V63F	15.6	13
P-0185	IL-15 I67V	1.96	1.6
P-0186	IL-15 I68F	106	86

[0265]

[0266] 표 7

[0267] 이량체 IL-15 변이체/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질의 IL-15R β 결합 활성

단백질 ID	2가 IL-15 /IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식	ELISA 결합 EC ₅₀ (nM)	배수 변화
P-0234	IL-15 야생형	0.83	1
P-0313	IL-15-(S58D)	0.36	0.43
P-0361	IL-15i1(N95 후 'GS' 삽입)	7.66	9

[0268]

- [0269] 실시예 9
- [0270] IL-15 S58D 변이체/IL-15R α Fc 융합 단백질의 T 세포 활성화 활성
- [0271] IL-15 변이체/IL-15R α 복합체의 Fc 융합 단백질은 림프구 활성화를 자극할 시에 그들의 기능적 활성화에 대해 평가되었다. 생체의 인간 PBMC 검정은 이전에 설명된 바와 같이, 림프구 활성화 마커인, CD69를 발현시키는 CD8 T 세포의 수/퍼센트를 분석하기 위해 확립되었다.
- [0272] P-0234는 Fc에 대한 공유 IL-15 연결, C-말단 융합, 이량체 원자가 및 비-공유 IL-15R α sushi 작용화를 포함하는, 바람직한 구성의 조합에 의해 최적화되는 C-말단 이량체 IL-15/IL-15R α sushi (비-공유) Fc 융합 단백질이다. P-0313은 P-0234의 S58D 카운터파트이다. 그것은 P-0234와 동일한 융합 구성을 공유하지만 IL-15 폴리펩타이드에서 S58D 치환과만 다르다. P-0313은 이전의 야생형 카운터파트 P-0234과 비교하여 증가된 IL-15R β 결합 활성을 입증하였다(표 7). IL-15R β 에 대한 향상된 결합 활성과 일치하여, S58D 돌연변이를 포함하는 변이체 P-0313은 또한 CD69 양성 T 세포를 유도할 시에 증가된 효능을 입증하였으며(P-0313 및 P-0234 각각에 대해 7 pM 대 12 pM), P-0313이 슈퍼-작용제 활성을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0273] 실시예 10
- [0274] IL-15 S58D/IL-15R α Fc 융합 단백질의 신호전달 활성
- [0275] IL-15(S58D) 변이체는 IL-15R β 에 대한 증가된 결합 활성 및 CD69 양성 림프구를 자극할 시에 향상된 효능을 입증하였다. 현재 연구는 NK 및 T 세포에서 전사 5(pSTAT5)의 신호 변환기 및 활성제의 세포내 인산화를 자극할 시에 IL-15(S58D)/IL-15R α 융합 단백질의 신호전달 활성을 검사하였다.
- [0276] STAT5 인산화는 IL-15 화합물 처리 다음에 생체의 인간 PBMC 검정에서 세포내 FACS 분석에 의해 결정되었다. 간단히, 정제된 인간 PBMC는 IL-15 시험 화합물의 연속 희석으로 처리되었고 15분 동안 37°C에서 인큐베이션되었다. 처리가 끝나면, 세포는 FACS 완충액(1% FBS/PBS)으로 한 번 세정되었고 15분 동안 37°C에서 150 μ l/웰의 사전-가온된 사이토폭(Cytofix) 고정 완충액에서 인큐베이션되었다. 고정된 세포는 다시 세정되고 30분 동안 4°C에서 150 μ l/웰의 사전-냉각된 펄(Perm) 완충액 II에서 재현탁되었다. 인간 TruStain FcX(1:50 희석)를 첨가함으로써 Fc 수용체를 차단한 후, 세포는 항-인간 CD56-FITC, 항-인간 pSTAT5-PE, 항-인간 CD8-APC 및 항-인간 CD4-Percp-cy5.5(1:50 희석)로 염색되었다. 실온에서 항체와 함께 45분 인큐베이션 후, 세포는 수집 및 세정되었고, FACS 완충액에서 재현탁되었고 유세포 분석을 위해 준비되었다. 데이터는 게이팅된 모집단에서 pSTAT5 양성 세포의 %로서 표현된다.
- [0277] S58D 돌연변이는 Fc 융합 단백질의 2개의 형식으로 도입되었다: 2가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 및 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질. P-0218 및 P-0314는 각각 야생형 및 S58D 변이체 IL-15를 포함하는 C-말단 이량체 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질이다. P-0234 및 P-0313은 각각 야생형 및 S58D 변이체 IL-15를 포함하는 C-말단 이량체 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질이다. 융합 구성과 관계없이, IL-15(S58D) 변이체 융합 단백질(P-0314 및 P-0313)은 CD8(도 10a), CD4(도 10b) T 세포 뿐만 아니라, NK 세포(도 10c)에서 그것의 각각의 야생형 융합 단백질(P-0218 및 P-0234)과 비교하여 STAT5 인산화를 자극하는 효능에서 약 2배의 증가를 입증하였다. 데이터는 IL-15 펩타이드에서의 S58D 치환은 다양한 IL-15/IL-15R α 융합 단백질의 슈퍼 작용제 활성을 초래한다는 것을 확인하였다.
- [0278] 실시예 11
- [0279] IL-15S58D/IL-15-R α Fc 융합 단백질의 세포 증식 활성
- [0280] IL-15R β 에 결합하고, STAT5 인산화를 자극하고 CD69 발현을 유도하는 능력에서의 증가를 관측한 후, IL-15S58D 변이체 Fc 융합 단백질은 NK 및 CD8 T 세포에서 Ki67 발현을 측정함으로써 야생형 융합 단백질과 비교하여 세포 증식을 자극하는 그것의 능력에 대해 시험되었다. 인간 PBMC는 IL-15 융합 분자의 증가하는 용량으로 처리되었고 Ki67 발현은 이전에 설명된 바와 같이 CD56+ NK 및 CD8+ T 세포 모집단에 대해 게이팅되는 세포내 FACS 분석에 의해 결정되었다.
- [0281] (도 11)에 도시된 바와 같은 STAT5 인산화에 대해 관측된 것과 유사하게, IL-15(S58D) 변이체의 융합 단백질은 또한 CD8+(도 11a) 및 CD4+(도 11b) T 세포 뿐만 아니라, CD56+ NK 세포(도 11c)에서 야생형과 비교하여 Ki67 발현을 자극하는 효능에서 2배의 증가를 입증하였다. 이들 데이터는 IL-15 도메인에서 S58D 돌연변이의 도입이 수용체 결합, 세포내 신호전달, 세포 표면 마커의 활성화 및 세포 증식을 포함하는 생물학적 활성의 범위에서

향상을 제공한다는 것을 강화시켰다.

[0282] 실시예 12

[0283] 마우스에서 rhIL-15 및 벤치마크와 비교하여 P-0234를 사용한 4일 반복된 투약 연구

[0284] IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질은 IL-15R β 에 결합하고, 세포내 신호전달 캐스케이드를 유도하고 시험관내 및 생체외에서 NK 및 CD8 T 림프구의 증식을 자극하는 강한 능력을 입증하였다. 여기서, 우리는 마우스에서 NK 세포 증식 및 확장에 대한 다양한 IL-15 화합물의 혈청 노출 및 효과를 검사하였다. 시험된 단백질은 재조합 인간 고유 IL-15(rhIL-15), P-0234(C-말단 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질), 및 벤치마크 화합물(IL-15에서 N72D 돌연변이를 포함하는 N-말단 2가 IL-15(비-공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질)을 포함한다.

[0285] 7-주령 암컷 Balb/c 마우스는 찰스 리버 실험실(Charles River Laboratory)로부터 수령되었고 연구 전에 적어도 7일 동안 집에서 순응되었다. 마우스는 4일 동안 IL-15 화합물의 등가 물 용량으로 매일 복강내 주사를 받았다. 치료는 비히클, 0.03 mg/kg rhIL-15(40 pmol/kg), 0.1 및 0.5mg/kg 벤치마크(40 및 200 pmol/kg), 및 0.1 및 0.5 mg/kg P-0234(40 및 200 pmol/kg)을 포함한다. 각 그룹은 5마리의 마우스를 가졌다. 체중은 치료 전에 그리고 치료 동안 매일 기록되었다. 마우스는 마지막 주사 1시간 후에 희생되었고 말단 혈액이 심장 천자를 통해 수집되었다.

[0286] 헤파린화된 전혈 및 비장은 NK 세포 표현형 및 Ki67 세포내 염색을 위해 수집되었다. 적혈구를 용해시키고 정제된 항-마우스 CD16/CD32(1:50 희석)로 Fc-수용체를 차단한 후, 단일-세포 현탁액의 단핵 혈액 및 비장 세포는 암흑의 실온에서 30분 동안, 항-마우스 CD3-FITC 및 항-마우스 CD49b-APC(1:50 희석)을 포함하는, NK 세포 표면 마커로 염색되었다. 세포내 Ki67 염색을 위해, 세포 펠렛은 200ul/웰의 1x Foxp3 고정/투과화 작업 용액에 의해 충분히 재현탁되었고 암흑의 실온에서 30분 동안 인큐베이션되었다. 세포는 200ul의 1x 투과화 완충액으로 세정되었고 Fc-수용체는 정제된 항-마우스 CD16/CD32(1:50 희석)로 차단되었다. 그 다음, 세포는 NK 세포 모집단에 대해 항-마우스 CD3-FITC 및 항-마우스 CD49b-APC에 더하여 Ki67-PE로 염색되었다(1:50 희석). 30분의 인큐베이션 후, 세포는 수집 및 세정되었고, FACS 완충액에서 재현탁되었고 유세포 분석을 위해 준비되었다. 통계적인 분석은 그래프패드(GraphPad) 프리즘 소프트웨어에서 Tukey의 사후 다중 비교와 함께 일원분산분석에 의해 수행되었다.

[0287] 도 12는 IL-15 화합물의 마지막 주사 후 1 시간에서 IL-15의 혈청 농도를 도시한다. IL-15는 제조자의 지침(R&D 시스템; Cat# DY247)에 따라 IL-15를 검출하는 상업적 ELISA 키트에 의해 측정되었다. 화합물의 4일 투여 후, IL-15의 누적 혈청 농도는 P-0234로 처리된 마우스에서 가장 높았고, 벤치마크로 처리된 마우스에서 중간이었고 등가 물 용량에서 주어진 rhIL-15로 처리된 마우스에서 가장 낮았다(도 12). 0.1 및 0.5 mg/kg에서 투여된 벤치마크 및 P-0234를 비교할 때, P-0234는 벤치마크보다 6배 및 4배 더 높은 혈청 농도를 일관되게 입증하였다. IL-15의 평균 혈청 농도는 rhIL-15(0.03 mg/kg 투여)에 대해 3.2 ± 0.6 (ng/ml), 벤치마크 화합물(각각 0.1 및 0.5 mg/kg 투여)에 대해 13 ± 8 및 121 ± 36 (ng/ml), 및 P-0234(각각 0.1 및 0.5 mg/kg 투여)에 대해 72 ± 14 및 443 ± 57 (ng/ml) 이었다. 우수한 혈청 노출은 P-0234가 벤치마크 및 rhIL-15와 비교하여 더 긴 생체내 반감기 및 혈청 체류를 나타낼 수 있다는 것을 시사한다.

[0288] 치료 그룹 사이에서 총 체중에 차이는 없지만, 벤치마크의 더 높은 용량으로 처리된 마우스는 4일의 치료 내에서 거의 6% 체중을 감량하였다(도 13a 및 도 13b). 효과는 0 일째의 기준선 값 및 비히클 그룹과 비교하여 통계적으로 유의미하였으며, 벤치마크 화합물로 관찰되지만 P-0234로 그렇지 않은 잠재적인 용량-제한 독성을 시사한다.

[0289] 모든 시험된 IL-15 화합물은 말초 혈액에서 Ki67 양성 NK 세포의 백분율을 증가시켰으며(도 14a), 향상된 NK 세포 증식을 시사한다. 그러나, CD3 음성 말초 혈액 림프구 내의 NK 세포 수의 백분율의 유의미한 증가는 두 시험된 용량 수준에서 P-0234로 처리된 마우스에서만 관측되었다(도 14b). NK 세포의 백분율의 증가가 또한 rhIL-15 및 더 낮은 용량의 벤치마크로 처리된 마우스에서 관측되었지만, 효과는 통계적 유의도에 도달할 수 없었다(도 14b). 흥미롭게도, 말초 혈액 내의 NK 세포 수의 감소는 더 높은 용량 벤치마크로 처리된 마우스에서 관측되었다(도 14b). 그러한 역전된 약력학적 용량-반응은 이러한 그룹에서 체중의 관측된 손실과 일치하는 독성을 시사한다.

[0290] 림프구 증식 및 확장에 대한 IL-15 화합물의 효과는 또한 비장 내의 림프성 기관에서 검사되었다. 말초 혈액에서 관측된 것과 유사하게, 모든 IL-15 화합물은 비히클과 비교하여 비장 Ki67 양성 NK 세포를 증가시켰다(도 15a). 저용량 벤치마크 및 P-0234만이 비장 내의 NK 세포의 총수를 유의미하게 증가시켰다(도 15B).

마찬가지로, 비장 NK 세포 확장에 대한 역전된 용량-반응은 벤치마크에 대해 관측되었고(도 15b), 이것은 종결 4일 후 측정된 비장 NK 세포에 대한 높은 및 지속적인 CD69 발현과 연관되었다(도 15c). 데이터는 벤치마크 화합물이 NK 세포를 과도하게 자극하여 세포 고갈을 초래할 수 있다는 것을 시사한다. IL-15가 IL-15R α Fc 융합 단백질에 비-공유적으로 결합된 상태에서, IL-15는 벤치마크 화합물의 융합 복합체로부터 분리되어 림프구 과자극, 세포 고갈, 독성 및 체중 손실을 초래할 수 있다.

[0291] 실시예 13

[0292] 단일 주사 후 마우스에서 L-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 약동학적 및 약력학적 효과

[0293] P-0313, C-말단 2가 IL-15S58D/IL-15R α (비공유) Fc 융합 단백질을 이용한 용량-반응 연구는 단일 주사 후 Balb/C 마우스에서 수행되었다. 말초 혈액 림프구 증식 및 확장에 대한 효과는 경시적으로 모니터링되었다. 게다가, P-0313의 약동학 및 약력학(PK/PD)은 단일 주사 후, IL-15에서 N72D 돌연변이를 포함하는 N-말단 2가 IL-15(비공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질인, 벤치마크의 그것들과 비교되었다.

[0294] 7-주령 암컷 Balb/c 마우스는 찰스 리버 실험실로부터 수령되었고 연구 전 적어도 7일 동안 집에서 순응되었다. 비히클, 벤치마크(0.3 mg/kg) 또는 P-0313(0.01, 0.03, 0.1 및 0.3 mg/kg)은 0시에 마우스에 복강내(i.p.) 주사를 통해 투여되었다. 혈액 샘플은 -24 시간(투여전), 및 주사 후 1, 4, 24, 72, 120, 및 192 시간에서 회수되었다. 체중은 치료 전 그리고 치료 동안 매일 기록되었다. 각 그룹은 5마리의 마우스를 포함하였다.

[0295] 헤파린-처리된 전혈은 면역 표현형을 위해 사용되었고 부피는 기록되었다. BD 팜(pharm) 세포용해 완충액(buffer)을 사용한 적혈구 용해 후, 총 생존가능한 단핵 혈구는 트립판 블루 데드 세포 배제에 의해 카운트되었고 Ki67 세포내 염색으로 진행되었다. 세포 펠leting은 200 μ l/웰의 1x Fc γ 3 고정/투과화 작업 용액에 의해 완전히 재현탁되었고 암흑의 실온에서 30분 동안 인큐베이션되었다. 원심분리 후, 200 μ l의 1x 투과화 완충액은 또 다른 세정을 위해 각각의 웰에 첨가되었다. Fc-수용체를 정제된 항-마우스 CD16/CD32(1:50 희석)로 차단한 후, 세포는 항-마우스 CD3-FITC, Ki67-PE, 항-마우스 CD49b-APC 및 항-마우스 CD8-Perccp5.5(1:50 희석)로 염색되었다. 30분의 인큐베이션 후, 세포는 수집 및 세정되었고, FACS 완충액에서 재현탁되었고 유세포 분석에 의해 분석되었다. 통계적인 분석은 그래프패드 프리즘 소프트웨어에서 Tukey의 다중 비교 시험을 사용하여 일원 분산분석에 의해 수행되었다.

[0296] 화합물의 혈청 농도는 2개의 상이한 ELISA 검정을 사용하여 측정되었다. 인-하우스 ELISA 검정은 IL-15 및 Fc 복합체를 측정하기 위해 개발되었고, 상업적 ELISA 검정은 인간 IL-15에 활성인 항체를 포획 및 검출하는 것과 함께 IL-15를 측정한다. 인-하우스 ELISA 검정을 위해, 맥시소프(maxisorp) 플레이트는 4°C에서 밤샘 항-IL-15 항체(R&D 시스템 MAB647)로 코팅되었다. 플레이트는 슈퍼블록(SuperBlock)으로 차단되었다. 다양한 희석의 표준 및 샘플은 플레이트에 도포되었고 실온에서 1시간 인큐베이션되었다. 활성 화합물은 항-인간 IgG Fc-HRP로 검출되었고 신호는 울트라 TMB 기질 용액(Ultra TMB Substrate Solution)을 사용하여 개발되었다. 값은 비-선형 회귀 곡선 적합도로부터 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 보간을 사용하여 계산되었다.

[0297] 두 화합물은 비교가능한 혈청 농도로 처음 24 시간의 혈청에서 검출가능하였다. 피크 농도는 복강내 투여 후 4 시간에서 관측되었다. 72시간에서, P-0313만이 측정가능하게 잔존하였고 벤치마크는 3 마우스 모두에서 검출불가능하게 되었다(도 16a 내지 도 16b). 유사한 결과는 2개의 상이한 ELISA 검정을 사용하여 획득되었으며, P-0313이 벤치마크보다 우월한 약동학적 프로파일을 가지고 있음을 확인하였다. 결과는 IL-15/IL-15R α (비공유) Fc 융합 단백질인 P-0234가 또한 벤치마크보다 더 높은 혈청 노출을 입증한 실시예 12에 도시된 이전의 관찰로 확증하였다. 이들 데이터는 IL-15/IL-15R α (비공유) Fc 융합 구성이 IL-15 생체내 반감기의 연장에서 IL-15(비공유)/IL-15R α Fc 융합 단백질의 그것보다 우월하다는 것을 강하게 지지한다.

[0298] 체중의 유의미한 변화는 임의의 치료 그룹에서 관측되지 않았다(도 17).

[0299] Ki67 발현의 용량-의존적 증가는 P-0313로 처리된 마우스의 NK 및 CD8 T 세포에서 관측되었다(도 18a 및 도 18b). 효과는 72시간에서 절정에 달하였고 벤치마크에 대해 120시간 지속되었고 P-0313에 대해 192시간으로 더 연장되었으며(도 18a), P-0313가 벤치마크보다 더 길게-작동하고 있다는 것을 시사한다. 게다가, P-0313은 벤치마크의 그것보다 3-10배 더 낮은 용량에서 유사한 Ki67 유도를 나타냈으며, P-0313이 벤치마크보다 더 유효하다는 것을 시사한다(도 18a 및 도 18b). NK 세포에 대한 유의미한 반응은 CD8 T 세포에 비해 10배 더 낮은 용량에서 관측되었으며, NK 세포가 CD8 T 세포보다 P-0313 처리에 더 민감하다는 것을 시사한다.

[0300] 세포 증식 마커 Ki67에서 관측된 증가와 일치하여, 혈액 내의 NK 및 CD8+ T 세포의 용량-의존적 확장이 P-0313 처리된 그룹에서 관측되었다(도 19a 및 도 19b). 세포 확장은 72시간에서 관측되었고 120시간에서 절정에 달하

였다. P-0313은 0.01, 0.03, 0.1 및 0.3 mg/kg 용량 각각에서 기준선으로부터 4-, 15-, 50- 및 163배로 NK 세포를 증가시켰고(도 19a), 또한 0.1 및 0.3 mg/kg 용량에서 기준선으로부터 10- 및 50배 CD8 T 세포를 증가시켰다(도 19b). 대조적으로, 0.3mg/kg 용량에서의 벤치마크는 단지 주변 NK 세포를 28배로 그리고 CD8 T 세포를 12배로 확장시켰다(도 19a 및 도 19b).

[0301] 요약하면, P-0313은 벤치마크 화합물에 대한 NK 및 CD8 T 세포 증식 및 확장에 대해 우수한 약동학 및 약력학을 입증하였다.

[0302] 실시예 14

[0303] 마우스 결장암의 폐 전이의 억제에 대한 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 효과

[0304] 종양 모델에서 IL-15/IL-15R α -Fc 융합 단백질의 항-전이성 효능 및 면역학적 반응을 조사하기 위해, 1×10^5 마우스 결장 암종 세포, 즉 CT26-WT(ATCC CRL-2638)가 암컷 Balb/C 마우스(10-12 주령)에 정맥내로 주사되었다. 다음 날, 0.03 또는 0.1 mg/kg의 P-0313 또는 0.3mg/kg의 벤치마크 화합물이 정맥내(i.v.) 주사에 의해 5일마다 주어졌다(세포 이식 후 1, 6, 11일). 비히클(PBS)은 음성 대조군으로서 포함되었고 모든 그룹은 8마리의 마우스를 함유하였다. 15일째 되는 날, 혈액 샘플은 림프구 표현형 및 간 효소 측정을 위해 수집되었다. 16일째 되는 날, 모든 마우스는 조직 채취를 위해 희생되었다. 폐는 15% 인디아 잉크에 의해 팽창되었고 페케테(Fekete)의 용액(10% 포르말데하이드, 5% 빙초산 및 60% 에탄올)에서 탈염색되었다. 폐 종양 결절은 광학 현미경 하에서 전체 폐에 대해 카운트되었고, 항-전이성 효과는 치료 그룹과 비히클 대조군 사이의 종양 결절의 상이한 수에 의해 표시되었다.

[0305] 면역학적 반응을 연구하기 위해, 마우스 말초 혈액은 헤파린-처리된 튜브에서 15일째 되는 날에 수집되었고 마우스 당 검정을 위해 사용되는 혈액의 부피가 기록되었다. 적혈구가 BD 팜(pharm) 세포용해 완충액에 의해 용해된 후, 총 생존가능한 단핵 혈구는 트립판 블루 데스 세포 배제에 의해 카운트되었고 면역 세포 표현형, 및 Ki67 증식 분석을 위해 이전에 설명된 바와 같은 세포내 염색을 위해 사용되었다. 세포 고정, 투과화 및 항체 염색 후, 세포는 수집 및 세정되었고, FACS 완충액에서 재현탁되었고 유세포 분석에 의해 분석되었다.

[0306] 도 20a는 폐 결절을 예시하는 각각의 그룹으로부터의 폐의 대표적인 사진을 도시한다. 폐 전이성 병변은 현미경적으로 카운트 및 정량화되었다(도 20b). 도 20에 도시된 바와 같이, 0.3 mg/kg에서 주어진 벤치마크 분자는 폐 결절 카운트에서 84% 감소로 폐 전이를 억제하였으며, IL-15 경로를 활성화시키는 것이 폐 전이의 형성 및 성장을 방지하는 데 효과적이라는 것을 확인하였다. 현저하게, 3배 더 낮은 용량(0.1 mg/kg)에서의 IL-15/IL-15R α -Fc 복합체 P-0313의 투여는 제로 결절이 처리된 모두 8마리의 마우스에서 관측되는 폐 전이의 발달의 완전한 억제를 야기하였다(도 20a 및 도 20b). 폐 전이의 형성 및 성장을 억제할 시에 벤치마크에 대한 P-0313의 우수성은 이전에 증명된 향상된 약동학적 및 약력학적 효과와 일치한다(실시예 12 및 13). 그것의 IL-15 모이머티가 Fc 도메인에 공유적으로 링크된 상태에서, P-0313은 IL-15R α Sushi 도메인(실시예 13)을 통해 Fc 사슬에 비-공유적으로 링크되는 IL-15를 함유하는 벤치마크에 비해 IL-15 혈청 반감기의 뚜렷한 개선을 입증하였다. 0.03 mg/kg 투약에서의 P-0313은 또한 ~35%의 억제 효과로 폐 전이를 감소시켰다(도 20a 및 도 20b). 이러한 관측은 P-0313이 벤치마크보다 훨씬 더 낮은 용량에서 유효하다는 것을 더 강조하였고 생체내의 그것의 항암 효과에 대한 IL-15/IL-15R α -Fc 복합체의 생체분포 및 생체이용률의 중요성을 강조한다.

[0307] 3회 반복된 Q5D 투여 후, 말초 혈액에서 NK 및 CD8+ T 세포 둘 다의 확장은 P-0313 처리된 마우스에서 유의미하게 상승되어 남아 있었으며(도 21a 및 도 21b), 이는 이러한 치료 그룹의 비장 중량에서 유의미한 증가와 상관되었다(도 22). 대조적으로, 0.3 mg/kg 벤치마크로 처리된 그룹의 경우, CD8+ T 세포의 매우 보통의 확장만이 관측되었으며; 대조군 대비 순환 NK 세포 수에서의 증가는 관측되지 않았다(도 21a 및 도 21b). 그러나, 비장 중량은 벤치마크 처리된 그룹에서 유의미하게 증가되었다(도 22). 데이터는 반복된 투여 후, 확장된 림프구가 보관을 위해 림프 조직으로 이동할 수 있거나 세포 고갈이 또한 발생할 수 있다는 것을 시사한다. 모든 3개의 처리 그룹이 항종양 효과를 보였음에 따라, 데이터는 CD8+ T 세포 또는 NK 세포가 항종양 효과에 수반되는 효과기 서브세트일 수 있다는 것을 시사하였다. 그러나, 0.1 mg/kg의 P-0313으로 처리된 그룹에서 보이는 폐 전이의 완전한 박멸은 NK 세포 및 CD8+ T 세포 둘 다를 결합시키는 작용이 종양 성장의 가장 강한 억제를 유도했다는 것을 시사하였다.

[0308] 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) 및 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제(AST)의 간 중량 및 혈청 농도는 치료와 연관되는 간독성을 평가하기 위해 측정되었다. 도 23a 내지 도 23c에 도시된 바와 같이, 비히클 그룹과 비교하여 임의의 치료 그룹에 대한 간 중량, ALT 또는 AST 수준에서의 증가는 없었다. 데이터는 IL-15/IL-15R α Fc 용

합 단백질의 강한 항종양 효과가 간독성과 연관되지 않았다는 것을 시사한다.

[0309] 실시예 15

[0310] 마우스에서 확립된 CT26 고형 종양 성장에 대한 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 효과

[0311] 확립된 종양 모델에서 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 항종양 효능 및 면역학적 반응을 더 조사하기 위해, 암컷 Balb/C 마우스(10-12 주령)는 오른쪽 옆구리에서 피하로 1×10^5 CT26 세포로 주사되었다. 11일째 되는 날, 평균 종양 부피가 $\sim 70 \text{ mm}^3$ 이었을 때, 마우스는 3개의 그룹($n = 10/\text{그룹}$)으로 무작위화 되었고 무작위화의 동일한 날에 비히클 (PBS), 또는 P-0313(0.1 mg/kg 또는 0.05 mg/kg)의 복강내 주사를 받았다. 각각의 시험 체제의 하나의 추가적인 복강내 주사는 16일째에 수행되었다(총 2회 투여). 종양은 캘리퍼스를 사용하여 주 3회 측정되었고, 종양 부피는 다음과 같이 계산되었다: 부피 = $0.5 \times (\text{폭})^2 \times (\text{길이})$. 면역학적 반응을 연구하기 위해, 비-말단 말초 혈액은 19일째 되는 날 헤파린-처리된 튜브에서 수집되었다. 21일째 되는 날, 모든 마우스는 조직 채취를 위해 희생되었다.

[0312] 도 24a에 도시된 바와 같이, PBS-처리된 마우스는 큰 피하 종양을 빠르게 발달시켰다. 0.1 mg/kg 또는 0.05 mg/kg에서 P-0313으로의 마우스의 치료는 종양 성장을 지연시킬 시에 대략 동등하였다(도 24a). 각각의 개별 마우스에 대한 종양 성장 곡선은 모든 3개의 치료 그룹에 대해 플로팅되었다(도 25a 내지 도 25c). 마우스는 P-0313의 치료에 잘 반응하였고 2개의 시험된 용량 그룹에 대해 특히 초기 단계의 종양 성장에서 지연된 및 동조화된 억제력을 보였다는 것이 명백하다(도 25a 내지 도 25c). 종양 접종 후 21일째 되는 날, PBS-처리된 마우스의 평균 종양 부피는 두 용량(도 25a ** $P < 0.01$; Tukey의 사후 시험을 이용한 일원분산분석)에서 P-0313으로 처리된 마우스의 410 mm^3 대비 820 mm^3 이었다. 더 높은 용량(0.1 mg/kg)에서의 P-0313이 초기에 저-용량 그룹보다 종양 부하의 더 큰 감소를 보였지만, 차이는 치료가 진행됨에 따라 점점 줄어들었다는 점에 주목할 가치가 있다.

[0313] P-0313-처리된 마우스는 21일의 연구 과정에 걸쳐 PBS-처리된 마우스와 유사한 체중 증가를 입증하였으며(도 24b), P-0313가 잘 용인되고 두 시험된 용량에서 유의미한 독성과 연관되지 않는다는 것을 시사한다.

[0314] 다음으로, 우리는 말초 혈액 및 비장에서 CD8 T 세포 및 NK 세포 모집단에 대한 P-0313의 효과를 검사하였다. 종양을 갖는 마우스에 대한 P-0313의 투여는 강한 NK 세포 및 CD8 T 세포 증식(도 26a 및 도 26b) 및 NK 및 CD8 T 세포의 용량-의존적 확장(도 26c 및 26d), 비-종양을 갖는 마우스(실시예 13)에서 관측된 바와 유사한 정도의 면역 세포 반응을 유도하였다. 이들 두 림프구 모집단 중에서, 더 높은 배수 변화는 NK 세포에서 관측되었다(0.1 mg/kg 투여 그룹에 대해 ~ 100 배, 및 0.05 mg/kg 투여 그룹에 대해 ~ 38 배). CD8+ T 세포는 0.1 mg/kg 투여에서 ~ 5.4 배, 및 0.05 mg/kg 투여 그룹에 대해 ~ 2.7 배로 확장되었다.

[0315] P-0313은 또한 말초 혈액 내의 것들과 같이 비장에서 NK 및 CD8+T 세포 둘 다의 확장을 증진시켰지만(도 27a 및 도 27b), 비장에서 크기/배수 변화는 덜 심오하였다. 더 높은 배수 변화는 NK 세포에서 관측되었다(0.1 mg/kg 투여 그룹에 대해 ~ 10 배, 및 0.05 mg/kg 투여 그룹에 대해 ~ 8 배). CD8+ T 세포는 0.1 mg/kg 투여에 대해 ~ 2.7 배로 확장하였고, 0.05 mg/kg 투여 그룹에 대해 미미하게만 확장하였다.

[0316] 종합해 보면, 이들 데이터는 P-0313 치료가 고형 종양 성장을 유의미하게 지연 및 억제시킬 수 있었고 이러한 항종양 효과는 종양을 갖는 마우스에서 세포독성 NK 및 CD8 T 세포의 증식 및 확장과 연관되었다는 것을 입증하였으며, 이는 IL-15의 전체적인 면역조절 특성과 일치한다. P-0313이 효과기 기능이 결여된 Fc 영역을 가지고 있으므로, 생체내 P-0313의 항종양 활성은 종양 세포의 직접적인 살해로 인한 것이 아니라, 오히려 종양 세포에 대한 강력한 면역 반응을 위한 세포독성 CD8+ T 세포 및 NK 세포의 강력한 활성화로 인한 것이다.

[0317] 실시예 16

[0318] Balb/C 마우스에서 비-확립된 CT26 고체 종양 성장에 대한 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질의 효과

[0319] 유사한 연구는 P-0313의 항종양 효능을 확인하기 위해 비-확립된 CT26 종양 모델에서 수행되었다. 1×10^5 CT26 세포로 종양 세포 피하 생착 3일 후, 마우스는 총 5회 주사를 위해 5일마다 비히클(PBS) 또는 P-0313(0.1 mg/kg)의 주사를 받았다. 마우스는 25일에 종결되었고 종양은 주 2-3회 측정되었다.

[0320] 확립된 CT26 종양 모델(실시예 14)에서 볼 수 있는 바와 같이 유사하게, P-0313은 종양 성장의 현저한 억제(도 28a) 및 고형 종양 질량의 유의미한 감소(도 28b)를 입증하였다. 5회 반복 투여로, P-0313로 처리된 마우스는

비장 중량에서 중간 정도의 증가(도 29a) 및 체중 증가에서 비 유의미한 감소(도 29b)를 나타냈으며, P-0313이 잘 용인된다는 것을 시사한다.

[0321] 전반적으로, 이들 데이터는 P-0313이 잘-용인된 안전성 프로파일을 갖는 종양 세포 전이 뿐만 아니라 고체 및 액체 종양에 대해 효과적인 면역치료법이라는 것을 더 입증하였다.

[0322] 실시예 17

[0323] IL-15 길항제 변이체/IL-15R α Fc 융합 단백질의 구조

[0324] 실시예 8 및 연관된 표 5 내지 표 7에 개시된 바와 같이, 아미노산 치환, 삽입, 및 결실을 포함하는 상당한 수의 IL-15 변이체는 ELISA 분석에서 IL-15R β 에 대한 감소된 결합을 야기하였다. 이러한 실시예에서, 추가적인 IL-15R β 교란 치환은 최적으로 약독화된 효능을 달성하는 것을 목표로 하는 IL-15/IL-15R α Fc 융합 단백질 형식의 IL-15 모이어티에 도입되었다. 본 발명자는 더 낮은 효능이 경로의 과활성화를 방지하고 원하지 않는 표적 싱크를 감소시킬 수 있고; 이와 같이 약독화된 활성을 갖는 IL-15 변이체/IL-15R α Fc 융합 단백질이 잠재적으로 감소된 독성 및 개선된 약동학을 야기할 수 있다고 추론하였다.

[0325] IL-15R β , S58, V63, 및 I68과의 계면에서의 3개의 IL-15 잔기, 1개의 YC- 상호작용 잔기 Q108은 효능 약독화를 목표로 하는 돌연변이유발을 위해 표적화되었다. 추가적으로, N-말단에서 다양한 길이의 아미노산 결실을 갖는 IL-15 변이체는 또한 유사하게 구성되었다.

[0326] 아미노산 치환 및 결실 및 그들의 대응하는 IL-15 변이체/IL-15R α Fc 융합 단백질은 표 8에 열거된다.

[0327] 표 8

[0328] 예시적 IL-15 길항제 변이체/IL-15R α Fc 융합 단백질.

[0329] (모두는 달리 명시되지 않는 한 2가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식을 갖는다)

IL-15 아미노산 치환/결실	IL-15 변이체 서열번호:	융합 단백질 ID
S58G	66	P-0739
S58H	67	P-0740
S58R	68	P-0741
S58Q	69	P-0742
S58I	70	P-0743
S58P	71	P-0744
V63A	72	P-0771
V63F	26	P-0184 ¹
V63K	73	P-0769
V63R	74	P-0770
I68F	26	P-0356
I68D	30	P-0357
I68H	31	P-0358
I68K	29	P-0738
I68Q	75	P-0736
I68G	76	P-0737
Q108S	34	P-0764 ²
Q108A	32	P-0793 ²
Q108M	33	P-0805 ²
Q108E	77	P-0797
Q108K	78	P-0796 ²
1-aa N-말단 결실	56	P-0866
2-aa N-말단 결실	57	P-0867
3-aa N-말단 결실	58	P-0868
4-aa N-말단 결실	59	P-0822

[0330]

[0331] ¹가 IL-15 (비-공유)/IL-15R α Fc 융합 형식

[0332] ²가 IL-15/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 형식

[0333] 실시예 18

[0334] IL-15 길항제 변이체/IL-15R α 항체 융합 단백질의 구조

[0335] 다양한 IL-15 길항제 변이체/IL-15R α Sushi 항체 융합 단백질이 제조 및 평가된다. 제조항 항체-사이토카인 융합 단백질(면역사이토카인)의 사용은 그들을 질병의 부위로 표적화함으로써 사이토카인의 치료 지수 (therapeutic index)를 향상시킬 수 있다고 기술 분야에서 이해된다. 종양-표적화 항체에 더하여, 종양 미세환경에서 면역억제 효과를 우회시키는 면역 관문 차단 항체 또는 기존 반응을 강화시키는 면역-자극 항체의 사용은 또한 항체-사이토카인 융합 단백질을 구성하기 위해 사용될 수 있다. 면역 관문 차단 항체-사이토카인 융합 단백질은 종양에 대한 면역계의 활성을 더 향상시킬 것으로 기대된다. 본 발명자는 악독화된 활성을 갖는 IL-15 변이체의 사용이 사이토카인 아암과 항체 아암 사이의 화학양론적 균형의 확립을 용이하게 할 개선성이 있다고 제안한다. 또한, 사이토카인 활성 감쇠는 말초 활성화를 최소화하고, 항원-싱크를 완화시키고, 항체 아암을 통한 종양 표적화를 촉진시킬 것으로 기대된다.

[0336] 이러한 개념에 따라서, 다양한 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질이 구성되었다. 예시적 항체는 서열번호: 111-120에 제시된 서열을 갖는 다양한 PD-1 길항제 항체; PD-L1 차단 항체(서열번호: 121-122); 항-CTLA4 항체(서열번호: 123-124); CD40 작용성 항체(서열번호: 125-126); 도메인 외(extra-domain) 피브로넥틴에 대해 지향되는 L19 항체(서열번호: 127-128); CD20에 대해 지향되는 리투시맵(서열번호: 129-130); Her-2에 대해 지향되는 항체 트라스트주맵(서열번호: 131-132); EGFR에 대해 지향되는 세툽시맵(서열번호: 133-134); 종양-표적화 및 보유를 위한 항-FAP 항체(서열번호: 109-110)를 포함하는 융합 단백질의 제조에 사용된다.

[0337] IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질을 제조하기 위해, 위에 열거된 항체의 중쇄의 CH1-CH2-CH3(EU 넘버링에 기초한 항체 잔기 118-447) 도메인은 **FcγRs** 및 C1q에 대한 결합을 폐지하지만, FcRn 결합 또는 PK를 유지하기 위해 L234A, L235A, G237A 돌연변이를 포함하는 서열번호: 135에 제시되는 IgG1 서열로 대체되었다. IL-15 변이체 펩타이드는 표 6에 열거되는 서열을 갖는 펩타이드 링커를 통해 Fc 도메인의 C-말단에 융합된다. 대안적으로, 1가 IL-15 변이체를 발현시키기 위해, 위에 열거된 항체의 중쇄의 CH1-CH2-CH3 도메인은 서열번호: 136-137에 제시된 이중이량체 사슬로 대체되었다. IL-15 변이체 펩타이드는 펩타이드 링커를 통해 knob-into-hole) 기술을 사용하여 조작용 이중이량체 중쇄의 C-말단에 융합된다. 반감기 연장 돌연변이, 예를 들어, N434A는 이중이량체 또는 이중이량체 Fc 사슬로 더 통합될 수 있다. 2가 IL-15/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질을 생성하는 더 다른 접근법은 IL-15 변이체 펩타이드를 펩타이드 링커를 통해 경쇄의 C-말단에 융합시키는 것이다. 모든 경우에서, IL-15R α는 IL-15 모이어티와 공-발현되고 비-공유적으로 복합체화된다. 예시적 IL-15 변이체/IL-15R α Sushi- PD-1 길항제 항체 융합 단백질은 표 9에 열거되고 그들의 만화도는 도 30에 예시된다.

[0338] 표 9

[0339] 예시적 IL-15 길항제 변이체/IL-15R α-PD-1 길항제 항체 융합 단백질

IL-15 아미노산 치환/결실	항체 융합 서열번호:	IL-15/IL-15Rα 원자가	단백질 ID
Q108S	138 + 114 + 5	이량체	P-0820
Q108S	139 + 144 + 114 + 5	단량체	P-0801
Q108A	140 + 144 + 114 + 5	단량체	P-0821
I68G	142 + 144 + 114 + 5	단량체	P-0856
V63A/I68G	143 + 144 + 114 + 5	단량체	P-0857
V63A/I68G	145 + 114 + 5	이량체	P-0858
V63A/I68H	141 + 114 + 5	이량체	P-0870
2-aa N-말단 결실	146 + 114 + 5	이량체	P-0886
4-aa N-말단 결실	147 + 114 + 5	이량체	P-0887
2-aa N-말단 결실 + V63A	148 + 114 + 5	이량체	P-0888

[0340]

[0341] 유전자 합성, 발현 벡터 구성, 및 단백질 생산, 정제, 및 특성화는 실시예 1에 상세화된 동일한 절차를 따라 수행되었다. 모든 IL-15 변이체/IL-15R α -PD-1 길항제 항체 융합 단백질은 낮은 응집 경향을 갖는 부모 항체와 비교가능한 적절한 생산성으로 발현되었다(미도시된 데이터).

[0342] 실시예 19

[0343] IL-15 변이체 /IL-15R α 융합 단백질은 생체의 기능적 활성화에서 다양한 수준의 효능 조절을 입증한다

[0344] 예시적 IL-15 변이체/IL-15R α Fc 융합 단백질(단량체 또는 이량체)은 CD8 T 세포에서 Ki67 발현을 측정함으로써 세포 증식을 자극하는 그들의 능력에 대해 스크리닝되었다. 인간 PBMC는 IL-15 융합 분자의 증가된 용량으로 처리되었고 Ki67 발현은 이전에 설명된 바와 같이 CD8+ T 세포 집단 상에 게이팅되는 세포내 FACS 분석에 의해 결정되었다. 향상된 결합 및 기능적 활성을 갖는 S58D 치환을 함유하는 2가 IL-15/IL-15R α sushi (비-공유) Fc 융합인 P-0313은 그것이 광범위하게 특성화되었음에 따라 양성 대조군으로서 사용되었다.

[0345] 도 31a에 예시된 바와 같이, IL-15 잔기 S58을 다양한 크기, 용해도, 및 이온화 특성의 아미노산으로 대체하는 것은 단지 CD8 T 세포 증식을 자극할 시의 효능을 미미하게 조절하였다. 표 10A는 CD8 T 세포 증식을 자극할 시의 예시적 변이체의 EC₅₀ 값을 요약한다. P-0313과 비교하여, 모든 변이체는 약간 감소된 효능을 나타내며; 감소는 범위가 1.7배에서 7배에 이른다.

[0346] 표 10A

[0347] CD8 T 세포 증식 효능에 대한 S58에서의 아미노산 변화의 영향

단백질 ID	치환	EC ₅₀ (pM)	P-0313 대비 배수 변화
P-0313	S58D	20	1
P-0739	S58G	41.5	2.1
P-0740	S58H	63.3	3.2
P-0741	S58R	95.8	4.8
P-0742	S58Q	139	7
P-0743	S58I	78.6	3.9
P-0744	S58P	34.3	1.7

[0348]

[0349] 마찬가지로, 위치 V63에서 치환을 포함하는 예시적 IL-15 변이체/IL-15R α Fc 융합은 단지 도 31B에 예시된 바와 같이 CD8 T 세포 약독화의 중간 약독화를 야기하였다. CD8 T 세포 증식을 자극할 시의 변이체의 EC₅₀ 값 및 P-0313과 비교하여 배수 감소는 표 10B에 요약된다.

[0350] 표 10B

[0351] CD8 T 세포 증식 효능에 대한 V63에서의 아미노산 변화의 영향

단백질 ID	치환	EC ₅₀ (pM)	P-0313 대비 배수 변화
P-0313	S58D	32	1
P-0739	V63K	359.8	11.3
P-0740	V63R	184.4	5.8
P-0741	V63A	131.7	4.2

[0352]

[0353] 잔기 S58 및 V63과 대조적으로, 다수의 IL-15R β 잔기와 반테르 바알스 상호작용을 형성하는 위치 I68에서의 아미노산 치환은 700배 차이의 정도인, 범위가 0.4 nM에서 ~300 nM에 이르는 EC₅₀을 갖는 CD8 T 세포를 증식 시 광범위한 효능을 갖는 변이체를 산출하였다. P-0313과 비교하여, 활성 약독화 수준은 10배 내지 7000배에 걸친다. 데이터는 도 31C에 예시되고 표 10C에 요약된다.

[0354] 표 10C

[0355] CD8 T 세포 증식 효능에 대한 I68에서의 아미노산 변화의 영향

단백질 ID	치환	EC50 (pM)	P-0313 대비 배수 변화
P-0313	S58D	44	1
P-0358	I68H	419	9.5
P-0356	I68F	1251	29
P-0736	I68Q	4473	102
P-0737	I68G	14466	330
P-0738	I68K	24842	564
P-0357	I68D	~296000	~6727

[0356]

[0357] IL-15 기능적 활성을 약독화시키기 위해 표적화되는 더 다른 잔기는 Q108이며, 이는 **YC**의 다수의 잔기와 상호 작용하는 중요한(critical) 핫스팟 잔기이다. Q108S 및 Q108A 돌연변이 각각을 포함하는 P-0763 및 P-0793인 두 예시적 IL-15 Q108 변이체/IL-15R α Fc 융합 단백질은 CD8 T 세포 증식에서 유의미하게 감소(>1000배)를 나타냈다(도 31d 및 표 10D).

[0358] 표 10D

[0359] CD8 T 세포 증식 효능에 대한 Q108에서의 아미노산 변화의 영향

단백질 ID	치환	EC50 (pM)	P-0313 대비 배수 변화
P-0313	S58D	32	1
P-0764	Q108S	62051	1956
P-0793	Q108A	68817	2169

[0360]

[0361] 원하는 활성 약독화(attenuation)를 달성하기 위해 IL-15R β 및/또는 **YC** 수용체 서브유닛으로 계면에서 IL-15 잔기를 치환하는 것에 더하여, N-말단 결실은 동일한 목적을 달성하기 위한 다른 방안을 제공한다. IL-15의 N-말단은 알파 나선의 일부이며, 이는 IL-15R β 및 **YC**와 상호작용하는 중요한 잔기, 예를 들어 Asp8 및 Lys10을 함유한다. IL-15 N-말단 각각에서 1, 2, 3, 및 4 아미노산 결실을 함유하는 2가 IL-15 변이체/IL-15R α (비-공유) Fc 융합 단백질인 P-0866, P-0867, P-0868, 및 P-822는 인간 PBMC 분석에서 분석되었다. 도 32에 예시된 바와 같이, 1-아미노산 결실은 그것의 야생형 IL-15 카운터파트인 P-0234와 비교할 때 CD8 T 세포 증식을 자극할 시의 P-0866의 효능에 영향을 미치지 않았다. 대조적으로, P-0867의 2-아미노산 결실은 약 100배 효능 감소(P-0234에 대해 24.8 nM 대 289 pM의 EC₅₀)를 야기하였다. P-0868 결실의 하나의 추가적인 아미노산 결실은 기능(functional)을 더 감소시키지 않았다. 그러나, 하나의 여분의 아미노산 결실 또는 총 4개의 아미노산 결실은 융합 단백질 P-0822의 생물학적 활성을 본질적으로 폐지하였다.

[0362] 또한, IL-15R β 및/또는 **YC** 상호작용을 교란하는 IL-15 아미노산 치환의 조합은 다양한 수준의 효능 약독화를 야기할 것으로 간주되었다. V68H, I68Q, 및 I68G를 포함하는, 표 8에 설명되는 I68에서의 바람직한 돌연변이 중 하나 및 V63A를 통합하는 예시적 조합 돌연변이는 제작되었고 인간 PBMC에서 CD8 T 세포 증식에 대해 평가되었다. 치환을 교란하는 IL-15R β의 조합은 CD8 T 세포 증식 효능의 증분(incremental) 약독화를 야기하였다(표 11). P-0313과 비교하여, V63A 치환으로 인해 4.2배 효능 감소가 있었고, V63A는 각각 I68H, I68Q, 및 I68G의 돌연변이 맥락의 CD8 T 세포 증식 효능에서 2.1배, 4.3배, 및 3.8배 약독화를 일관되게 야기하였다. 데이터는 또한 도 33a에 예시된다. 마찬가지로, N-말단 아미노산 결실의 맥락에서 V63A 아미노산 치환을 첨가하는 것은 또한 CD8 T 세포 증식 효능에서 3배 약독화를 초래하였으며, 이는 P-0886 및 P-0888에 의해 예시화되었고 도 33b에 예시되었다. 두 화합물은 IL-15의 N-말단에서 2-아미노산 결실을 포함하는 IL-15 변이체/IL-15R α PD-1 항체 융합 단백질이다. P-0888은 하나의 추가적인 V63A 돌연변이를 함유한다.

[0363] 표 11

[0364] CD8 T 세포 증식 효능에 대한 IL-15R β -교란 아미노산 치환의 예시적 조합의 영향

치환	서열번호:	융합 단백질 ID	EC50 (pM)	P-0313 대비 배수 변화	V63A의 영향 (배수 변화)
S58D	24	P-0313	31.7	1	N/A
V63A	72	P-0771	132	4.2	4.2
I68H	31	P-0358	683	21.5	N/A
V63A/I68H	79	P-0773	1418	45	2.1
I68Q	75	P-0736	3614	114	N/A
V63A/I68Q	80	P-0772	15379	485	4.3
I68G	76	P-0737	12783	403	N/A
V63A/I68G	81	P-0768	48015	1513	3.8

[0365]

[0366] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 다양한 레벨의 효능 약독화를 갖는 추가적인 돌연변이는 표 8에 설명되는 바람직한 돌연변이, 예를 들어, V63K/Q108M, I68H/Q108K를 조합함으로써 획득될 수 있다. 임의의 추가적인 조합 돌연변이는 본 발명의 사상 및 범위와 함께 제공된다.

[0367] 대표적인 IL-15 변이체/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질인 P-0736, P-0772, P-0737, P-768, P-0793, 및 P-0764는, 범위가 3.6 nM에서 69 nM에 이르는 CD8 T 세포 Ki67 EC₅₀으로, 이전에 설명된 바와 같이 Ki67 발현을 측정함으로써 NK 세포 증식을 자극하는 그들의 능력에 대해 추가로 시험되었다. 데이터는 도 34a 및 34b에 예시되고 EC₅₀ 값은 표 12에 요약되었다.

[0368] 표 12

[0369] 대표적인 IL-15 변이체 /IL-15R α Sushi 융합 단백질의 CD8 T 및 NK 세포 증식 효능

단백질 ID	치환	CD8 T 세포		NK 세포	
		EC50 (pM)	P-0313 대비 배수 변화	EC50 (pM)	P-0313 대비 배수 변화
P-0313	S58D	31.7	1	13	1
P-0736	I68Q	3614	114	416	32
P-0772	V63A/I68Q	15379	485	1110	85
P-0737	I68G	12783	403	2064	159
P-0768	V63A/I68G	48015	1515	5852	450
P-0793	Q108A	68817	2171	4125	317
P-0764	Q108S	62051	1957	9746	750

[0370]

[0371] 유사하게, CD8 T 세포에서 관찰된 바와 같이, 대표적인 IL-15 변이체/IL-15R α Sushi Fc 융합 단백질은 또한 범위가 0.42 nM에서 9.7 nM에 이르는 EC₅₀으로 NK 세포 증식을 자극할 시의 광범위한 효능 범위를 입증하였다. P-0313과 비교하여, 각각의 분자의 효능은 현저하게 약독화되었으며; 효능 감소의 수준은 CD8 T 세포에 대해 100배 내지 2000배에 걸치고 범위가 NK 세포에 대해 범위가 30배 내지 750배에 이른다. 각각의 분자는 CD8 T 세포를 증식할 시의 유사한 효능 랭킹을 따랐지만, 모든 화합물은 NK 세포에 더 많이 반응한다.

[0372] 최종적으로, Fc 융합 형식이든 항체 융합 형식이든 IL-15/IL-15R α 복합체는 이상적인 생물학적 활성을 입증하였다는 것이 도 35에 명확하게 예시된다. 도 35a의 P-0773 및 P-0870 둘 다는 V63A/I68H 아미노산 치환을 포함하고 각각 IL-15/IL-15R α Fc 융합 및 항체 융합이다. 도 35b의 P-0867 및 P-0886은 IL-15의 N-말단에서 2-아미노산 결실을 포함하는 유사한 쌍이다.

[0373] 요약하면 그리고 중요하게는, IL-15 모이어티로 개별적으로 또는 조합으로 IL-15R β 교란 아미노산 치환 또는 결실의 도입은 CD8 T 세포 및 NK 세포에 의해 표현되는 세포독성 림프구를 자극할 시의 광범위한 효능을 갖는 IL-15 변이체를 야기하였다. 상이한 돌연변이 또는 돌연변이 조합에 의한 활성 약독화의 레벨은 Fc 융합 및 항체 융합 단백질에서 동일하였다.

[0374] 본원에 개시 및 청구되는 모든 물품 및 방법은 본 개시를 고려하여 과도한 실험 없이 이루어지고 실행될 수 있

다. 본 개시의 물품 및 방법은 바람직한 구현예의 관점에서 설명되었지만, 변형이 본 개시의 사상 및 범위로 부터 벗어나는 것 없이 물품 및 방법에 적용될 수 있다는 것이 당업자에게 명백할 것이다. 당업자에게 명백한 모든 그러한 변형 및 등가물은, 현재 존재하든 또는 나중에 개발되든, 첨부된 청구항들에 의해 정의되는 바와 같은 본 개시의 사상 및 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 명세서에 언급되는 모든 특허, 특허 출원, 및 간행물은 본 개시가 관련되는 당업자의 수준을 나타낸다. 모든 특허, 특허 출원, 및 간행물은 모든 목적을 위해 그리고 각각의 개별 공보가 임의의 및 모든 목적을 위해 전체적으로 참고로 편입되도록 지시되는 바와 같은 동일한 정도로 전체적으로 참고로 본원에 편입된다. 본원에 적합하게 실례로 설명되는 본 개시는 본원에 구체적으로 개시되지 않는 임의의 요소(들)의 부재에서 실시될 수 있다. 따라서, 본 개시는 바람직한 구현예 및 선택적인 특징에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본원에 개시되는 개념의 변형 및 변동은 당업자에 의해 재분류될 수 있고, 그러한 수정 및 변형은 첨부된 청구항들에 의해 정의되는 바와 같은 본 개시의 범위 내에 있는 것으로 간주되는 것이 이해되어야 한다.

- [0375] 서열 목록
- [0376] 첨부된 서열 목록에 열거되는 아미노산 서열은, 37 C.F.R. 1.822에 정의되는 바와 같이, 아미노산에 대한 표준 문자 약어를 사용하여 도시된다.
- [0377] 서열번호: 1은 인간 IL-15 전구체 아미노산 서열이다.
- [0378] 서열번호: 2는 인간 IL-15 성숙한 형태의 아미노산 서열이다.
- [0379] 서열번호: 3은 인간 IL-15R α 아미노산 서열이다.
- [0380] 서열번호: 4는 인간 IL-15R α, 세포외 도메인 아미노산 서열이다.
- [0381] 서열번호: 5는 인간 IL-15R α, 스시 도메인+ 아미노산 서열이다.
- [0382] 서열번호: 6은 인간 IgG1-Fc 아미노산 서열이다.
- [0383] 서열번호: 7은 knob(Knob)-Fc 아미노산 서열이다.
- [0384] 서열번호: 8은 hole(Hole)-Fc 아미노산 서열이다.
- [0385] 서열번호: 9-12는 다양한 펩타이드 링커의 아미노산 서열이다.
- [0386] 서열번호: 13은 hole(Hole)-Fc-링커 1-IL-15 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0387] 서열번호: 14는 knob(Knob)-Fc-링커 1-IL-15R α-Sushi+ 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0388] 서열번호: 15는 IL-15-링커 4-hole(Hole)-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0389] 서열번호: 16은 IL-15R α-Sushi+-링커 4-knob-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0390] 서열번호: 17은 knob(Knob)-Fc-링커 2-IL-15R α-Sushi+ 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0391] 서열번호: 18은 hole(Hole)-Fc-링커 2-IL-15 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0392] 서열번호: 19는 IL-15-링커 3-hole-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0393] 서열번호: 20은 Fc-링커 3-IL-15 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0394] 서열번호: 21은 IL-15-링커 3-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0395] 서열번호: 22는 knob(Knob)-Fc-링커 2-IL-15R α-Sushi+ 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0396] 서열번호: 23은 Fc-링커 2-IL-15R α-Sushi+ 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0397] 서열번호: 24 내지 45는 다양한 IL-15 변이체 폴리펩타이드의 아미노산 서열이다.
- [0398] 서열번호: 46은 Fc-링커 3-IL-15 S58D 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0399] 서열번호: 47은 펩타이드 링커의 아미노산 서열이다.
- [0400] 서열번호: 48은 hole(Hole)-Fc-링커 3-IL-15-S58D 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0401] 서열번호: 49는 IL-15-S58D-링커 3-hole(Hole)-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.

- [0402] 서열번호: 50은 IL-15-S58D-링커 3-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0403] 서열번호: 51은 IL-15R α-Sushi+링커 2-놉(Knob)-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0404] 서열번호: 52는 IL-15R α-Sushi+링커 2-Fc 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0405] 서열번호: 53은 홀(Hole)-Fc-링커 1-IL-15-S58D 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0406] 서열번호: 54는 홀(Hole)-Fc-링커 3-IL-15 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0407] 서열번호: 55는 놉(Knob)-Fc-링커 1-IL-15 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0408] 서열번호: 56-63은 N-말단 결실을 포함하는 다양한 IL-15 변이체 폴리펩타이드의 아미노산 서열이다.
- [0409] 서열번호 64 및 65는 벤치마크의 2개의 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열이다.
- [0410] 서열번호: 66-81은 다양한 IL-15 변이체 폴리펩타이드의 아미노산 서열이다.
- [0411] 서열번호: 82-104는 다양한 IL-15 변이체 Fc 융합 작제물의 아미노산 서열이다.
- [0412] 서열번호: 105-106은 감소된/폐지된 효과기 기능 및 연장된 반감기 서열을 갖는 인간 IgG1-Fc 아미노산 서열이다.
- [0413] 서열번호: 107은 연장된 반감기 아미노산 서열을 갖는 놉(Knob)-Fc이다.
- [0414] 서열번호: 108은 연장된 반감기 아미노산 서열을 갖는 홀(Hole)-Fc이다.
- [0415] 서열번호: 109-110은 인간화된 항-FAP 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0416] 서열번호: 111-112는 인간화된 PD-1 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0417] 서열번호: 113-114는 인간 PD-1 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0418] 서열번호: 115-116은 PD-1 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0419] 서열번호: 117-118은 PD-1 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0420] 서열번호: 119-120은 PD-1 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0421] 서열번호: 121-122는 PD-L1 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0422] 서열번호: 123-124는 CTLA-4 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0423] 서열번호: 125-126은 CD40 작용제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0424] 서열번호: 127-128은 항-피브로넥틴 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0425] 서열번호: 129-130은 CD20 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0426] 서열번호: 131-132는 Her-2/neu 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0427] 서열번호: 133-134는 EGFR 길항제 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0428] 서열번호: 135는 감소된/폐지된 Fc 효과기 기능을 갖는 인간 IgG1 CH1CH2CH3 도메인 서열의 아미노산 서열이다.
- [0429] 서열번호: 136은 감소된/폐지된 Fc 효과기 기능을 갖는 인간 IgG1 CH1CH2CH3 도메인 놉 사슬 서열의 아미노산 서열이다.
- [0430] 서열번호: 137은 감소된/폐지된 Fc 효과기 기능을 갖는 인간 IgG1 CH1CH2CH3 도메인 홀 사슬 서열의 아미노산 서열이다.
- [0431] 서열번호: 138-148은 다양한 예시적 IL-5/IL-15R α Sushi-항체 융합 단백질의 아미노산 서열이다.
- [0432] 서열번호: 149-152는 다양한 IL-15 결실 변이체 Fc 융합 작제물의 아미노산 서열이다.
- [0433] 서열번호: 153-154는 다양한 펩타이드 링커의 아미노산 서열이다.

[0434] 서열 목록

인간 IL-15 전구체 서열

MRISKPHLRISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSGAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSM
HIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVTENLIILANNSLSSNGNVTESGC
KECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 1)

인간 IL-15 성숙한 형태의 서열

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 2)

인간 IL-15 α 서열

MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFK
RKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLSKCIRDPAVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGK
EPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASH
QPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVE
MEAMEALPVTWGTSSRDELENCSHHL (서열번호: 3)

인간 IL-15 α , 세포외 도메인

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLSKCI
RDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKS
PSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT (서열번호: 4)

인간 IL-15 α , 스치 도메인+

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLSKCI
RDPALVHQRPAPP (서열번호: 5)

감소된 효과기 기능을 갖는 인간 IgG1-Fc

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 6)

늑(Knob)-Fc

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPDSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 7)

홀(Hole)-Fc

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 8)

[0435]

펩타이드 링커 서열
EPKSSDKTHTSPPSP (서열번호: 9)

펩타이드 링커 서열
GGGGSGGGGS (서열번호: 10)

펩타이드 링커 서열
GGGGSGGGSGGGGS (서열번호: 11)

펩타이드 링커 서열
GSGS (서열번호: 12)

홀(Hole)-Fc-링커 1-IL-15 사슬
DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGEPKSSDKTHTSPPSPNWNVISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCSKVTAMKCFLELQVISLESGLDASIHDTVENLIILANNSLSSN
GNVTESGCKECELEEKNIFEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 13)

놉(Knob)-Fc-링커 1-IL-15 α -Sushi+ 사슬
DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPSSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGEPKSSDKTHTSPPSPITCPPMMSV
EHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAHVHQR
PAPP (서열번호: 14)

IL-15-링커 4-홀(Hole)-Fc 사슬
NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCSKVTAMKCFLELQVISLESGLDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIFEFLQSFVHIVQMFINTSGCCPPCPAPEAAGAPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLSCA
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 15)

IL-15 α -Sushi+-링커 4-놉(Knob)-Fc 사슬
ITCPPMMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC
IRDPAHVHQRPAAPGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 16)

놉(Knob)-Fc-링커 2-IL-15 α + 사슬
DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPSSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYS

[0436]

KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHAD
IWKYSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKCIRDPAVHQRPAPP
(서열번호: 17)

홀(Hole)-Fc-링커 2-IL-15 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSNWNVISDLKKIED
LIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINITS (서열번호: 18)

IL-15-링커 3-홀(Hole)-Fc 사슬

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINITSGGGGGSGGGSGGGGSC
PPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS
RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 19)

Fc-링커 3-IL-15 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGSGGGGSNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINITS (서열번호: 20)

IL-15-링커 3-Fc 사슬

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINITSGGGGGSGGGSGGGGSC
PPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSRDELTKNQVSLTCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS
RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 21)

놉(Knob)-Fc-링커 2-IL-15 α -Sushi+ 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPSPREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHAD
IWKYSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKCIRDPAVHQRPAPP
(서열번호: 22)

Fc-링커 2-IL-15 α -Sushi+ 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK

[0437]

LTVDKSRWQQGNVFSQSMHEALHNNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHADI
WVKSYSLYSRERYICNSGFKRAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKCIRDPAVHQRPAPP
(서열번호: 23)

인간 IL-15 S58D 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 24)

인간 IL-15 T62D 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 25)

인간 IL-15 V63F 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTFENLI
ILANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 26)

인간 IL-15 I67V 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
VILANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 27)

인간 IL-15 I68F 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
FLANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 28)

인간 IL-15 I68K 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
KLANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 29)

인간 IL-15 I68D 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
DLANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 30)

인간 IL-15 I68H 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
HLANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 31)

인간 IL-15 Q108A 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVAMFINTS (서열번호: 32)

인간 IL-15 Q108M 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTEGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVMMFINTS (서열번호: 33)

인간 IL-15 Q108S 변이체 폴리펩타이드

[0438]

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVSMFINTS (서열번호: 34)

인간 IL-15 Q108S/D30T 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVSMFINTS (서열번호: 35)

인간 IL-15 Q108S/V31Y 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVSMFINTS (서열번호: 36)

인간 IL-15 Q108S/H32E 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVSMFINTS (서열번호: 37)

인간 IL-15 Q108S/D30T/V31Y/H32E 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVSMFINTS (서열번호: 38)

인간 IL-15 결실 111-114 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMF (서열번호: 39)

인간 IL-15 결실 109-114 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQ (서열번호: 40)

인간 IL-15 결실 108-114 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIV (서열번호: 41)

인간 IL-15 결실 105-114 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFV (서열번호: 42)

N95 변이체 폴리펩타이드 후 인간 IL-15 삽입 'GS'

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNGSIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 43)

N95 변이체 폴리펩타이드 후 인간 IL-15 삽입 'GGSGG'

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNGSGGSIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 44)

N95 변이체 폴리펩타이드 후 인간 IL-15 삽입 'GSSGGSGGS'

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNGSGSGSGSIKEFLQSFVHIVQMFINTS

[0439]

(서열번호: 45)

Fc-링커 3-IL-15 S58D 사슬
DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGSNWVNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDADIHDTVENLILANNLSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHVQMFINITS (서열번호: 46)

펩타이드 링커 서열
GGGGSGGGG (서열번호: 47)

홀(Hole)-Fc-링커 3-IL-15 S58D 사슬
DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGSNWVNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDADIHDTVENLILANNLSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHVQMFINITS (서열번호: 48)

IL-15 S58D-링커 3-홀(Hole)-Fc 사슬
NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDADIHDTVENL
ILANNLSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHVQMFINITSGGGGGGGGGGGGGGGGSC
PPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS
RWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 49)

IL-15 S58D-링커 3-Fc 사슬
NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDADIHDTVENL
ILANNLSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHVQMFINITSGGGGGGGGGGGGGGGGSC
PPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSRDELTKNQVSLTCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS
RWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 50)

IL-15R α -Sushi-링커 2-놈(Knob)-Fc 사슬
ITCPPPMSEVHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC
RDPALVHQRPAPPGGGGSGGGGSCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(서열번호: 51)

IL-15R α -Sushi-링커 2-Fc 사슬

[0440]

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI
RDPALVHORPAPPGGGGSGGGGSCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(서열번호: 52)

홀(Hole)-Fc-링커 1-IL-15-S58D 사슬

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGEPKSSDKTHTSPSPNWNVNISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSN
GNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 53)

홀(Hole)-Fc-링커 3-IL-15 사슬

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGSNWNVNISD
LKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 54)

놉(Knob)-Fc-링커 1-IL-15 사슬

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGEPKSSDKTHTSPSPNWNVNISDL
KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 55)

N-말단에서 1 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체

WVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLI
LANNSSNNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 56)

N-말단에서 2 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체

VNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIIL
ANNSLSSNNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 57)

N-말단에서 3 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체

NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILAN
NSLSSNNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 58)

N-말단에서 4 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체

[0441]

VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANN
LSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 59)

N-말단에서 5 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체

ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNS
LSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 60)

N-말단에서 6 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 변이체

SDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNS
LSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 61)

N-말단에서 2 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 V63A 변이체

VNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTAENLIILA
NNLSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 62)

N-말단에서 2 아미노산 결실을 갖는 인간 IL-15 I68H 변이체

NNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIHL
ANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 63)

벤치마크 사슬 1

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI
REPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 64)

벤치마크 사슬 2

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLI
ILANDSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 65)

인간 IL-15 S58G 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAGIHDTVENL
IILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 66)

인간 IL-15 S58H 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAHIHDTVENL
IILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 67)

인간 IL-15 S58R 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDARIHDTVENL
IILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 68)

인간 IL-15 S58Q 변이체 폴리펩타이드

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAQIHDTVENL
IILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 69)

[0442]

인간 IL-15 S58I 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 70)

인간 IL-15 S58P 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAPIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 71)

인간 IL-15 V63A 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTAENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 72)

인간 IL-15 V63K 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTKENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 73)

인간 IL-15 V63R 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTRENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 74)

인간 IL-15 I68Q 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLI
QLANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 75)

인간 IL-15 I68G 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLI
GLANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 76)

인간 IL-15 Q108E 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 77)

인간 IL-15 Q108K 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLI
ILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 78)

인간 IL-15 V63A/I68H 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTAENLI
HLANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 79)

인간 IL-15 V63A/I68Q 변이체 폴리펩타이드
NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTAENLI
QLANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 80)

인간 IL-15 V63A/I68G 변이체 폴리펩타이드

[0443]

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHD TAENLI
GLANNLSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 81)

Fc-링커 3-IL-15 S58G 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAIHDTVENLILANNLSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 82)

Fc-링커 3-IL-15 S58H 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAIHDTVENLILANNLSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 83)

Fc-링커 3-IL-15 S58R 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDARIHDTVENLILANNLSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 84)

Fc-링커 3-IL-15 S58Q 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAIHDTVENLILANNLSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 85)

Fc-링커 3-IL-15 S58I 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAIHDTVENLILANNLSL
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 86)

Fc-링커 3-IL-15 S58P 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD

[0444]

LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAPIHDTVENLILANNLSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 87)

Fc-링커 3-IL-15 V63A 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNGVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAPIHDTAENLILANNLSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 88)

Fc-링커 3-IL-15 V63K 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNGVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAPIHDTKENLILANNLSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 89)

Fc-링커 3-IL-15 V63R 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNGVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAPIHDTRENLILANNLSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 90)

Fc-링커 3-IL-15 I68F 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNGVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAPIHDTVENLILANNLSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 91)

Fc-링커 3-IL-15 I68D 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNGVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAPIHDTVENLIDLANNLSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 92)

Fc-링커 3-IL-15 I68H 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNGVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGNWNVISD

[0445]

LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIHLANNLSL
SNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 93)

Fc-링커 3-IL-15 I68K 사슬

DKHTTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGQNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGNSWVNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIHLANNLSL
SNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 94)

Fc-링커 3-IL-15 I68Q 사슬

DKHTTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGQNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGNSWVNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIHLANNLSL
SNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 95)

Fc-링커 3-IL-15 I68G 사슬

DKHTTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGQNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGNSWVNVISD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIHLANNLSL
SNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 96)

홀(Hole) Fc-링커 1-IL-15 Q108S 사슬

DKHTTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGQNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGEPKSSDKTHTSPSPNWNVISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIHLANNLSLSSN
GNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVSMFINTS (서열번호: 97)

홀(Hole) Fc-링커 1-IL-15 Q108A 사슬

DKHTTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGQNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGEPKSSDKTHTSPSPNWNVISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIHLANNLSLSSN
GNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIVAMFINTS (서열번호: 98)

노브(Knob) Fc-링커 3-IL-15 Q108M 사슬

DKHTTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPSPREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGNSWVNVIS

[0446]

DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSL
SSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVMMFINTS (서열번호: 99)

놉(Knob) Fc-링커 3-IL-15 Q108E 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGSSNWNVIS
DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSL
SSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVEMFINTS (서열번호: 100)

놉(Knob) Fc-링커 3-IL-15 Q108K 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGSSNWNVIS
DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSL
SSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVKMFINTS (서열번호: 101)

Fc-링커 3-IL-15 V63A/I68H 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGSSNWNVIS
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTAENLIHLANNSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 102)

Fc-링커 3-IL-15 V63A/I68Q 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGSSNWNVIS
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTAENLIQLANNSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 103)

Fc-링커 3-IL-15 V63A/I68G 사슬

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGSSNWNVIS
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTAENLIGLANNSLS
SNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호: 104)

감소된/폐지된 효과가 가능 및 연장된 반감기를 인간 IgG1-Fc

DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDITLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 105)

[0447]

감소된/폐지된 효과기 기능 및 연장된 생체내 반감기를 갖는 인간 IgG1-Fc
DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHAHYTQKSLSLSPG (서열번호: 106)

연장된 생체내 반감기를 갖는 knob(Knob)-Fc
DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVCTLPSPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHAHYTQKSLSLSPG (서열번호: 107)

연장된 생체내 반감기를 갖는 hole(Hole)-Fc
DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPCREEMTKNQVSLTCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSK
LTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHAHYTQKSLSLSPG (서열번호: 108)

인간화된 항-FAP 항체 중쇄
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTENIIHWVRQAPGQGLEWMGWVHPGSGSIKYA
QKFQGRVTMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARHGGTGRGAMDYWGQGTLLTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
SSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPG (서열번호: 109)

인간화된 항-FAP 항체 카파 경쇄
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASRSISTSAYSIMHWYQQKPGKAPKLLIYLASNLESGVPS
RFGSGSGSDFTLTITSLQPEDFATYYCQHSRELPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 110)

인간 PD-1 길항제 항체 중쇄
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYRFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYA
QKLQGRVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDADYSSSGSYWGQGTLLTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPG (서열번호: 111)

인간 PD-1 길항제 항체 LA
SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVMVIYKDTERPSPGIPERFSG
SSSGTKVTLTISGVQAEDADYYCQADNSITYRVFGGGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEEL

[0448]

QANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSH
RSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (서열번호: 112)

인간화된 PD-1 길항제 항체-HC

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPG (서열번호: 113)

인간화된 PD-1 길항제 항체-Lc

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASITCKASQDVETVVAWYLQKPGQSPRLLIYWASTRHTGVPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCQQYSRYPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 114)

인간화된 PD-1 길항제 항체-HC

QQQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWMGVIESETGGTAYN
QKFKGRAKITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREGITTVATTYYWYFDVWGQGTITVTS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALH
NHYTQKSLSLSLGK (서열번호: 115)

인간화된 PD-1 길항제 항체-Lc

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSVHNSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP
DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQGSFVPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 116)

인간화된 PD-1 길항제 항체-HC

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNF
NEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNH
YTQKSLSLSLGK (서열번호: 117)

인간화된 PD-1 길항제 항체-Lc

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAASYLESQVPA
RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL

[0449]

KSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 118)

인간 PD-1 길항제 항체-HC

QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYA
DSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPL
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
EVTGVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
LGK (서열번호: 119)

인간 PD-1 길항제 항체-Lc

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSG
SGSGTDFLTITISLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 120)

인간화된 PD-L1 길항제 항체-HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAVISPYGGSTYYA
DSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGLTVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (서열번호: 121)

인간화된 PD-L1 길항제 항체-Lc

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEK
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 122)

인간 CTLA-4 길항제 항체-HC

QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISYDGNKYYA
DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (서열번호: 123)

인간 CTLA-4 길항제 항체-Lc

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGAFSRATGIPDRFS
GSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS

[0450]

GTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKH
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 124)

인간 CD40 작용제 항체-HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHVVRQAPGGLEWMGWNPDSGGTNY
AQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS
TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 125)

인간 CD40 작용제 항체-Lc

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYASTLQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 126)

인간화된 항-피브로넥틴 항체-HC

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAPGKLEWVSSISGSSGTTYYAD
SVKGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPPYFDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK (서열번호: 127)

인간화된 항-피브로넥틴 항체-Lc

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYASSRATGIPDRFS
GSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQTGRIPPTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 128)

키메라 항-CD20 항체-HC

QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPNGDTSYN
QKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWAGTTVTVSAAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK (서열번호: 129)

키메라 항-CD20 항체-Lc

[0451]

QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQKQPGSSPKPWYATSNLASGVPVRFSGS
GSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 130)

인간화된 항-Her2 항체-HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS
VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK (서열번호: 131)

인간화된 항-Her2 항체-Lc

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFS
GSRGTDFTLTITSLQPEDFATYYCQHQHYTTPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 132)

키메라 항-EGFR 항체-HC

QVQLKQSGPGLVQPSSSLITCTVSGFSLTNYGVHWRQSPGKGLEWLVGIWSSGNTDYNTP
FTSRLSINKDNSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (서열번호: 133)

키메라 항-EGFR 항체-Lc

DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSG
SGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNNNNWPTTFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA
SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYA
CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 134)

감소된/폐지된 효과기 기능을 갖는 인간 IgG1 CH1-CH2-CH3 도메인

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPG (서열번호: 135)

감소된/폐지된 효과기 기능 knob(knob) 사슬을 갖는 인간 IgG1 CH1-CH2-CH3 도메인

[0452]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 136)

감소된/폐지된 효과기 기능 홀(Hole) 사슬을 갖는 인간 IgG1 CH1-CH2-CH3 도메인
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLCAVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPG (서열번호: 137)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 Q108S 사슬
EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQQ
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTAM
KCFLELQVISLESGLDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHIV
SMFINTS (서열번호: 138)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 Q108S knob 사슬
EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQQ
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTA
MKCFLELQVISLESGLDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHI
VSMFINTS (서열번호: 139)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 Q108A knob 사슬
EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQQ
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCCKVTA

[0453]

MKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIHLANNLSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHI
VAMFINTS (서열번호: 140)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 V63A/I68H 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGTLLTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGGGGGGGGGGGSGGGSNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIHDTAENLIHLANNLSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFVHI
VQMFINIS (서열번호: 141)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 I68G knob 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGTLLTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGGGGGGGGGGGGSGGGSNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA
MKCFLLLELQVISLES GDASIHDTAENLIHLANNLSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFV
HIVQMFINIS (서열번호: 142)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 V63A/I68G knob 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGTLLTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGGGGGGGGGGGGSGGGSNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA
MKCFLLLELQVISLES GDASIHDTAENLIHLANNLSLSSNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFV
HIVQMFINIS (서열번호: 143)

PD-1 길항제 항체-HC 폴(hole) 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGTLLTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPG (서열번호: 144)

[0454]

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 V63A/I68G 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK
CFLLELQVISLES GDASIHDTAENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHI
VQMFINTS (서열번호: 145)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 N-말단 2-aa 결실 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK
CFLLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHI
VQMFINTS (서열번호: 146)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 N-말단 4-aa 결실 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK
CFLLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHI
VQMFINTS (서열번호: 147)

PD-1 길항제 항체-HC-IL-15 V63A & N-말단 2-aa 결실 사슬

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTYYP
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPDSSGVAYWGQGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK
CFLLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHI
VQMFINTS (서열번호: 148)

Fc-링커 3-IL-15 N-말단 1-aa 결실 사슬

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSS
NGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIQMFINTS (서열번호: 149)

Fc-링커 3-IL-15 N-말단 2-aa 결실 사슬

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSS
NGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIQMFINTS (서열번호: 150)

Fc-링커 3-IL-15 N-말단 3-aa 결실 사슬

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSS
NGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIQMFINTS (서열번호: 151)

Fc-링커 3-IL-15 N-말단 4-aa 결실 사슬

DKHTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSNNVVISDLK
KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSS
NGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIQMFINTS (서열번호: 152)

펩타이드 링커 서열

GGSGG (서열번호: 153)

펩타이드 링커 서열

GSSGGSGGS (서열번호: 154)

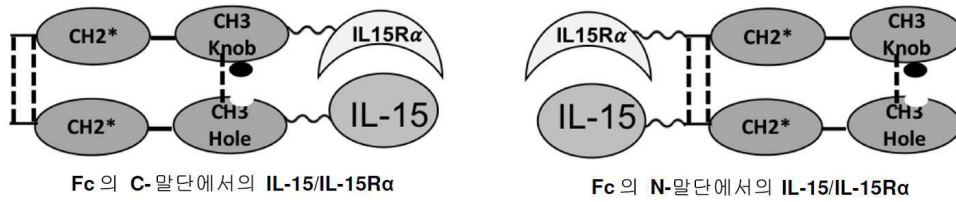
[0455]

[0456]

도면

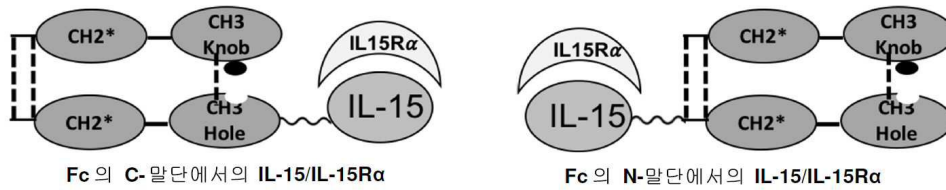
도면1a

IL-15/IL-15Rα 이종이량체 Fc 융합 형식



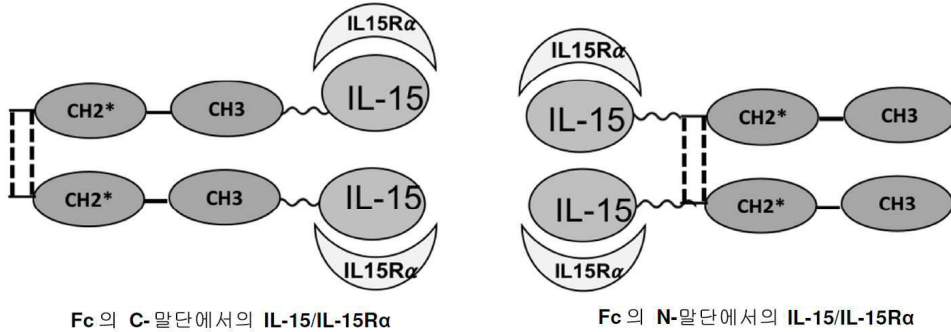
도면1b

1가 IL-15/IL-15Rα (비-공유) Fc 융합 형식



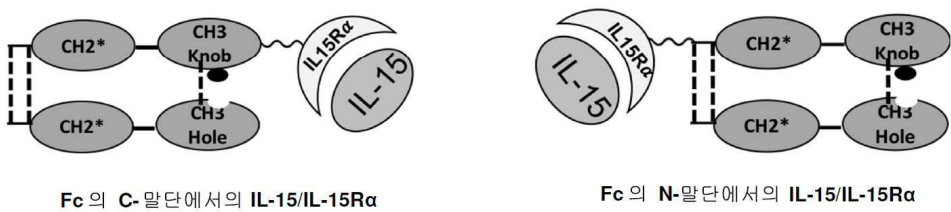
도면1c

2가 IL-15/IL-15Rα (비-공유) Fc 융합 형식



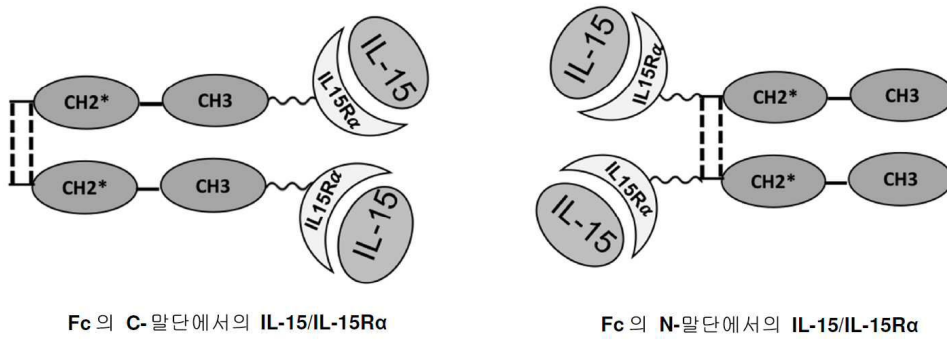
도면1d

1가 IL-15 (비-공유) IL-15Rα Fc 융합 형식

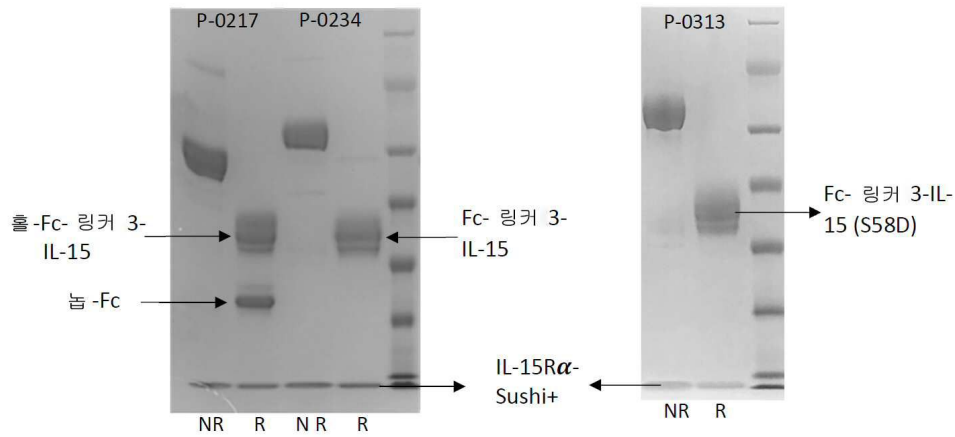


도면1e

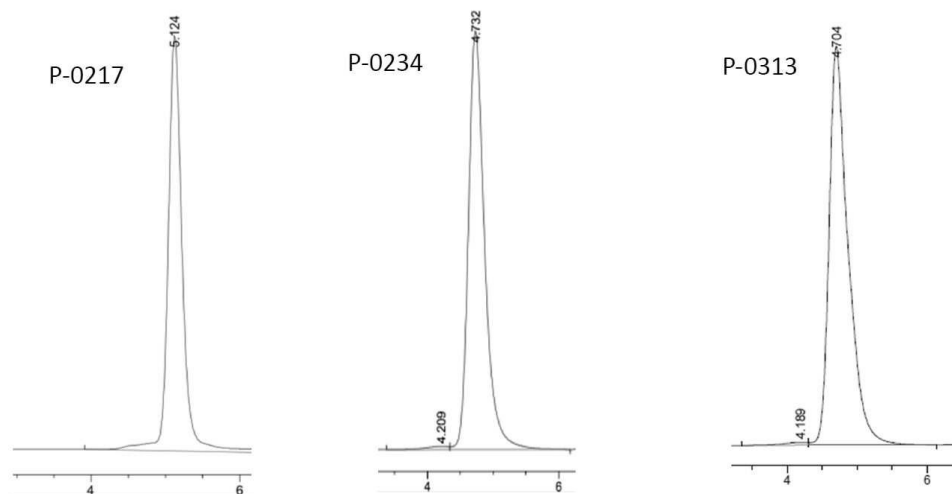
2가 IL-15 (비-공유)/IL-15Rα Fc 융합 형식



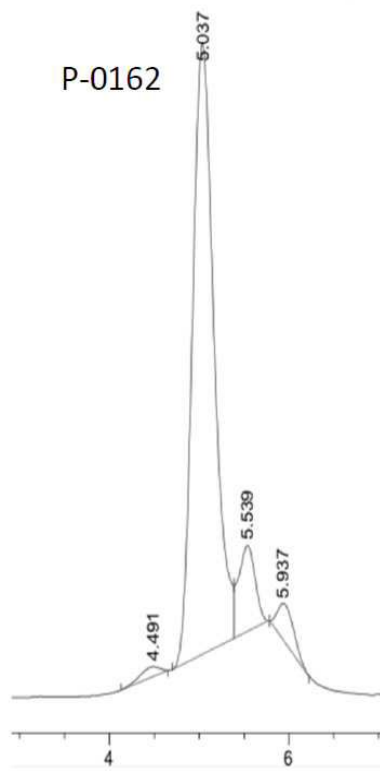
도면2a



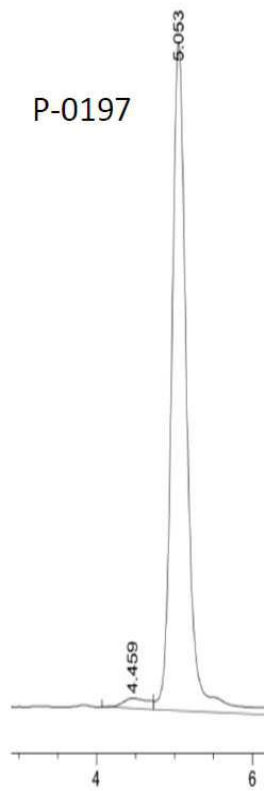
도면2b



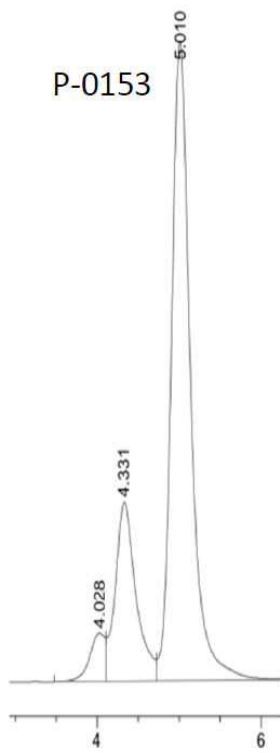
도면3a



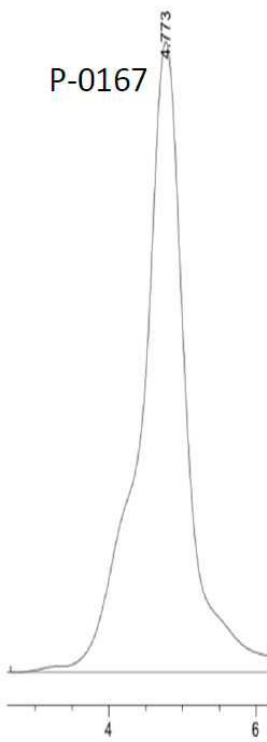
도면3b



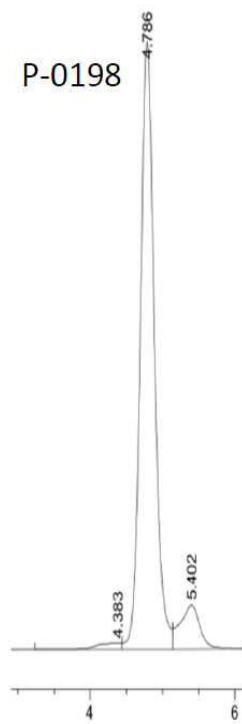
도면3c



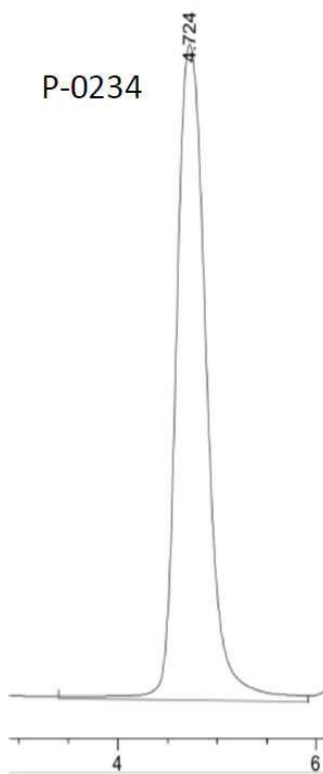
도면3d



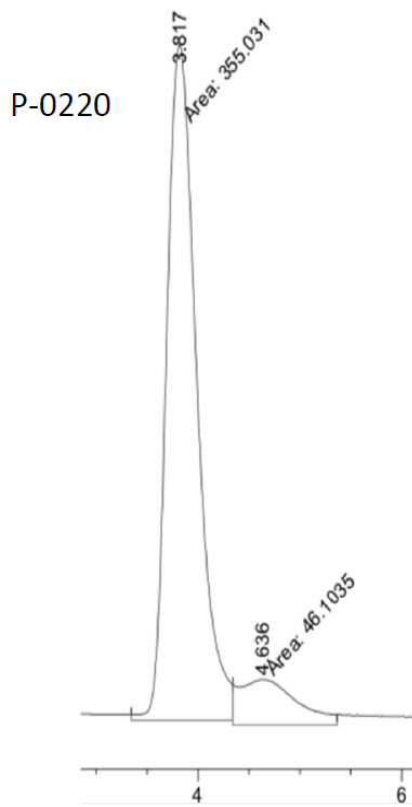
도면3e



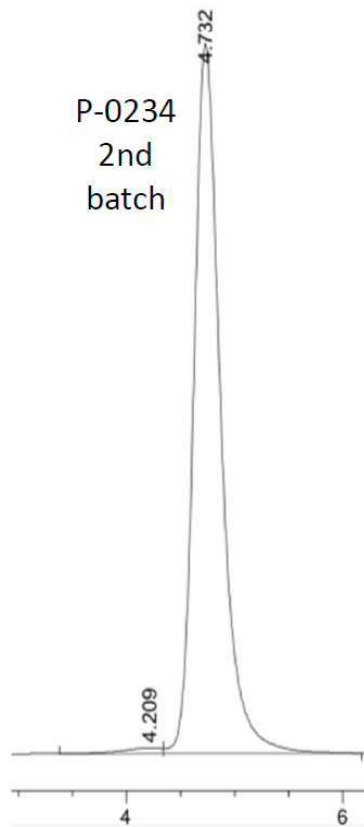
도면3f



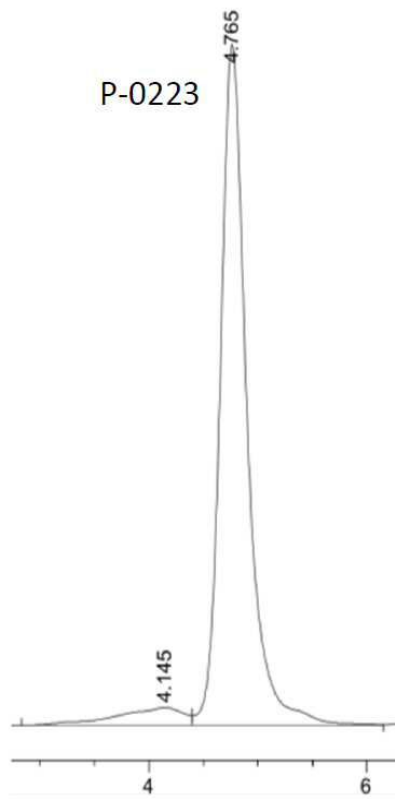
도면3g



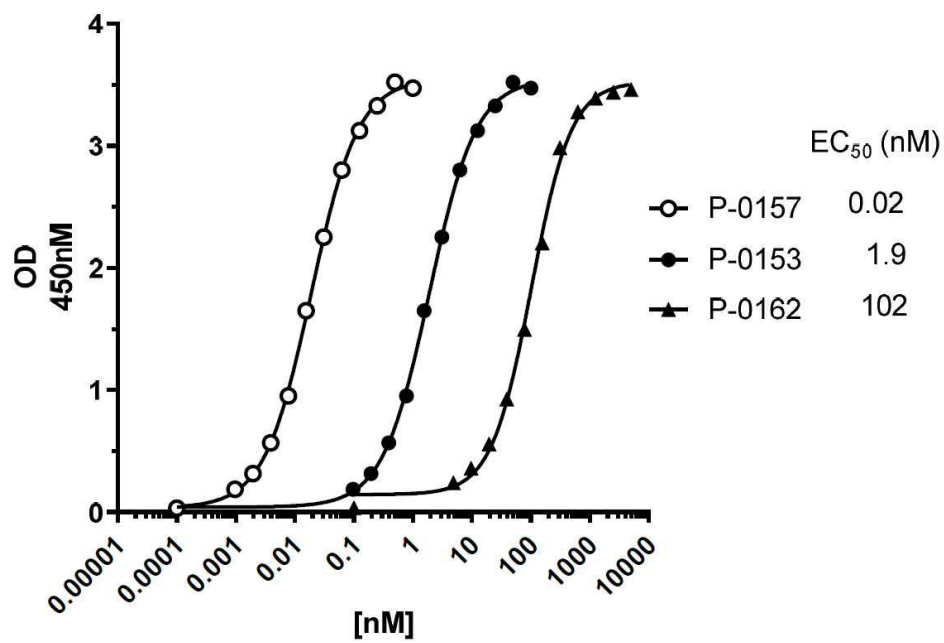
도면3h



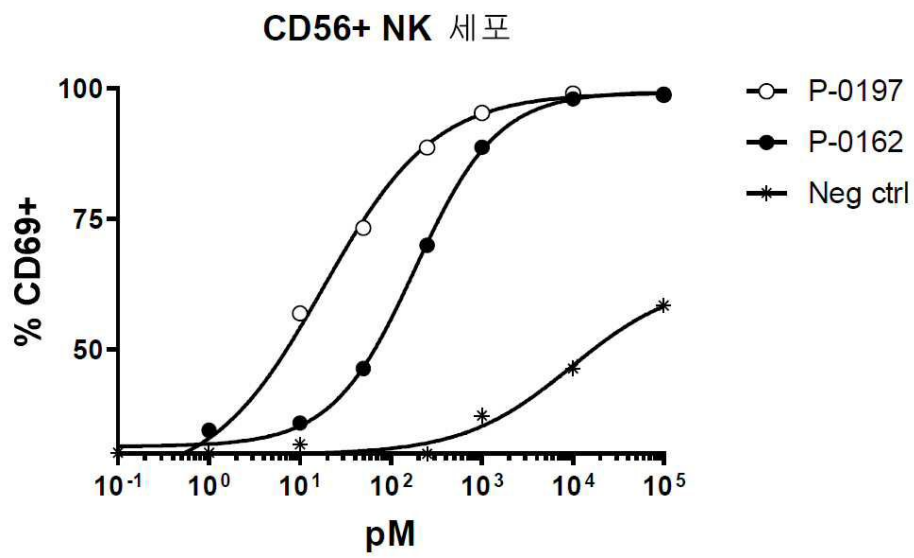
도면3i



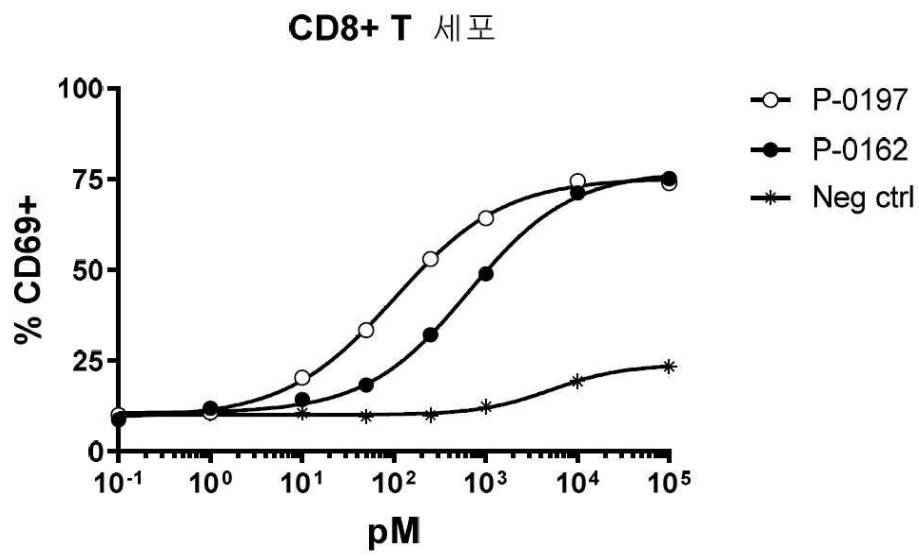
도면4



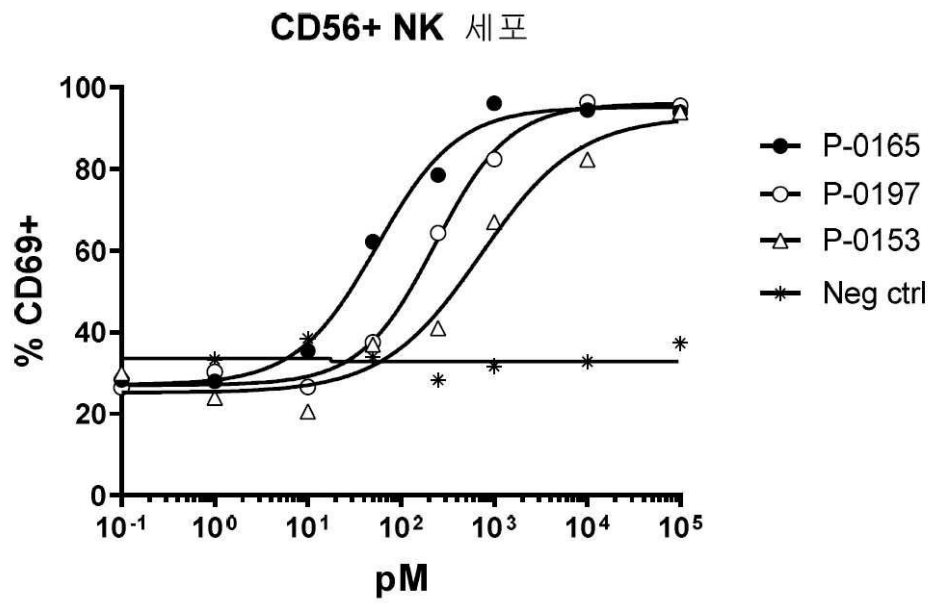
도면5a



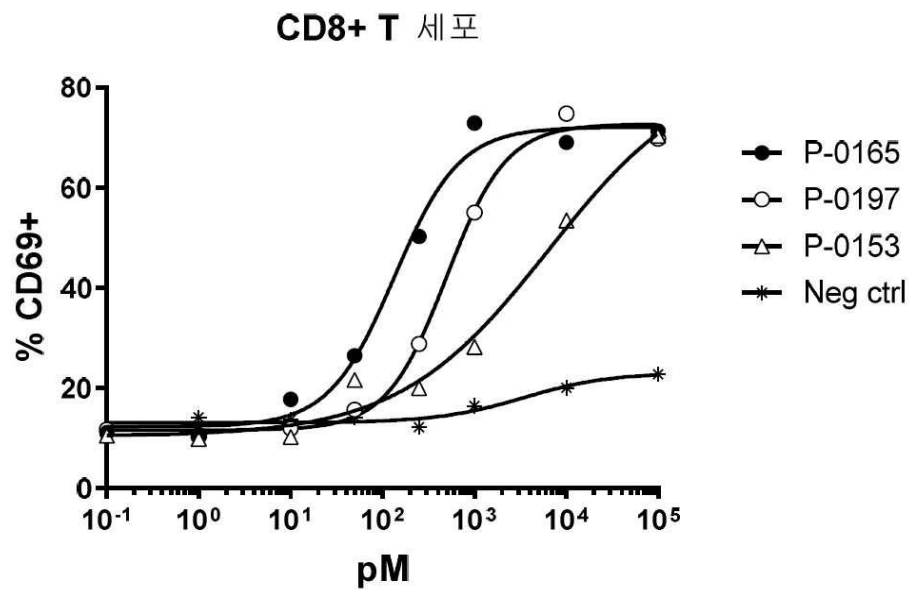
도면5b



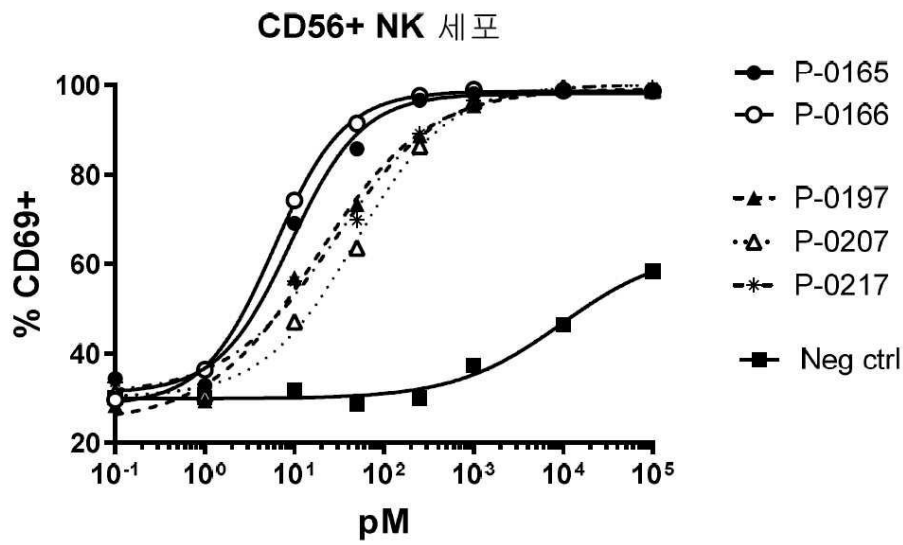
도면6a



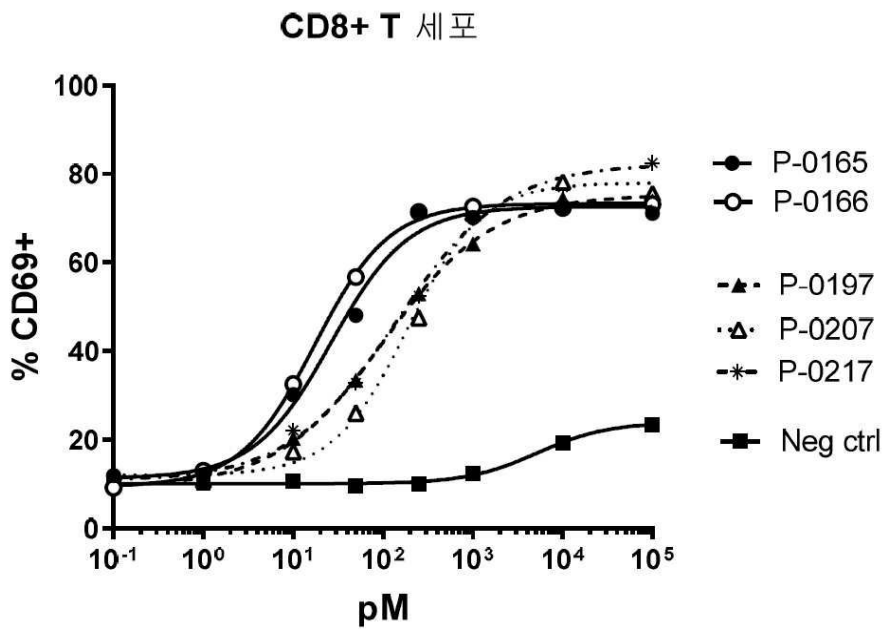
도면6b



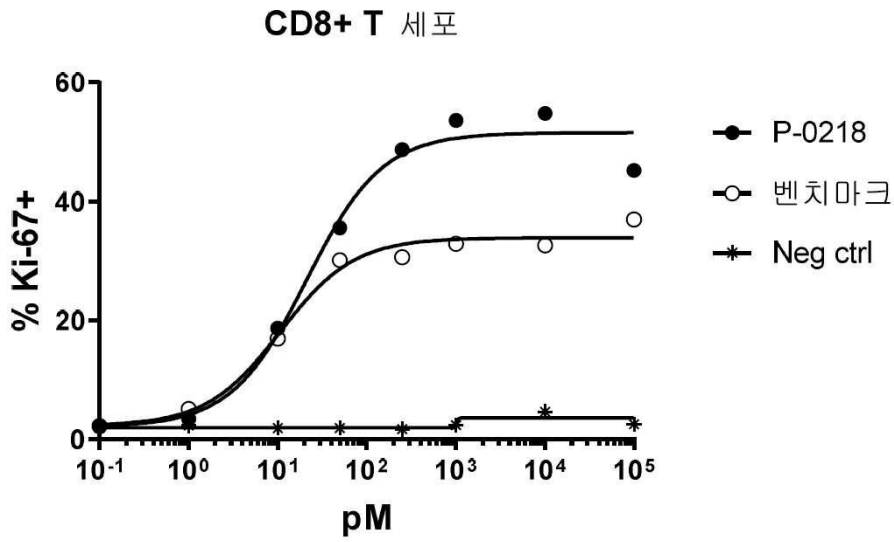
도면7a



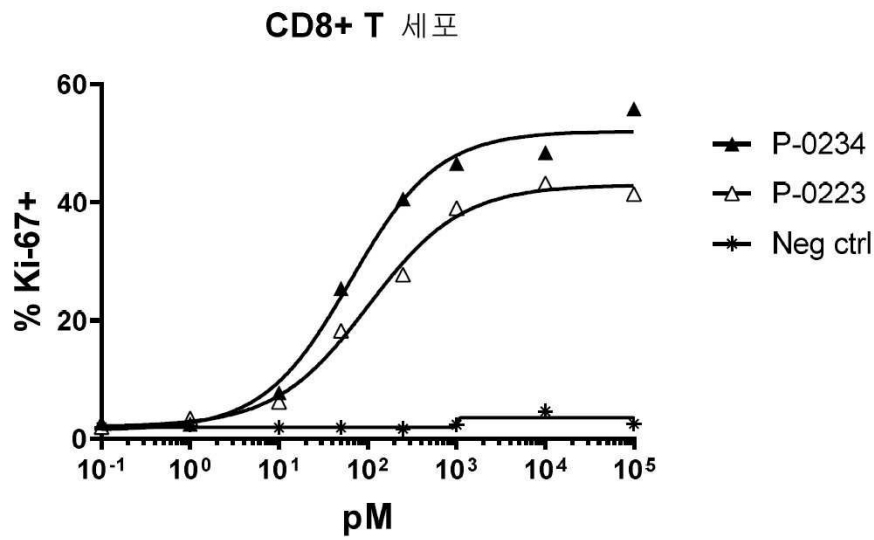
도면7b



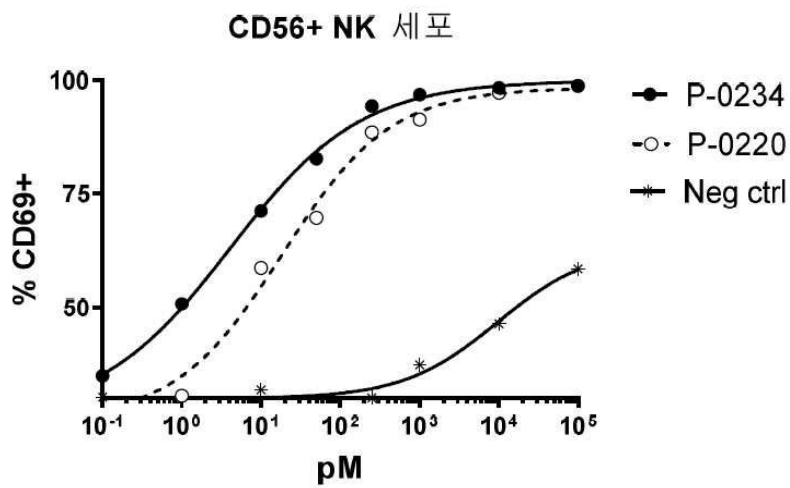
도면8a



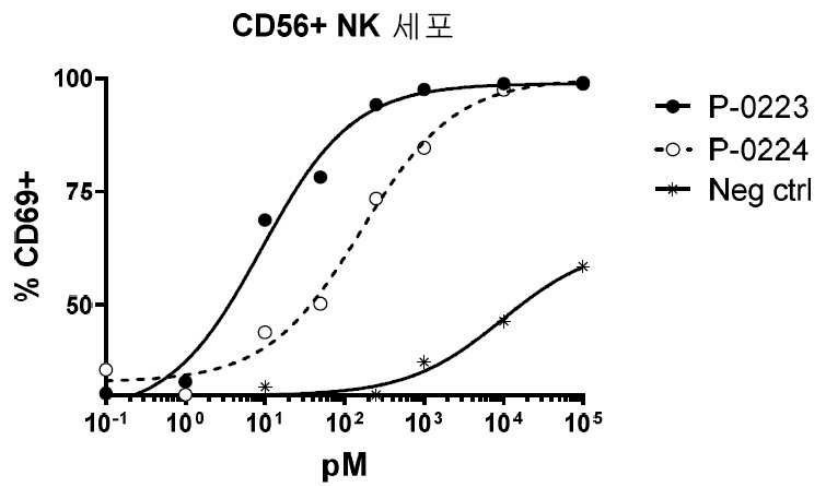
도면8b



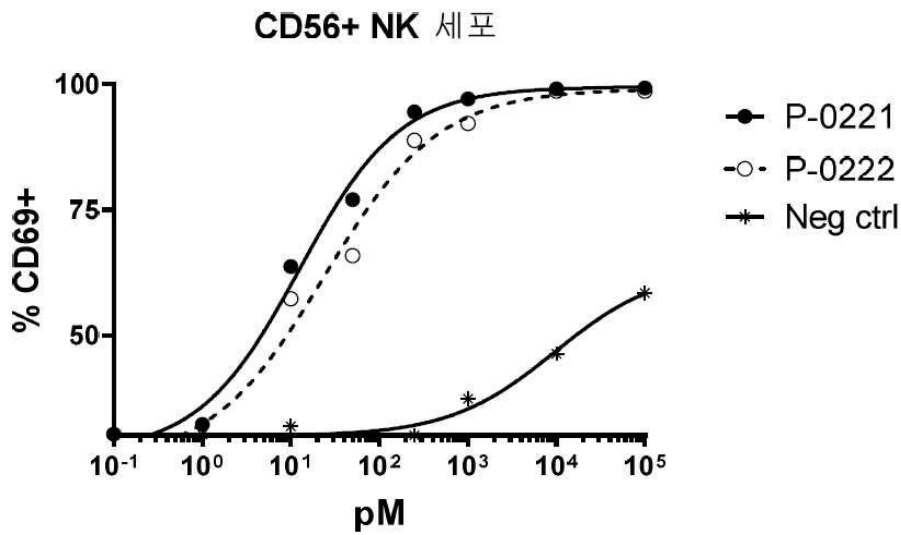
도면9a



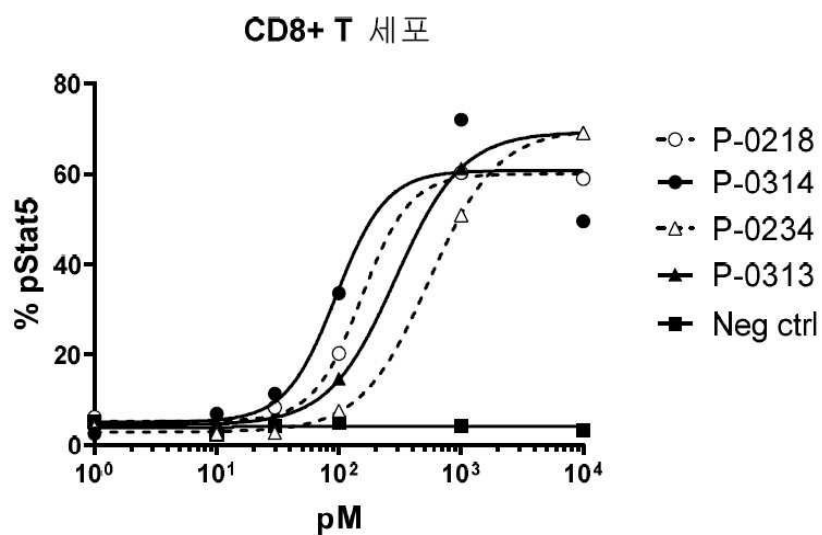
도면9b



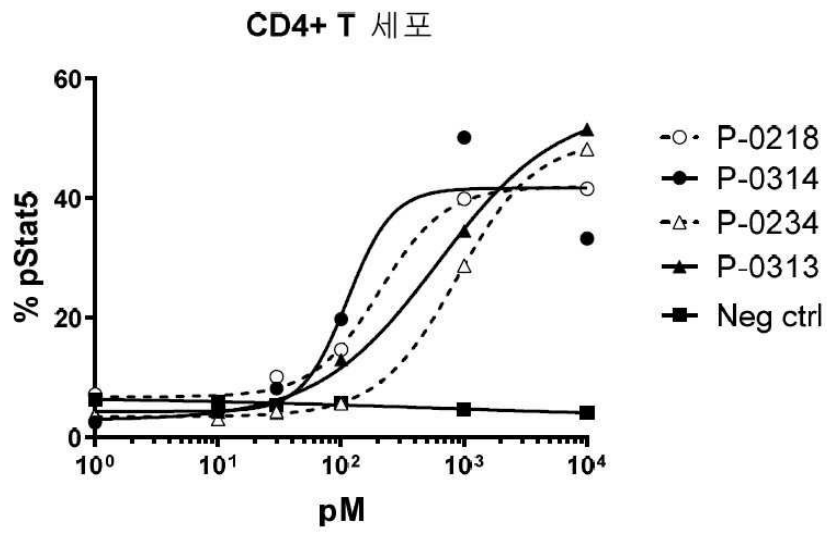
도면9c



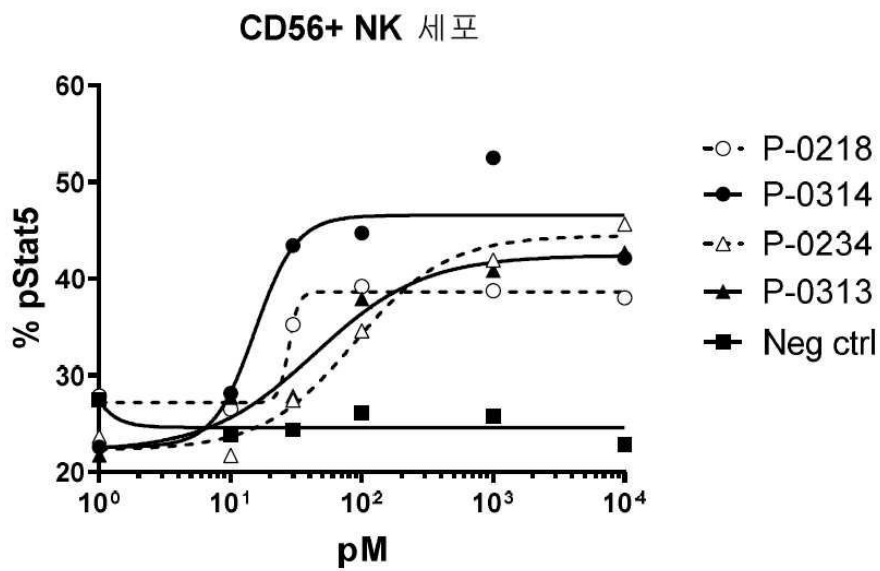
도면10a



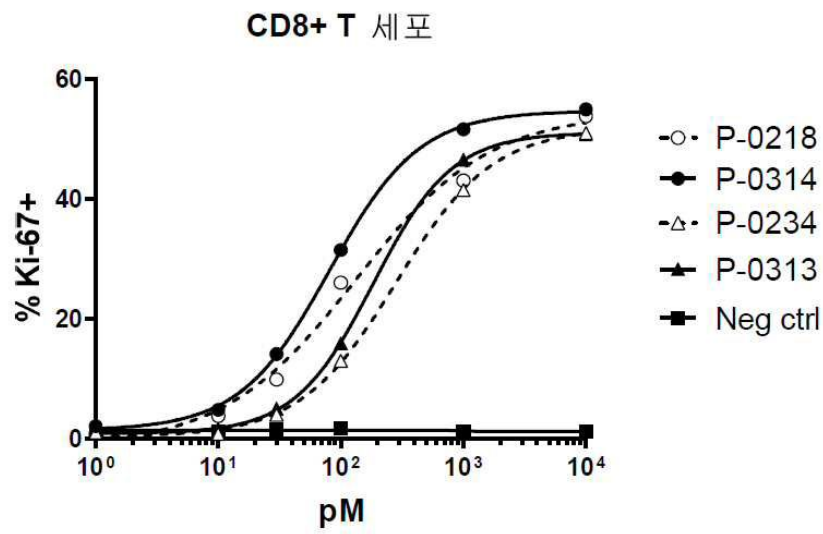
도면10b



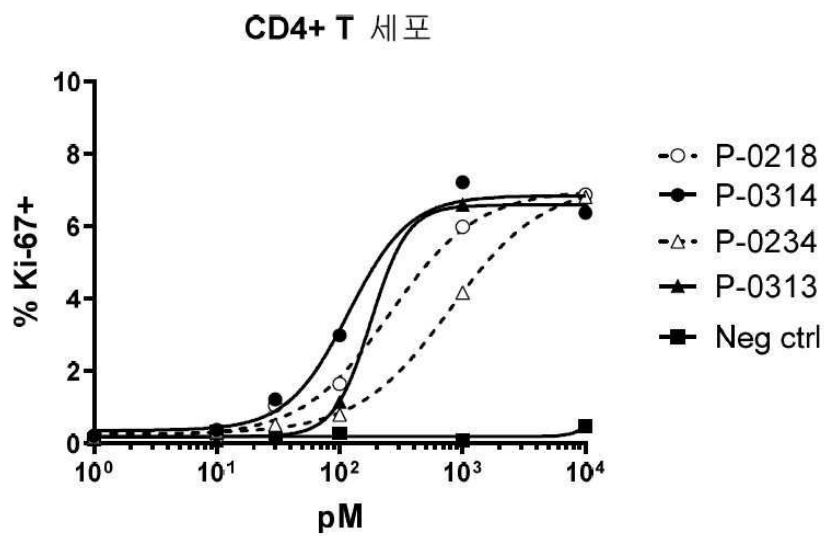
도면10c



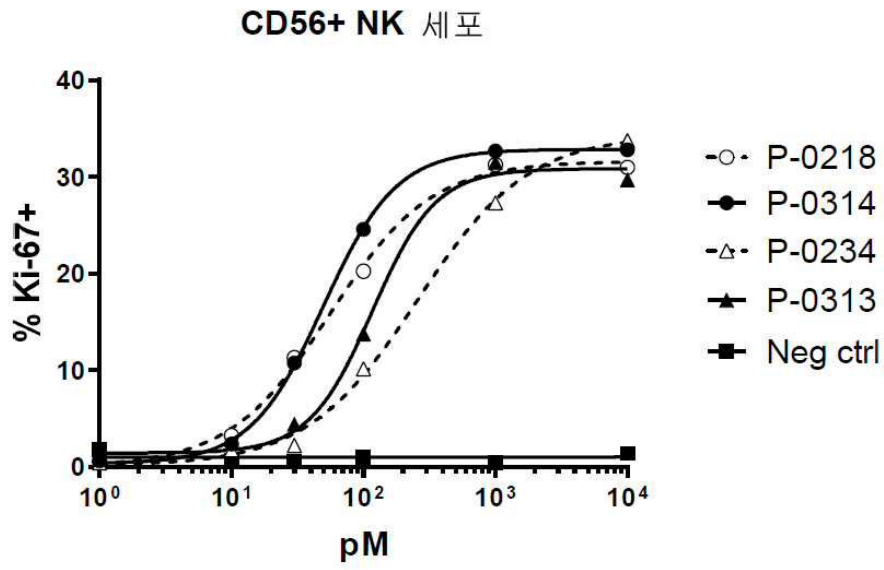
도면11a



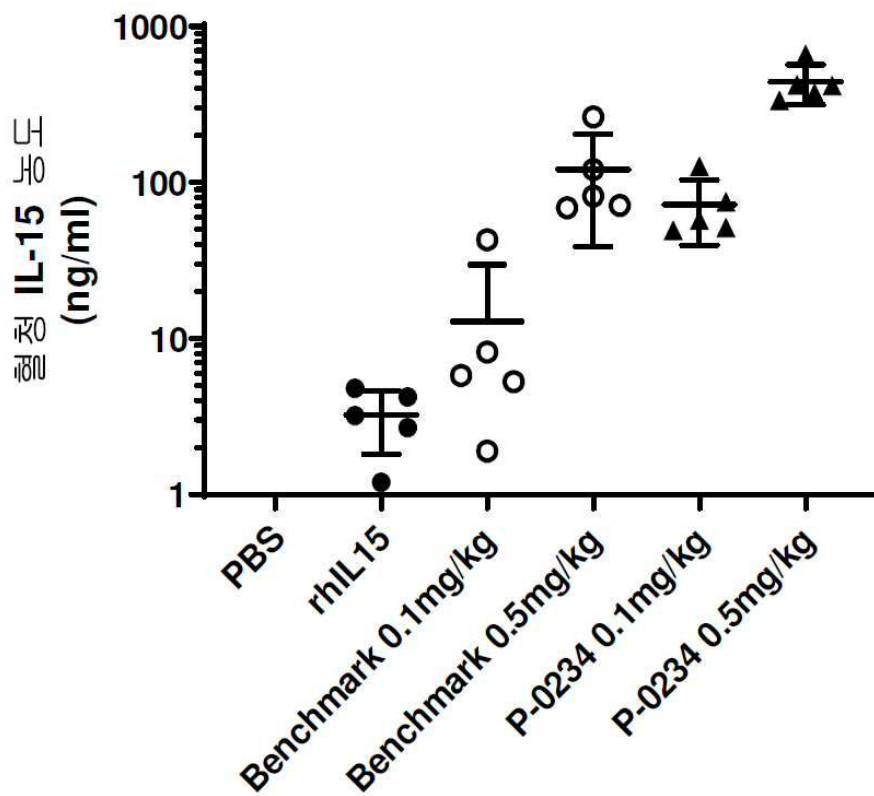
도면11b



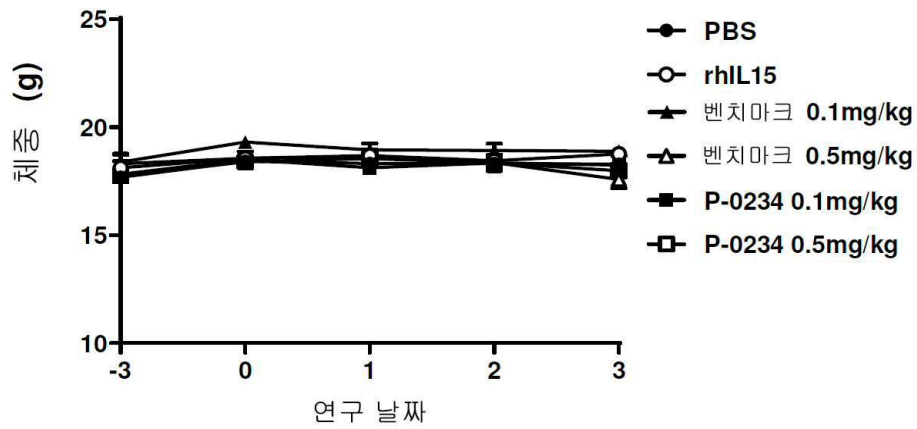
도면11c



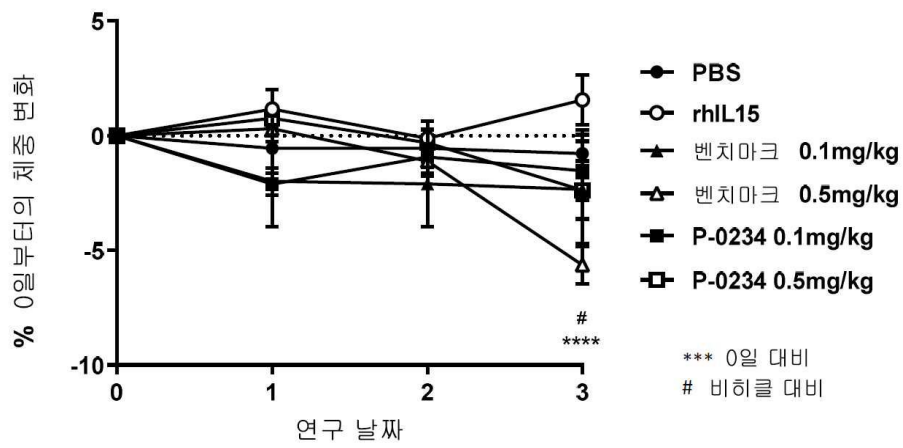
도면12



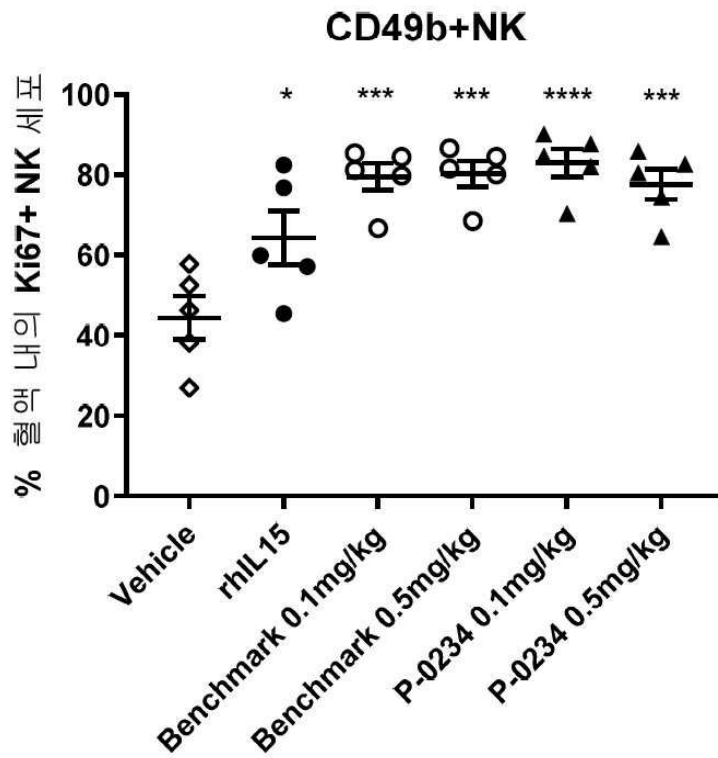
도면13a



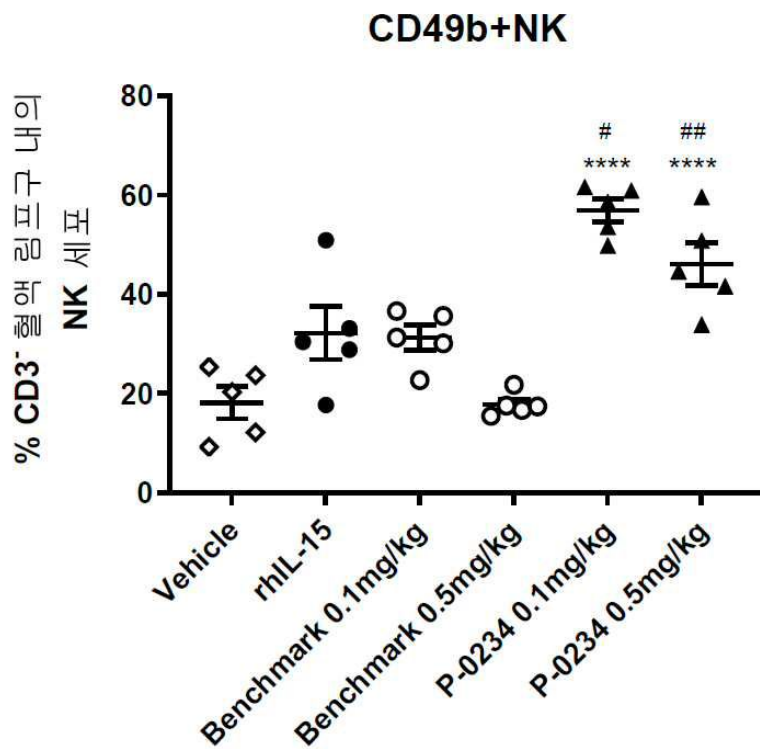
도면13b



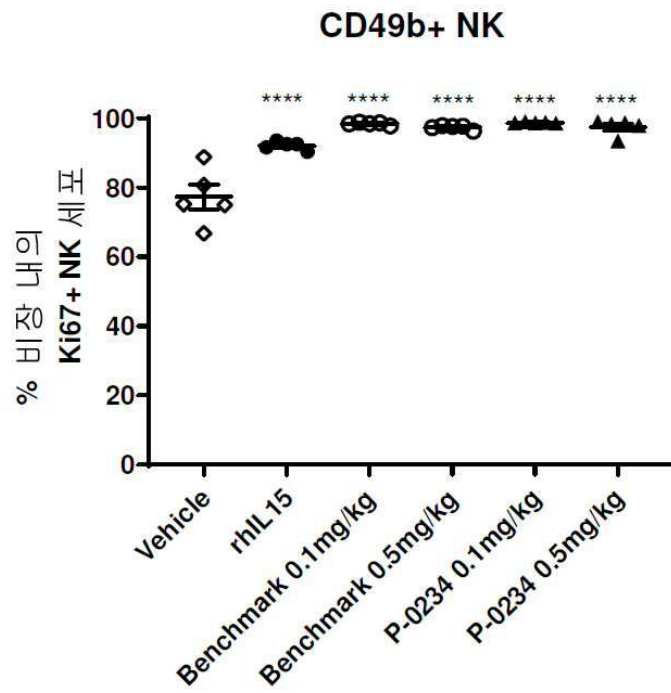
도면14a



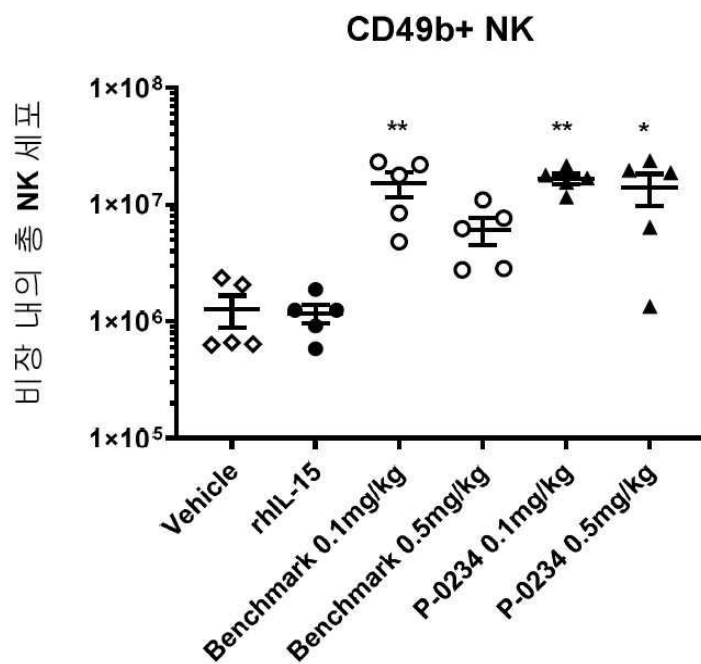
도면14b



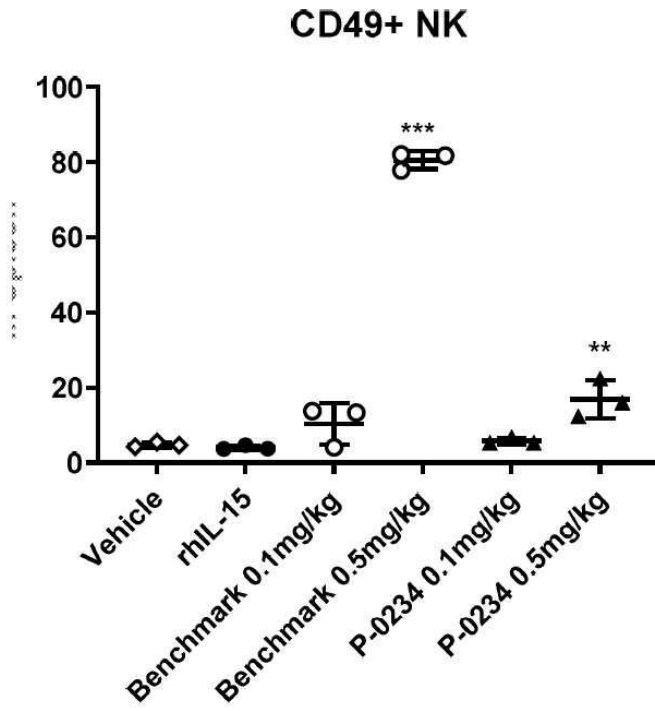
도면15a



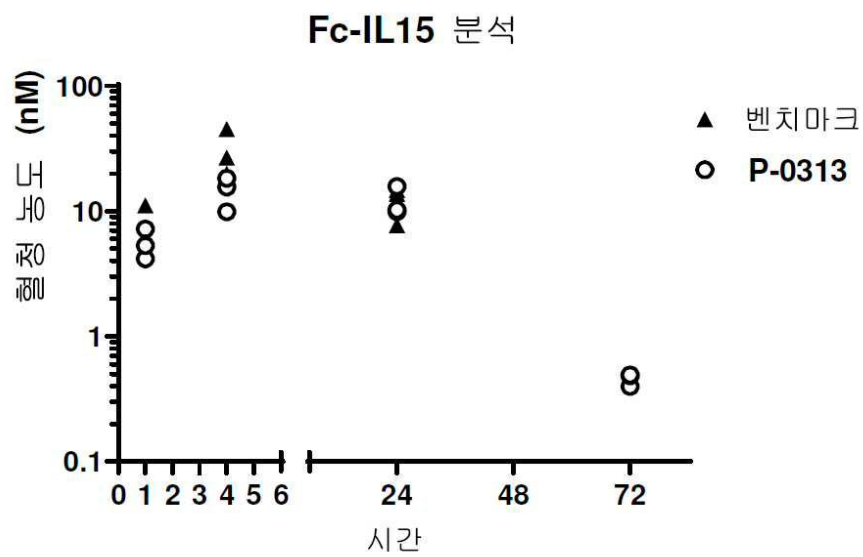
도면15b



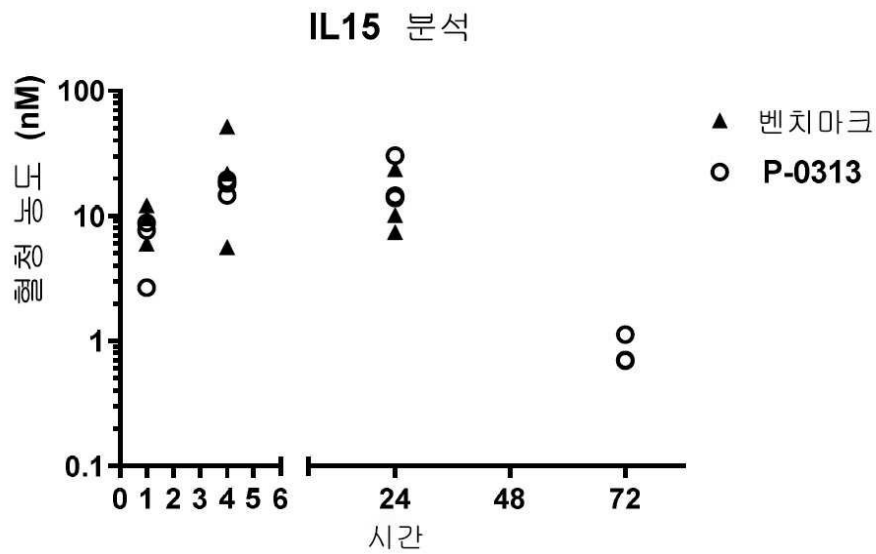
도면15c



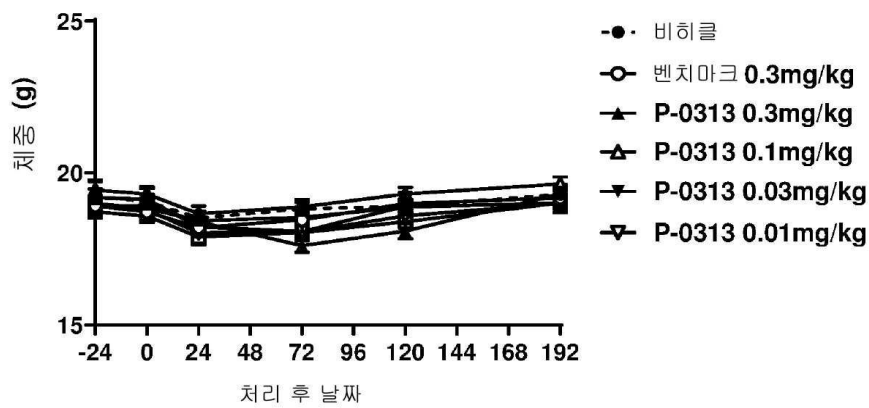
도면16a



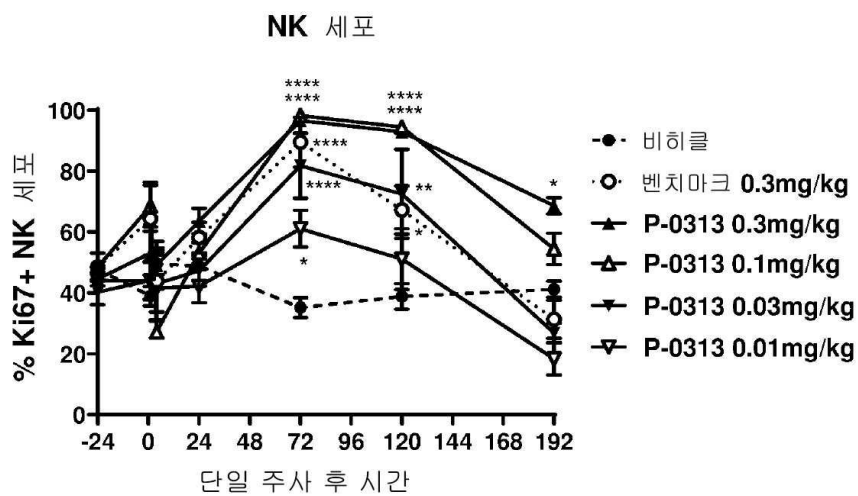
도면16b



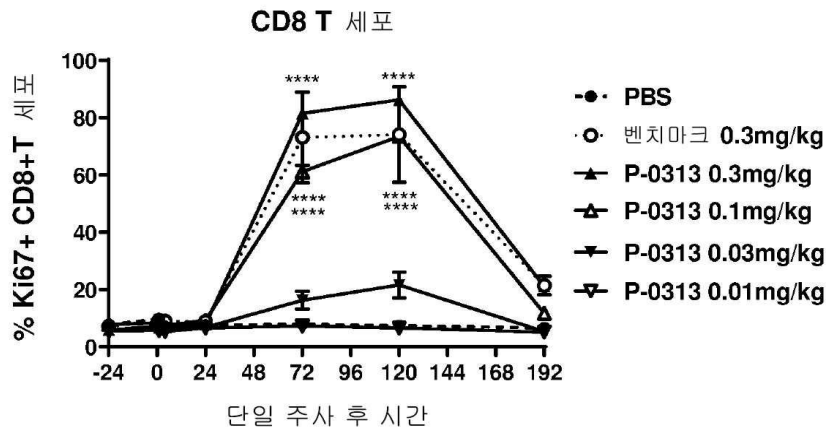
도면17



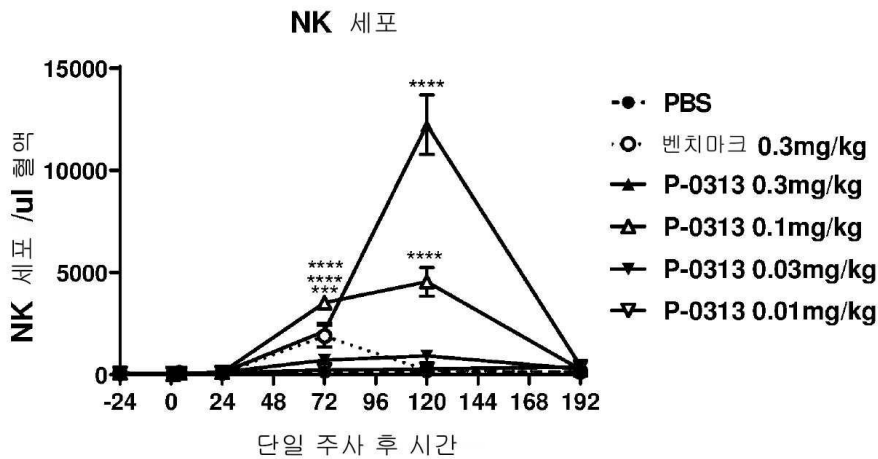
도면18a



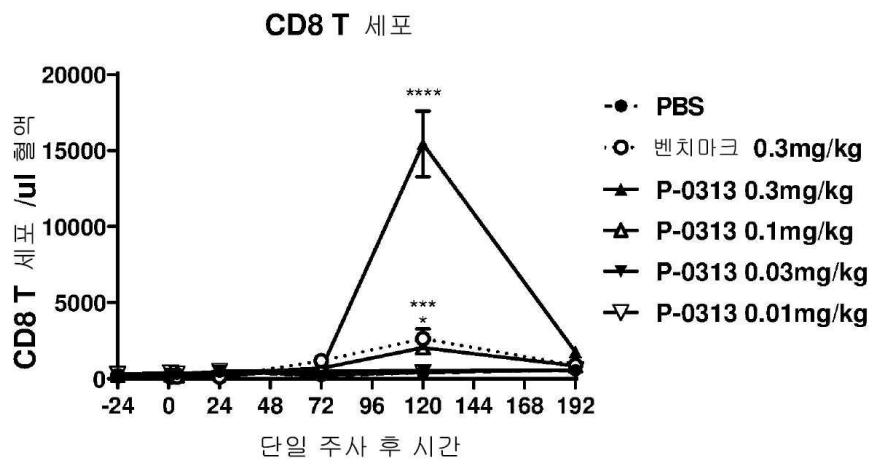
도면18b



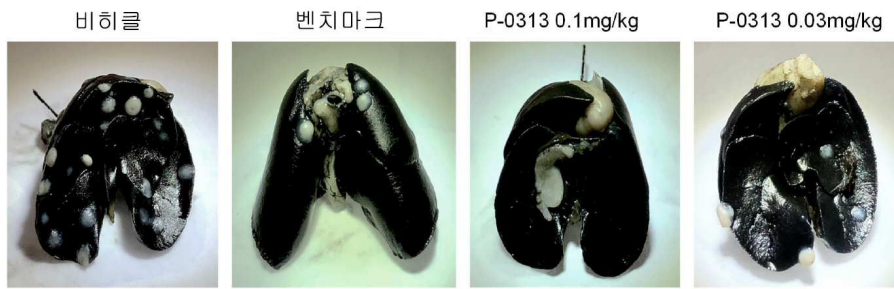
도면19a



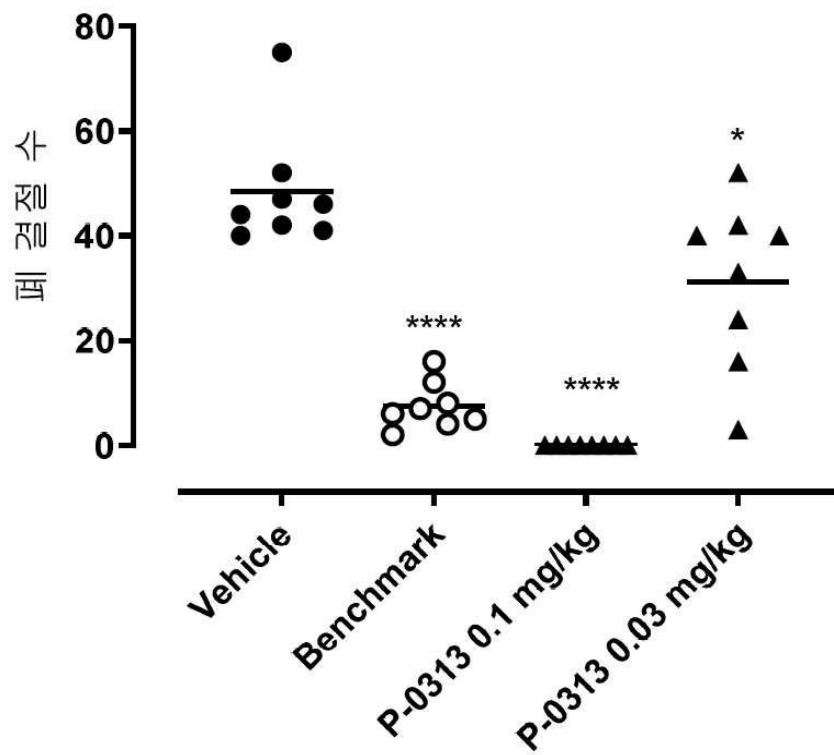
도면19b



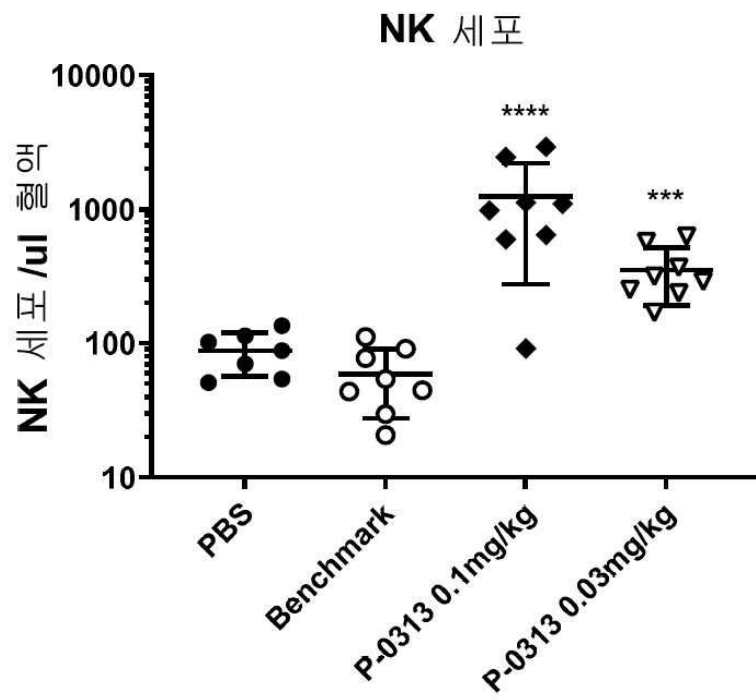
도면20a



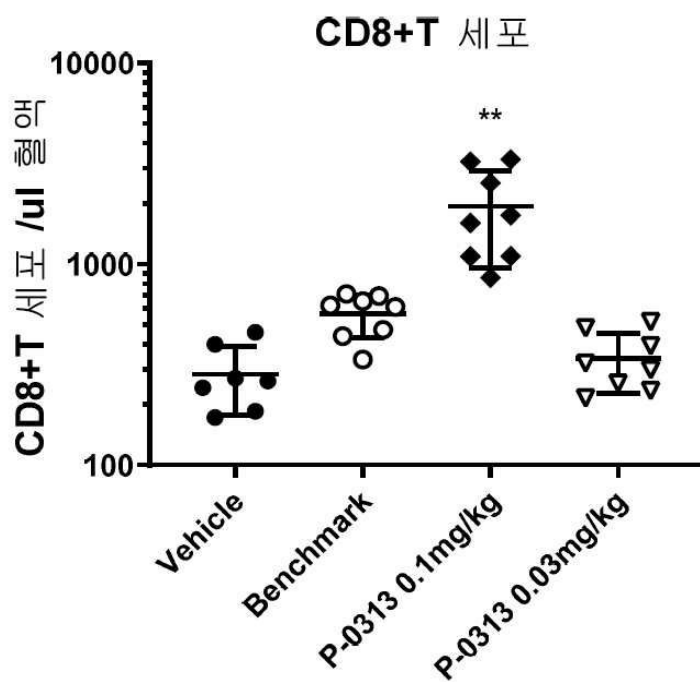
도면20b



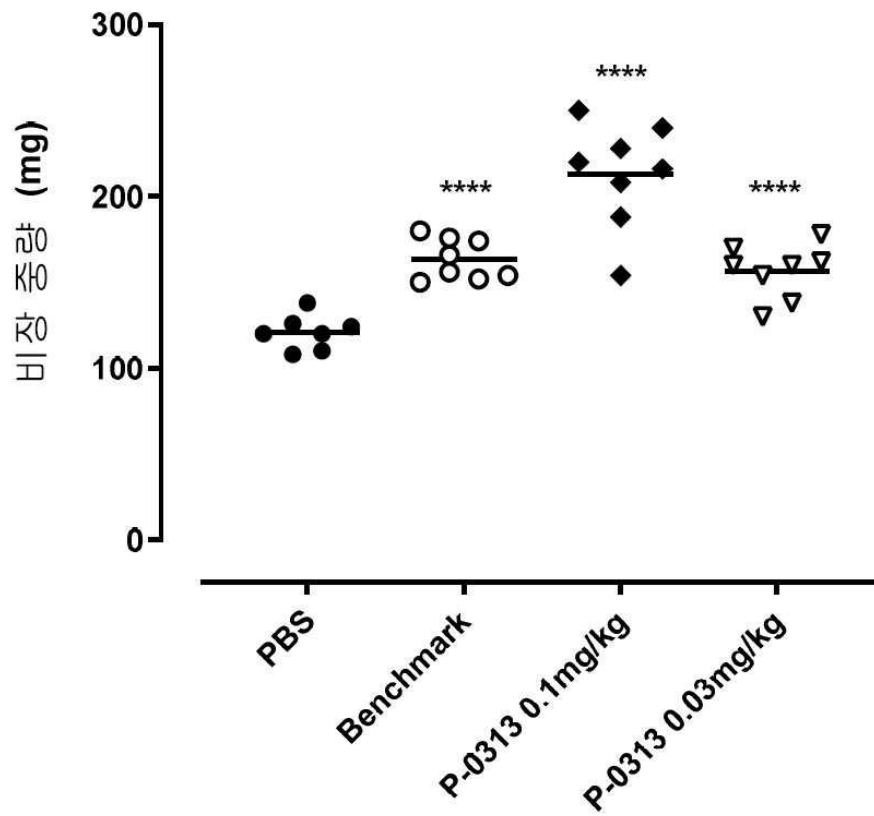
도면21a



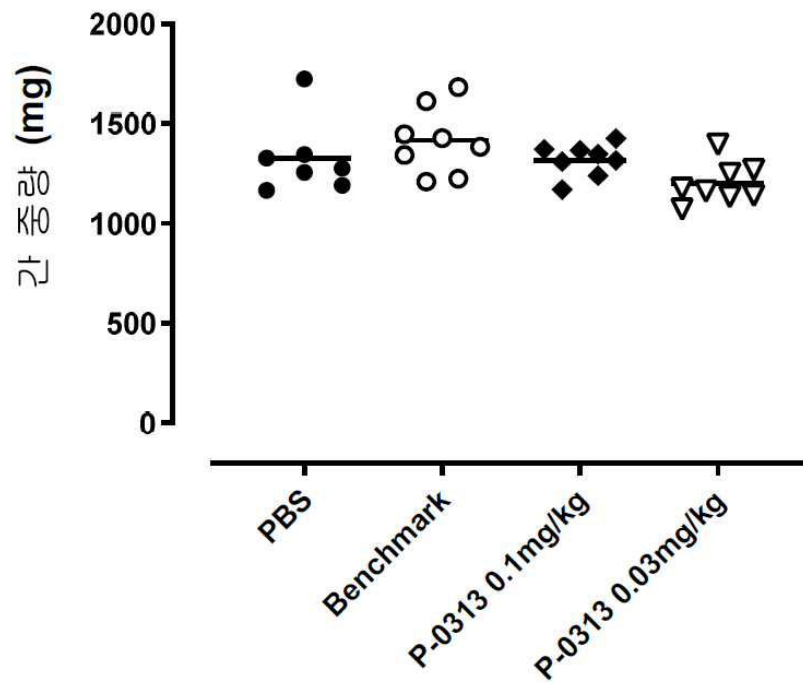
도면21b



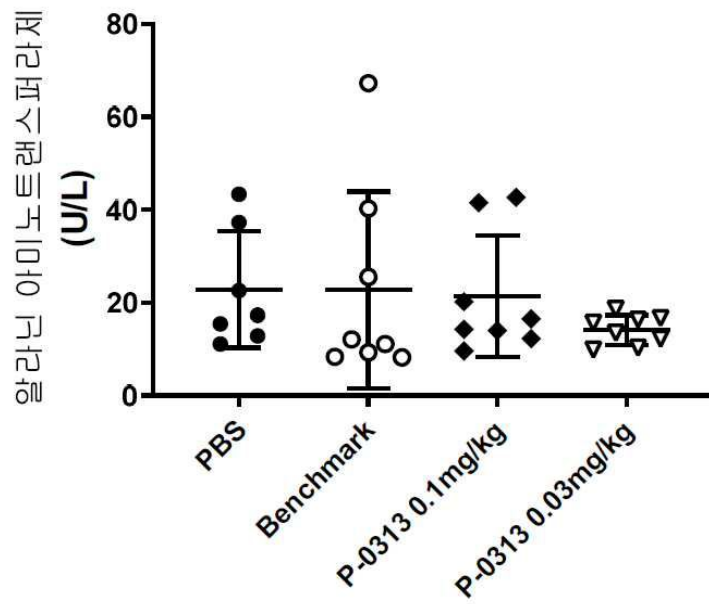
도면22



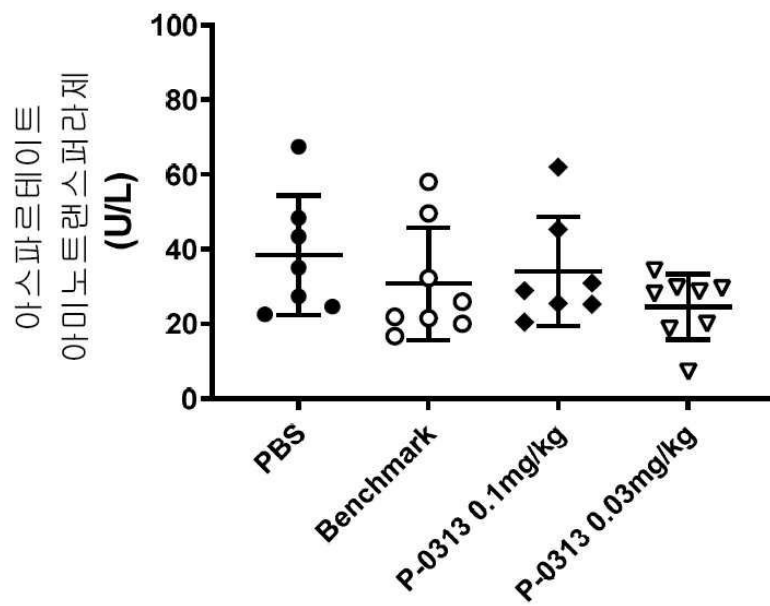
도면23a



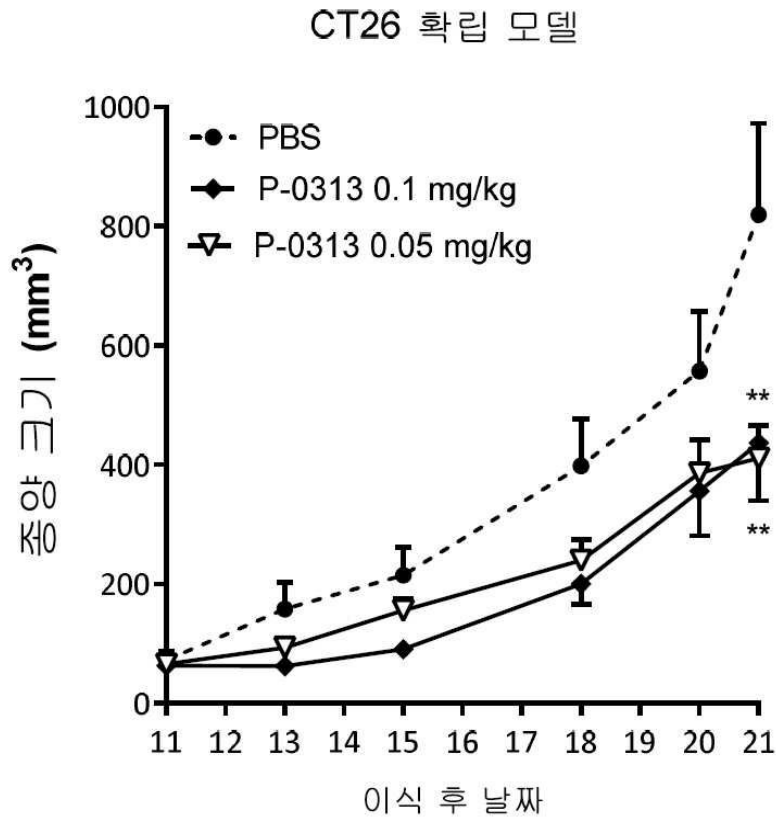
도면23b



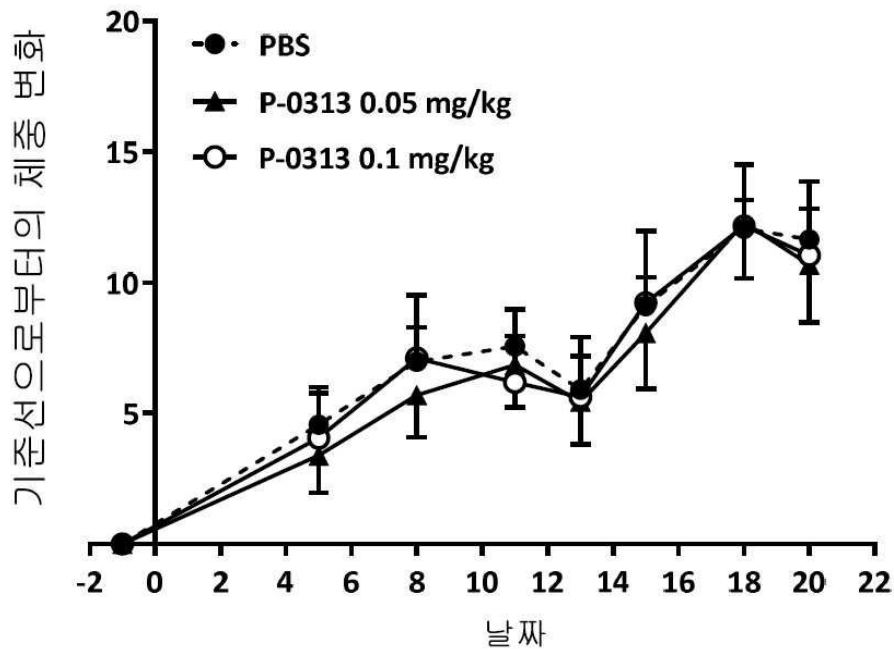
도면23c



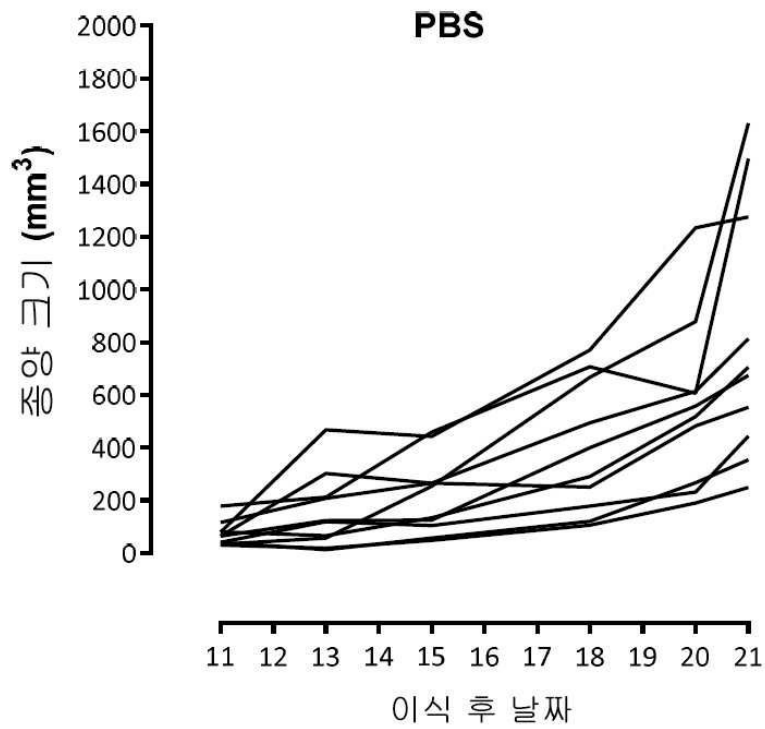
도면24a



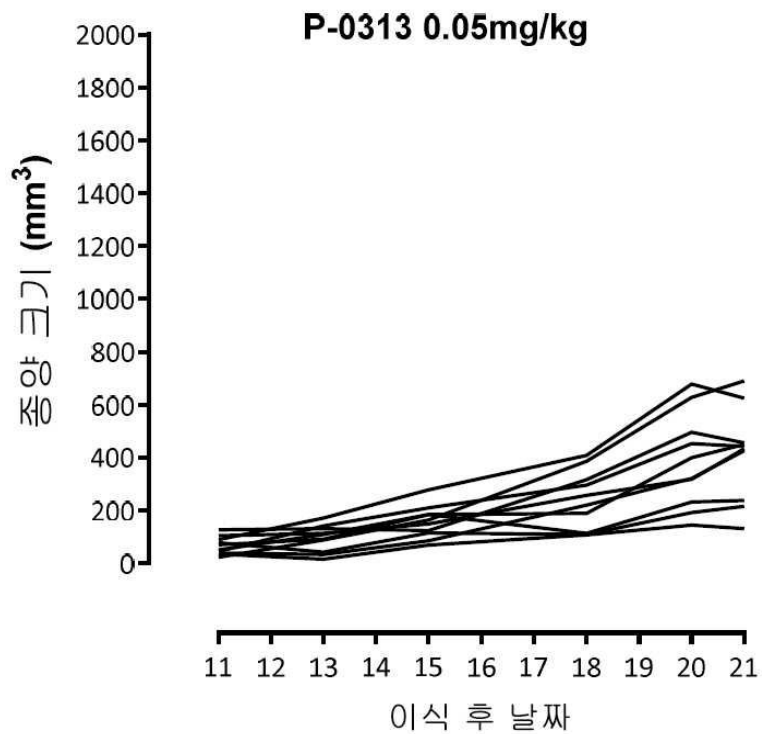
도면24b



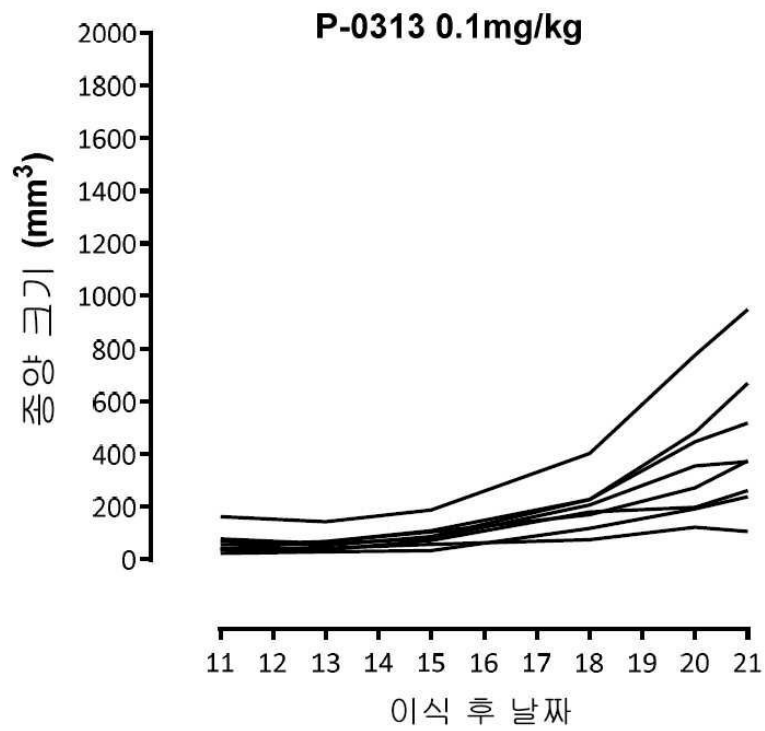
도면25a



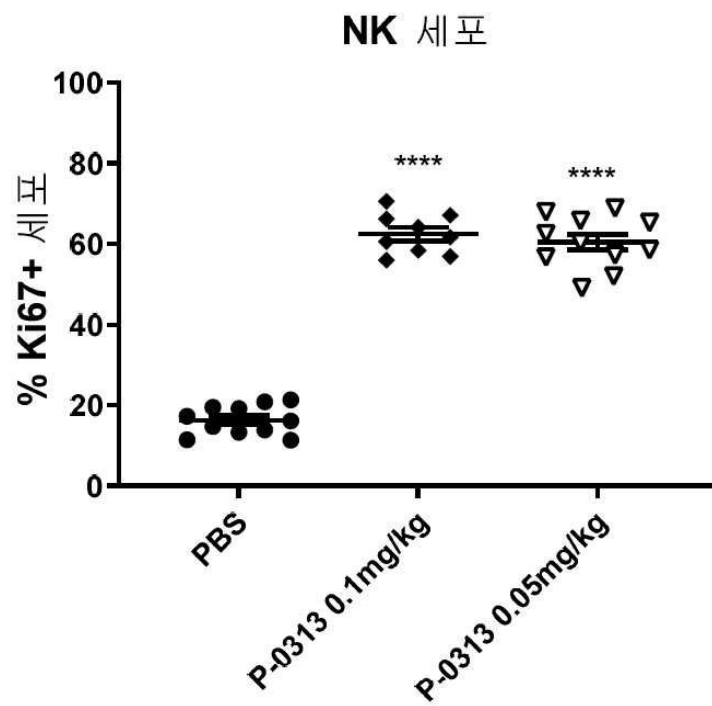
도면25b



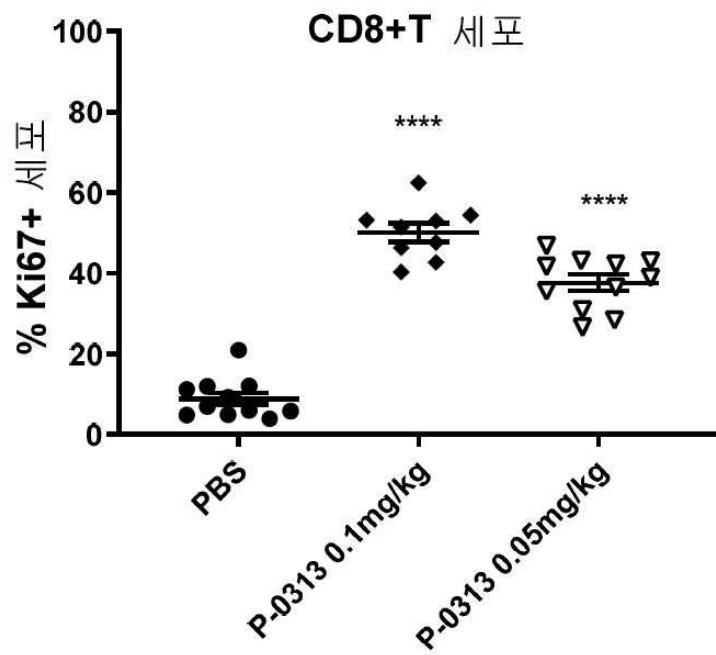
도면25c



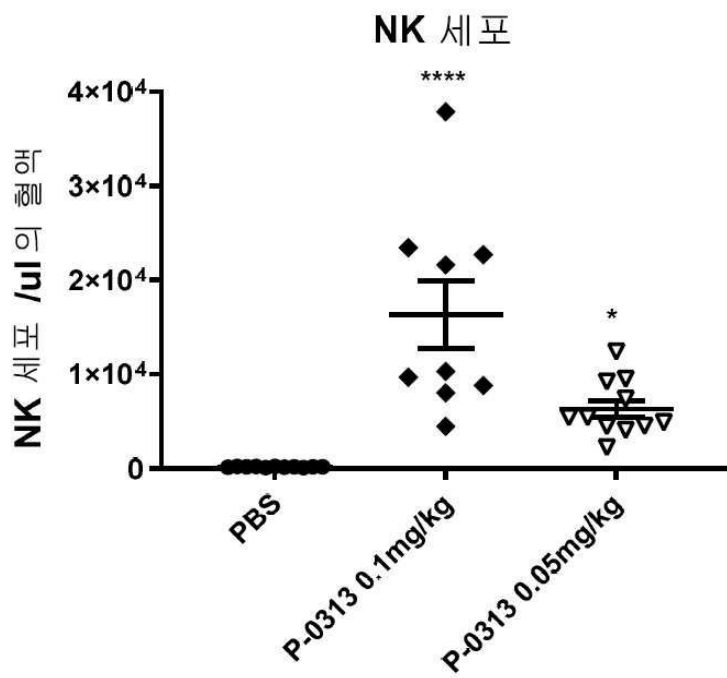
도면26a



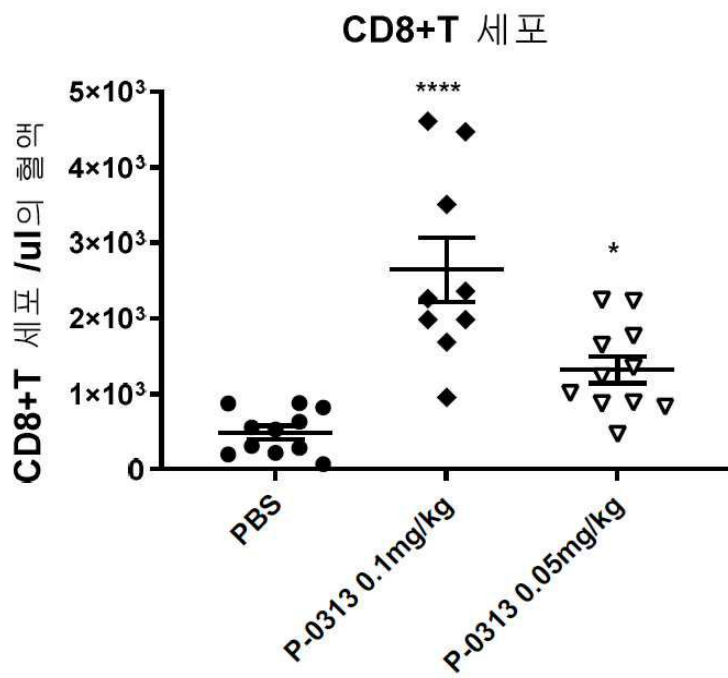
도면26b



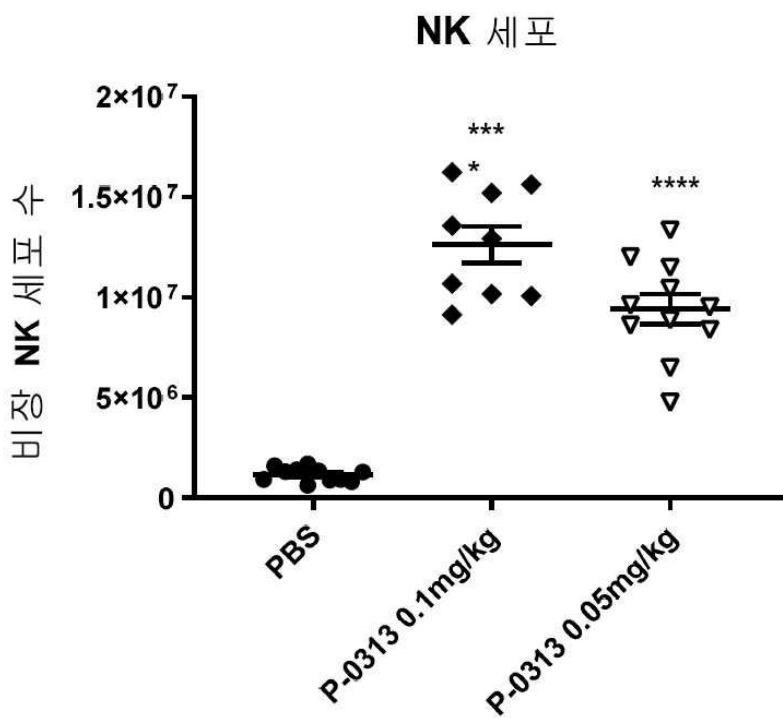
도면26c



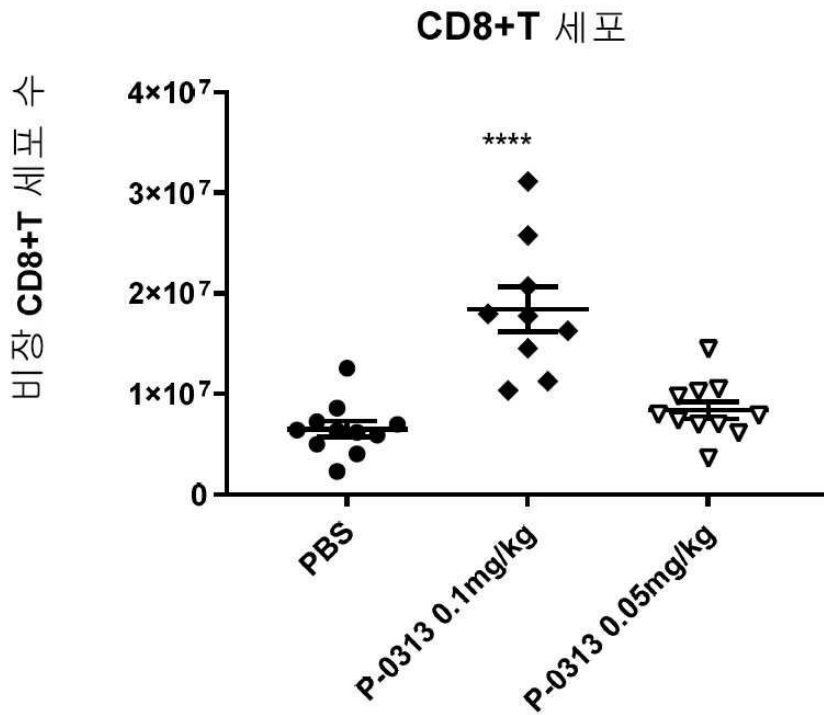
도면26d



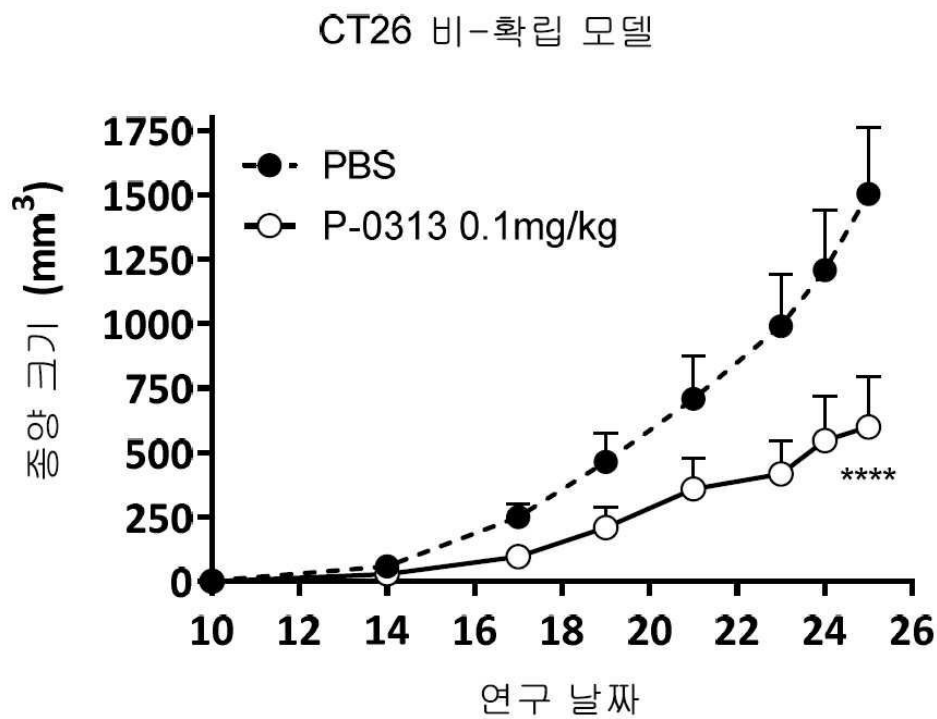
도면27a



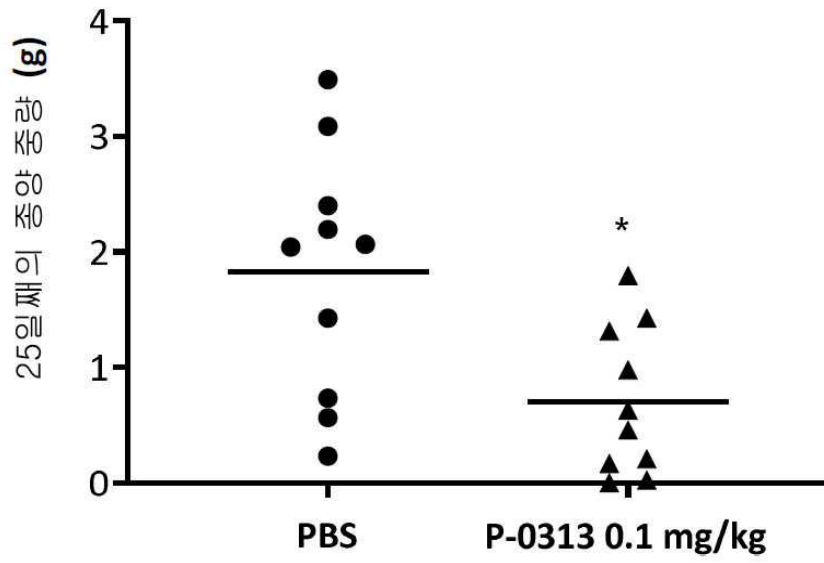
도면27b



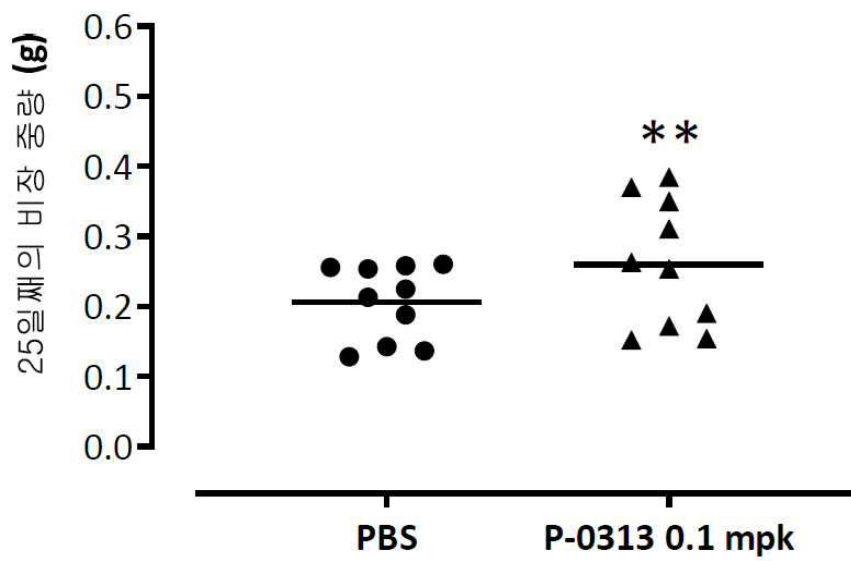
도면28a



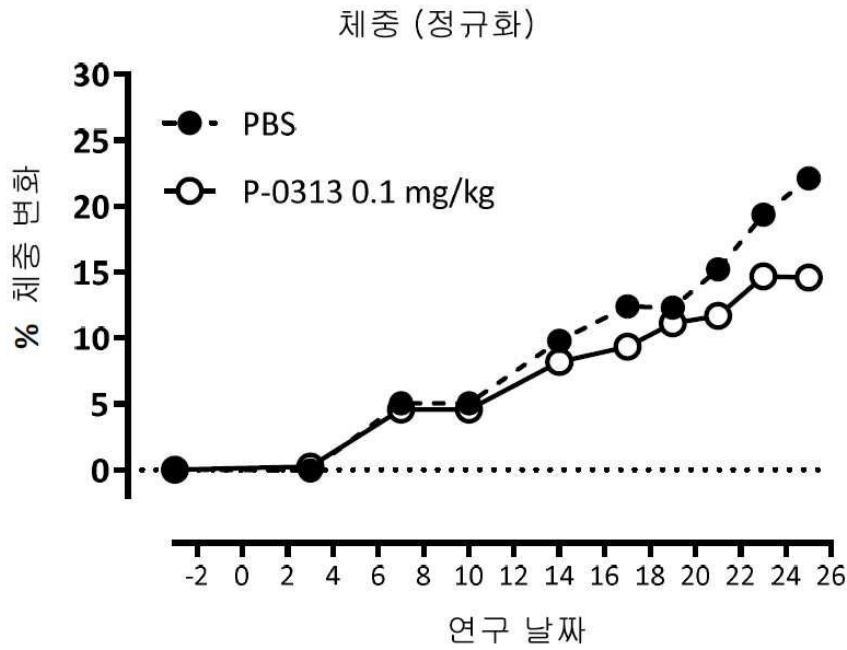
도면28b



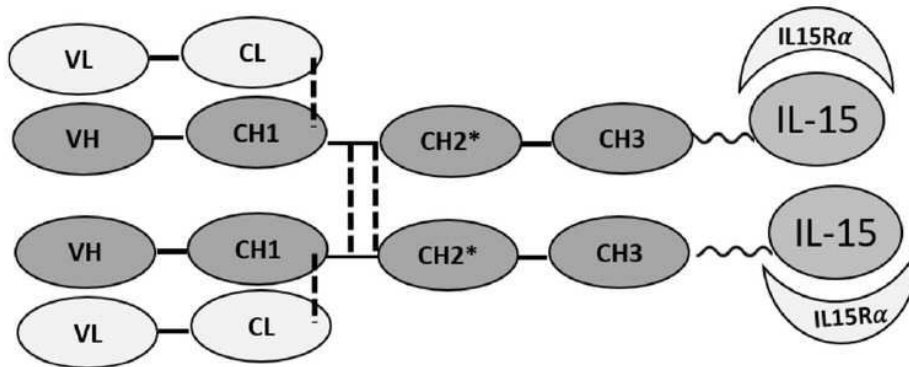
도면29a



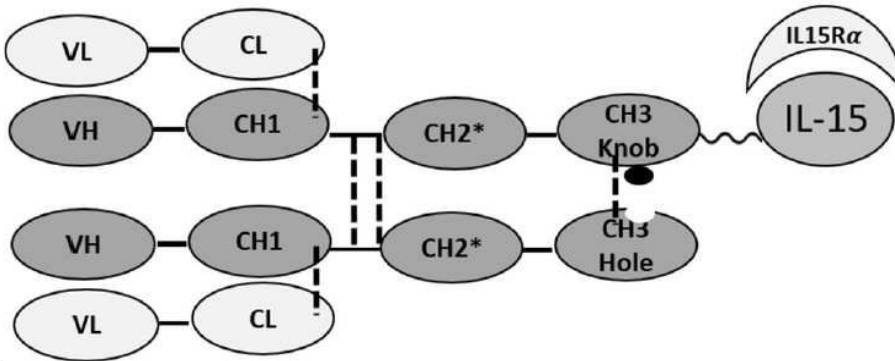
도면29b



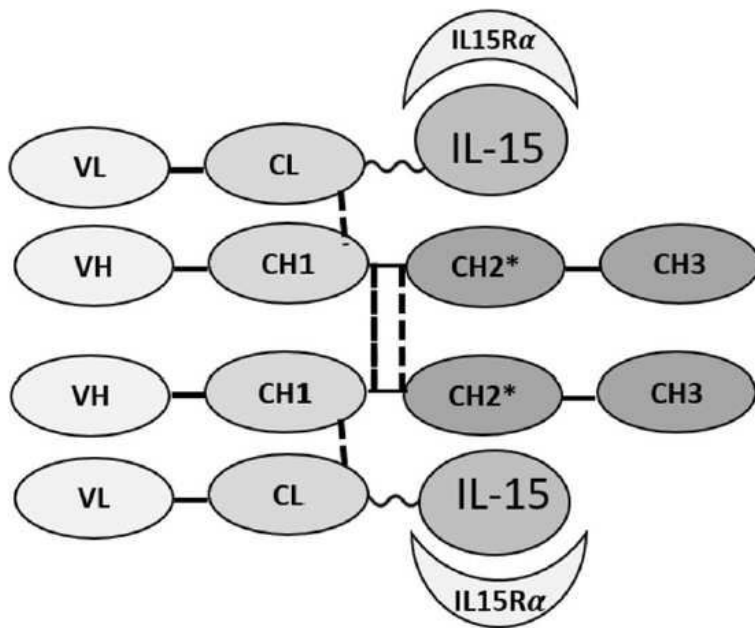
도면30a



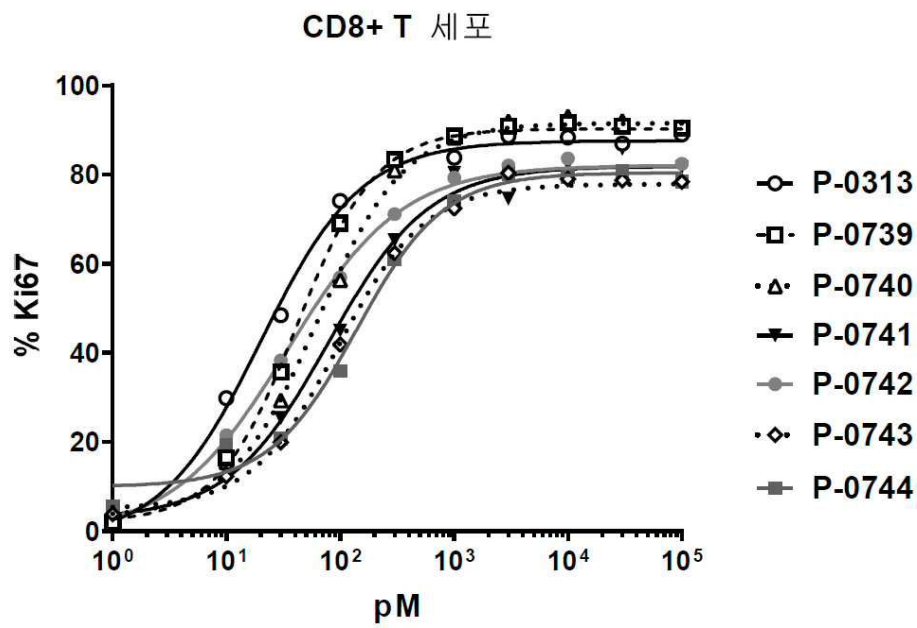
도면30b



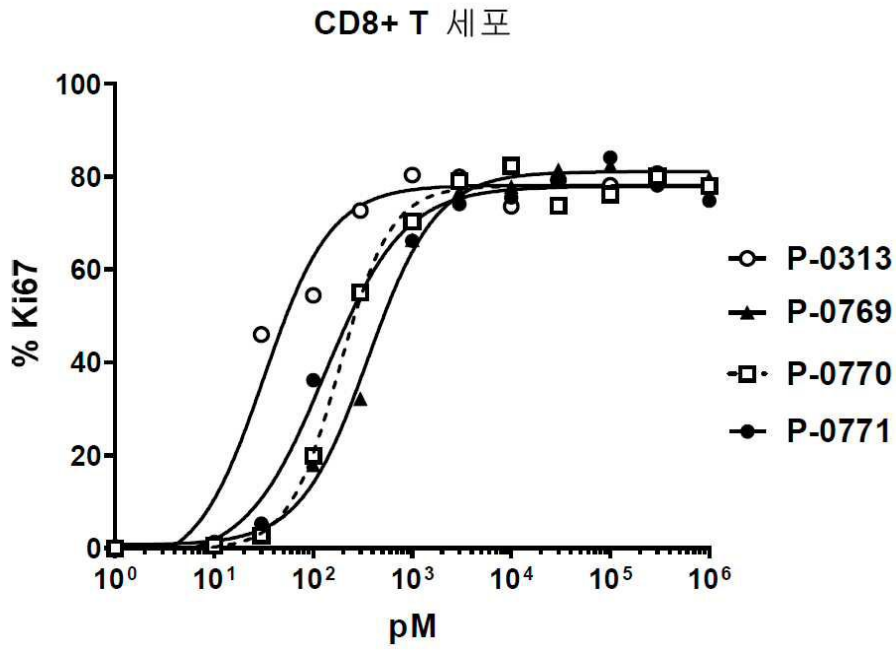
도면30c



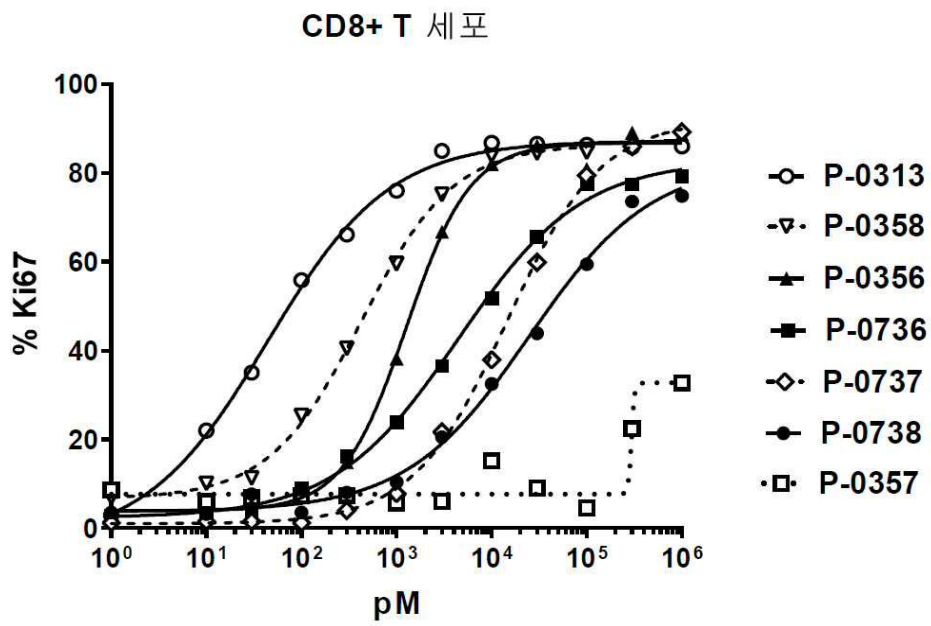
도면31a



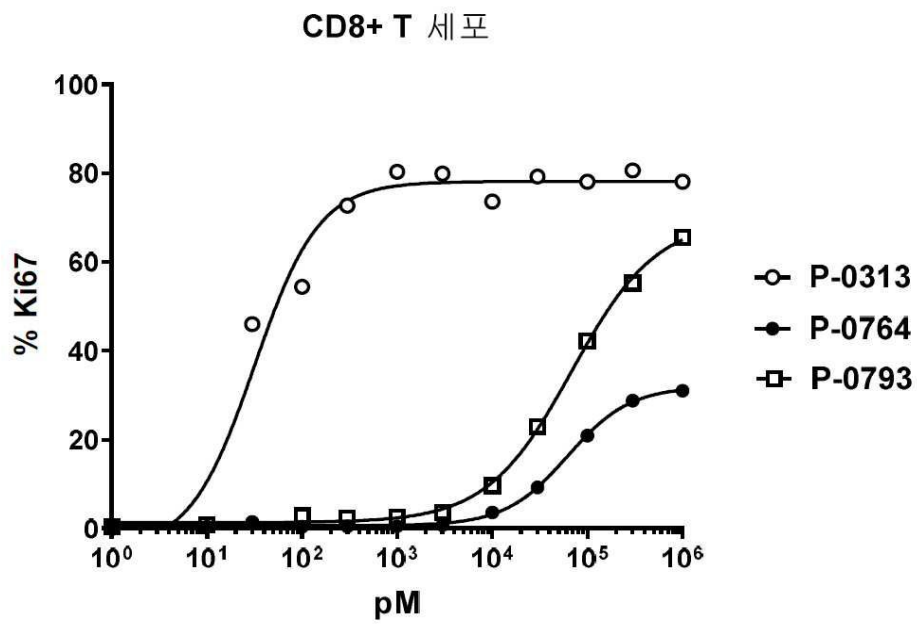
도면31b



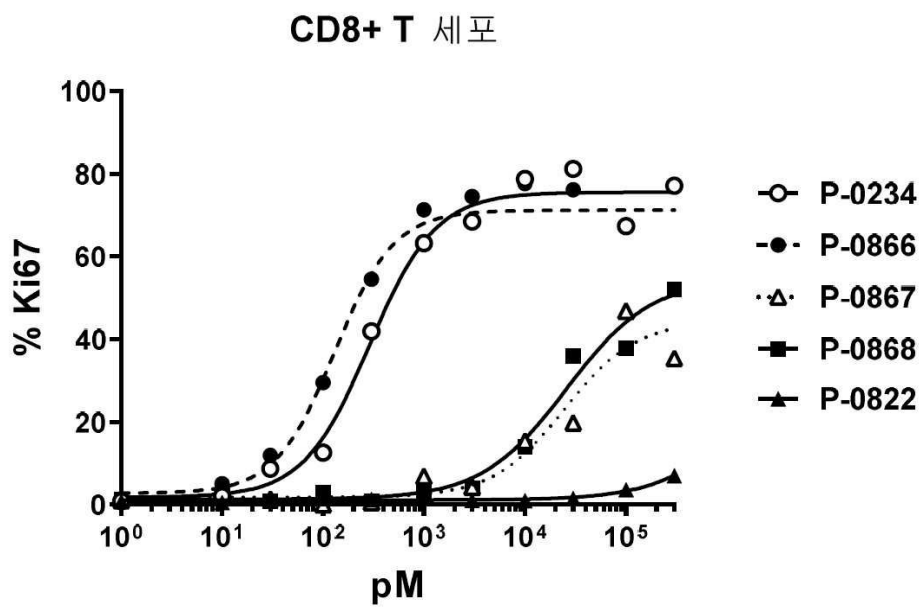
도면31c



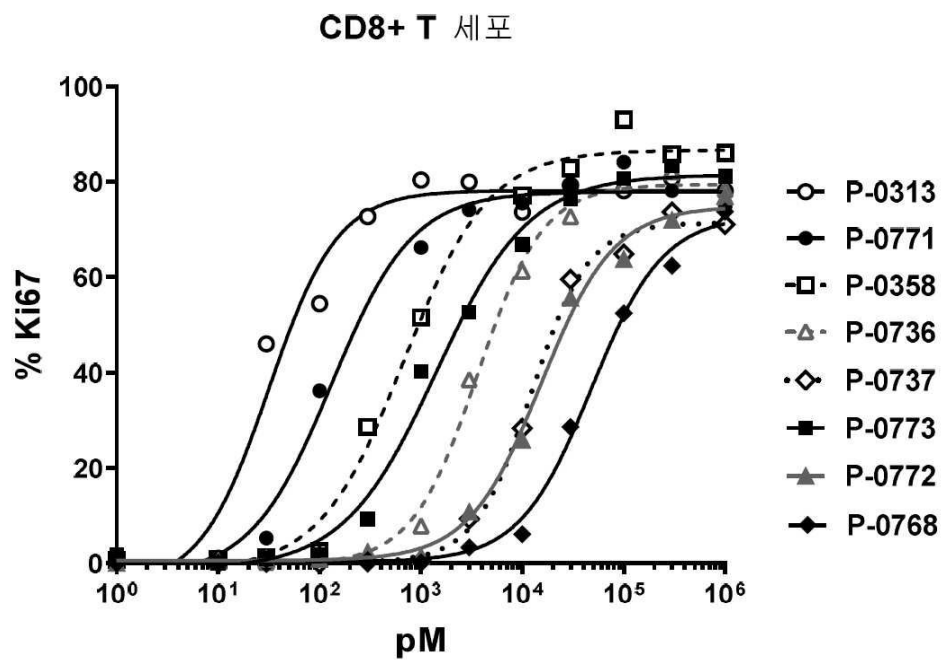
도면31d



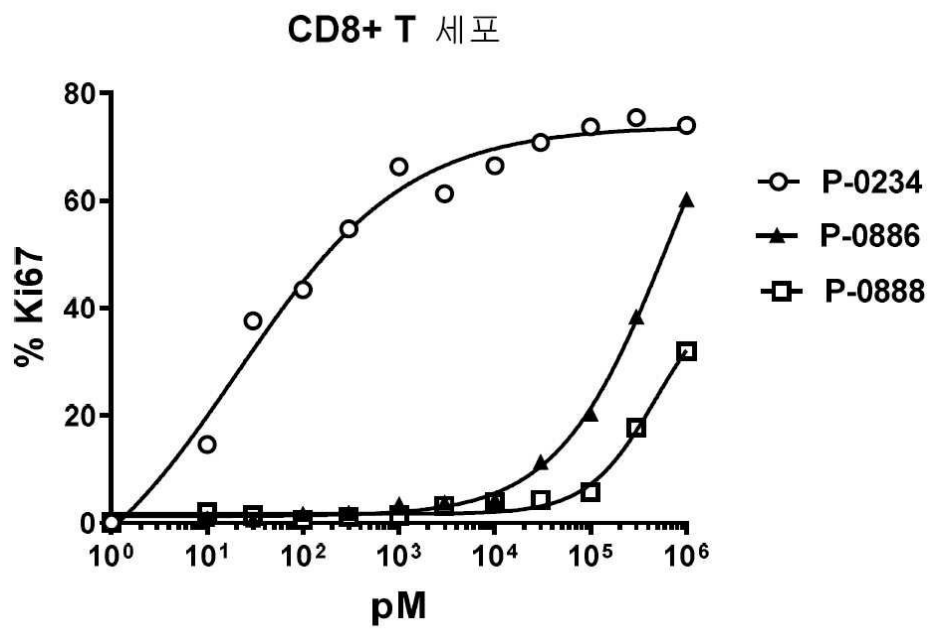
도면32



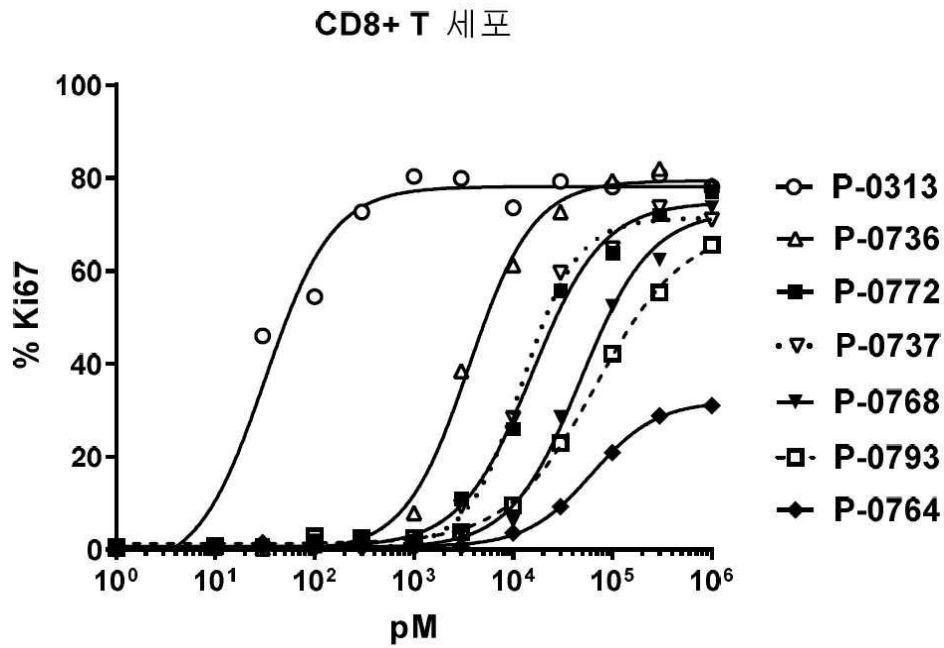
도면33a



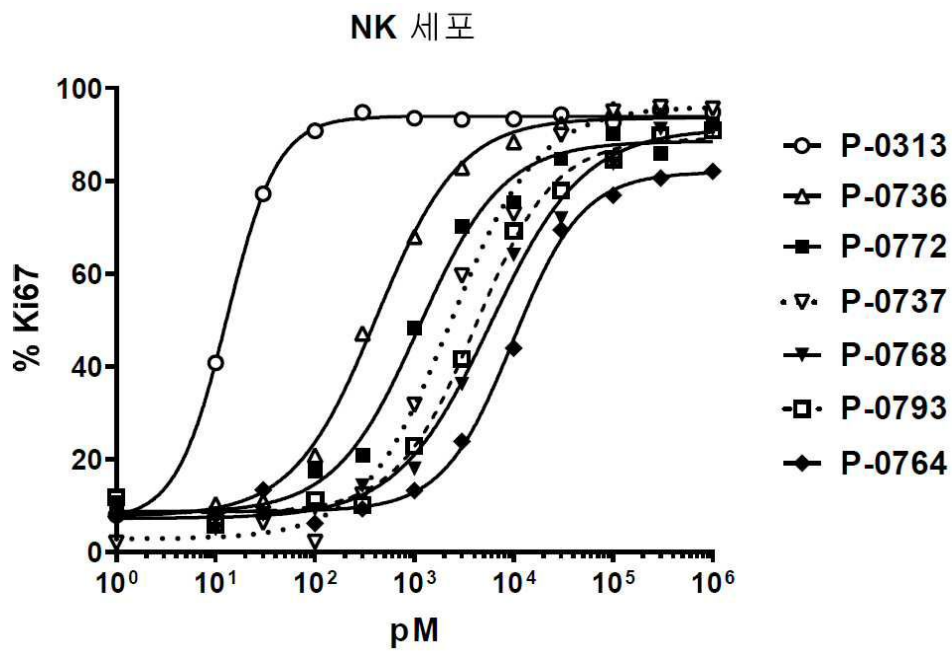
도면33b



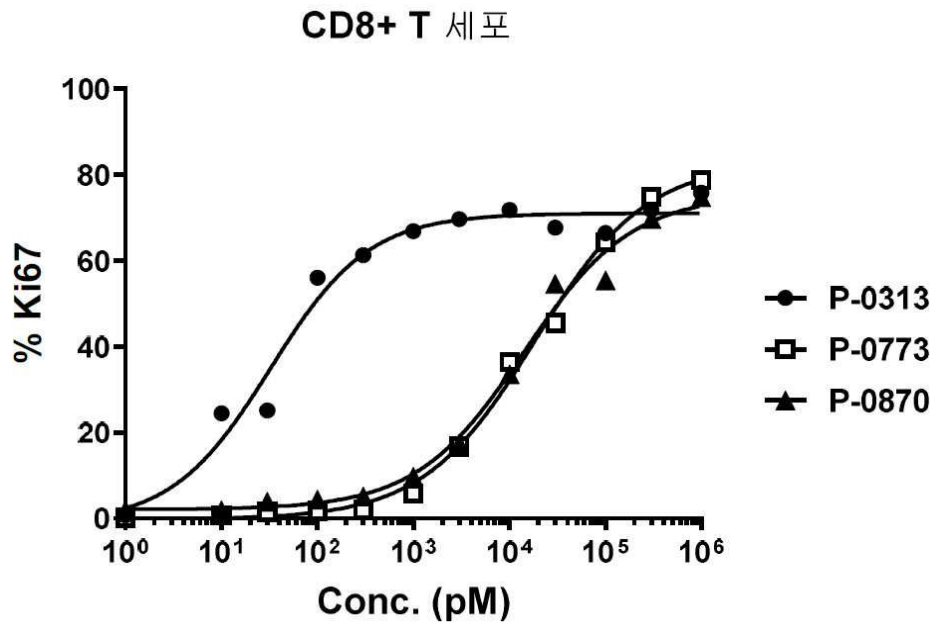
도면34a



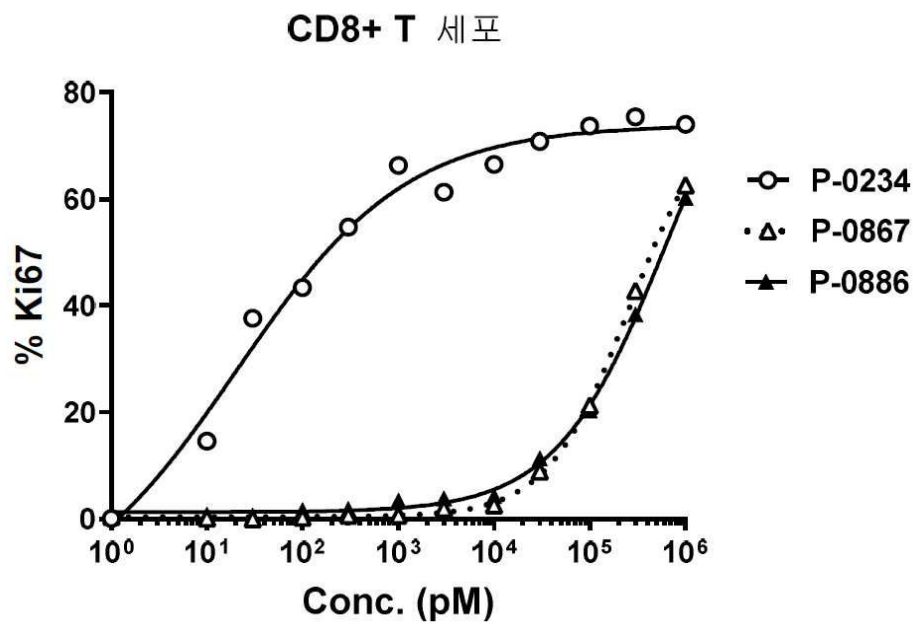
도면34b



도면35a



도면35b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Cugene Inc.

<120> NOVEL INTERLEUKIN-15 (IL-15) FUSION PROTEINS AND USES THEREOF

<130> CACCG1.0001W02

<160> 154

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 162

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr

1 5 10 15

Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His

20 25 30

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

35 40 45

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

50 55 60

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

65 70 75 80

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

85 90 95

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

100 105 110

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

115 120 125

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

130 135 140

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

145 150 155 160

Thr Ser

<210> 2

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

```

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

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

```

<210> 3

<211> 267

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

```

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

          65          70          75          80
Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala

```

Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp
85 90 95

Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr
100 105 110

Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu
115 120 125

Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala
130 135 140

Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr
145 150 155 160

Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser
165 170 175

Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln
180 185 190

Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile
195 200 205

Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu
210 215 220

Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu
225 230 235 240

Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg
245 250 255

Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu
260 265

<210> 4

<211> 175

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val
1 5 10 15

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

20 25 30
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn
35 40 45

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

Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro
115 120 125
Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr
130 135 140
Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser
145 150 155 160
His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr
165 170 175

<210> 5

<211> 77

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

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

50 55 60
 Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro
 65 70 75
 <210> 6
 <211> 226
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Human IgG1-Fc with reduced effector function
 <400> 6
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160

 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220

Pro Gly

225

<210> 7

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Knob-Fc

<400> 7

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

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

115 120 125
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly
 225
 <210> 8
 <211> 226
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Hole-Fc
 <400> 8
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15

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

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

115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly

225

<210> 9

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide Linker Sequence

<400> 9

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro

1 5 10 15

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide Linker Sequence

<400> 10

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide Linker Sequence

<400> 11

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

1 5 10 15

<210> 12

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide Linker Sequence

<400> 12

Gly Ser Gly Ser

1

<210> 13

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hole-Fc-Linker 1-IL-15 chain

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
 225 230 235 240
 Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255

 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320

 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile

340 345 350

Asn Thr Ser

355

<210> 14

<211> 318

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Knob-Fc-IL-Linker1-IL-15Ralpha-Sushi+ chain

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
 225 230 235 240
 Pro Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp
 245 250 255
 Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser
 260 265 270

Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu
 275 280 285
 Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys
 290 295 300
 Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro
 305 310 315

<210> 15

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IL-15-Linker 4-Hole-Fc chain

<400> 15

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

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

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser Gly Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser

245 250 255

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

260 265 270

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

275 280 285

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

290 295 300

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

305					310					315					320															
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly															
																325					330					335				
<210>	16																													
<211>	299																													
<212>	PRT																													
<213>	Artificial																													
<220><223>	IL-15Ralpha-Sushi+-Linker															4-Knob-Fc chain														
<400>	16																													
Ile	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val															
1	5				10				15																					
Lys	Ser	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly															
20				25				30																						
Phe	Lys	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn															
35				40				45																						
Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile															
50	55				60																									
Arg	Asp	Pro	Ala	Leu	Val	His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro	Gly	Cys	Pro															
65	70				75				80																					
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe															
85				90				95																						
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val															
100				105				110																						
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe															
115				120				125																						
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro															
130	135				140																									
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr															
145	150				155				160																					
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val															

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
180 185 190
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
195 200 205
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
210 215 220
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
225 230 235 240
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
245 250 255
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
260 265 270
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
275 280 285
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
290 295

<210> 17

<211> 313

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Knob-Fc-linker 2-IL-15Ralpha-+ chain

<400> 17

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15
Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro

225 230 235 240

Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser

245 250 255

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

260 265 270

Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn

275 280 285

Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala

290 295 300

Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro

305 310

<210> 18

<211> 350

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hole-Fc-Linker 2-IL-15 chain

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Val Asn

225 230 235 240
Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His

245 250 255
Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys

260 265 270
Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu

275 280 285
Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile

290 295 300
Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly

305 310 315 320
Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu

325 330 335
Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

340 345 350

<210> 19

<211> 350

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223

> IL-15-Linker 3-Hole-Fc chain

<400> 19

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

 Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 130 135 140
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 165 170 175
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 180 185 190

 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 195 200 205
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 210 215 220
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 225 230 235 240
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 245 250 255

 Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
 260 265 270
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 275 280 285
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 290 295 300
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

305 310 315 320

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

325 330 335

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

340 345 350

<210> 20

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 chain

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350
 Asn Thr Ser
 355
 <210> 21
 <211> 350
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> IL-15-Linker 3-Fc chain
 <400> 21

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

 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

 100 105 110
 Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 130 135 140
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

 165 170 175
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 180 185 190
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 195 200 205
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 210 215 220
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

 225 230 235 240
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

245 250 255
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Ala
260 265 270
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
275 280 285
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

290 295 300
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
305 310 315 320
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
325 330 335
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
340 345 350

<210> 22

<211> 313

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223

> Knob-Fc-Linker 2-IL-15Ralpha-Sushi+ chain

<400> 22

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

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

100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro

225 230 235 240
Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser

245 250 255
Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys

260 265 270
Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn

275 280 285
Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala

290 295 300
Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro

305 310

<210> 23

<211> 313

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 2-IL-15Ralpha-Sushi+ chain

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro

225						230												240
Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser	Tyr	Ser			
				245				250						255				
Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys	Arg	Lys			
			260					265					270					
Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala	Thr	Asn			
		275					280					285						
Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Asp	Pro	Ala			
	290					295					300							
Leu	Val	His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro										
305				310														
<210>	24																	
<211>	114																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial																	
<220><223>	Human IL-15 S58D Variant Polypeptide																	
<400>	24																	
Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile			
1			5					10						15				
Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His			
			20					25					30					
Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln			
		35					40					45						
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Asp	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu			
	50					55					60							
Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val			
65				70					75					80				
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile			
			85						90				95					
Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn			

Thr Ser

<210> 25

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 T62D Variant Polypeptide

<400> 25

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Asp Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 26

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 V63F Variant Polypeptide

<400> 26

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Phe Glu

50 55 60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110
Thr Ser

<210> 27

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I67V Variant Polypeptide

<400> 27

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60
Asn Leu Val Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 28

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I68F Variant Polypeptide

<400> 28

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Phe Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 29

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I68K Variant Polypeptide

<400> 29

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

 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Lys Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

 100 105 110
 Thr Ser

<210> 30

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I68D Variant Polypeptide

<400> 30

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

 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Asp Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110
Thr Ser

<210> 31

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I68H Variant Polypeptide

<400> 31

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

35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
50 55 60
Asn Leu Ile His Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110
Thr Ser

<210> 32

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108A Variant Polypeptide

<400> 32

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ala Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 33

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108M Variant Polypeptide

<400> 33

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Met Met Phe Ile Asn

100 105 110
Thr Ser

<210> 34

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108S Variant Polypeptide

<400> 34

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

35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ser Met Phe Ile Asn

100 105 110
Thr Ser

<210> 35

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108S/D30T Variant Polypeptide

<400> 35

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Thr Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ser Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 36

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108S/V31Y Variant Polypeptide

<400> 36

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Tyr His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

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

<210> 37

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108S/H32E Variant Polypeptide

<400> 37

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1 5 10 15
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val Glu
20 25 30
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
50 55 60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ser Met Phe Ile Asn
100 105 110
Thr Ser

<210> 38

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108S/D30T/V31Y/H32E Variant Polypeptide

<400> 38

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Thr Tyr Glu

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ser Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 39

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 deletion 111-114 Variant Polypeptide

<400> 39

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35

40

45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50

55

60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65

70

75

80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85

90

95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe

100

105

110

<210> 40

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 deletion 109-114 Variant Polypeptide

<400> 40

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1

5

10

15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20

25

30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35

40

45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50

55

60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65

70

75

80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85

90

95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln

100

105

<210> 41

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 deletion 108-114 Variant Polypeptide

<400> 41

```

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

           35           40           45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
           50           55           60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65           70           75           80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
           85           90           95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val
           100          105

```

<210> 42

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 deletion 105-114 Variant Polypeptide

<400> 42

```

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

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

```

50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val

100

<210> 43

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Insertion 'GS' after N95 Variant Polypeptide

<400> 43

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

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

115

<210> 44

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Insertion 'GSGG' after N95 Variant Polypeptide

<400> 44

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Gly

85 90 95

Gly Ser Gly Gly Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val

100 105 110

Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

115

<210> 45

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Insertion 'GSSGGSGGS' after N95 Variant Polypeptide

<400> 45

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Gly
 85 90 95
 Ser Ser Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe

100 105 110
 Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

115 120

<210> 46

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 S58D chain

<400> 46

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

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

50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Asp Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350

Asn Thr Ser
 355

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide Linker Sequence

<400> 47

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 48

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hole-Fc-Linker 3-IL-15 S58D chain

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Asp Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 49
<211> 350
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> IL-15 S58D-Linker 3-Hole-Fc chain
<400> 49

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

 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Asp Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

 100 105 110
 Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 130 135 140
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

 165 170 175
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 180 185 190
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 195 200 205
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 210 215 220
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

 225 230 235 240
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

245 250 255
Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
260 265 270
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
275 280 285
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

290 295 300
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
305 310 315 320
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
325 330 335
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
340 345 350

<210> 50

<211> 350

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223

> IL-15 S58D-Linker 3-Fc chain

<400> 50

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

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

			100				105					110						
Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly		
			115				120					125						
Ser	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val			
			130				135					140						
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr			
			145				150					155					160	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu			
			165				170					175						
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys			
			180				185					190						
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser			
			195				200					205						
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys			
			210				215					220						
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile			
			225				230					235					240	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro			
			245				250					255						
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala			
			260				265					270						
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn			
			275				280					285						
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser			
			290				295					300						
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg			
			305				310					315					320	
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu			
			325				330					335						
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly					
			340				345					350						

<210> 51

<211> 308

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IL-15Ralpha-Sushi-Linker 2-Knob-Fc chain

<400> 51

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn

35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile

50 55 60

Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala

85 90 95

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

100 105 110

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Leu Ser Pro Gly

305

<210> 52

<211> 308

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IL-15Ralpha-Sushi-Linker 2-Fc chain

<400> 52

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn

35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile

50 55 60

Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala

85 90 95
 Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 100 105 110
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 115 120 125
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 130 135 140
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

 145 150 155 160
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 165 170 175
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 180 185 190
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 195 200 205
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln

 210 215 220
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 225 230 235 240
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 245 250 255
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 260 265 270
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

 275 280 285
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 290 295 300
 Leu Ser Pro Gly
 305
 <210> 53
 <211> 355
 <212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hole-Fc-Linker 1-IL-15-S58D chain

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
 225 230 235 240
 Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Asp Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350
 Asn Thr Ser
 355
 <210> 54
 <211> 355
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Hole-Fc-Linker 3-IL-15 chain
 <400> 54
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn

305 310 315 320
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350
 Asn Thr Ser
 355
 <210> 55
 <211> 355

 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Knob-Fc-Linker 1-IL-15 chain
 <400> 55
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

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

 115 120 125
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

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

 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn

 305 310 315 320
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350
 Asn Thr Ser
 355
 <210> 56
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Human IL-15 variant with 1 amino acid deletion at the N-terminus

<400> 56

Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln

1	5	10	15
Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro			
20	25	30	
Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val			
35	40	45	
Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn			
50	55	60	
Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr			
65	70	75	80
Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys			
85	90	95	
Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr			
100	105	110	
Ser			

<210> 57

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 variant with 2 amino acid deletion at the N-terminus

<400> 57

Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser

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

Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu

65 70 75 80
Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu

85 90 95
Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
100 105 110

<210> 58

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 variant with 3 amino acid deletion at the N-terminus

<400> 58

Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met

1 5 10 15
His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys

20 25 30
Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser

35 40 45
Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile

50 55 60
Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser

65 70 75 80
Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe

85 90 95
Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
100 105 110

<210> 59

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 variant with 4 amino acid deletion at the N-terminus

<400> 59

Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His

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

65 70 75 80
Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu
85 90 95
Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
100 105 110

<210> 60

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 variant with 5 amino acid deletion at the N-terminus

<400> 60

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

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

65 70 75 80
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln

85 90 95
 Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 100 105
 <210> 61
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Human IL-15 variant with 6 amino acid deletion at the N-terminus
 <400> 61

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

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

65 70 75 80
 Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser
 85 90 95
 Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 100 105

<210> 62
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Human IL-15 V63A variant with 2 amino acid deletion at the
 N-terminus
 <400> 62

Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser

1 5 10 15

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

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

<210> 63

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I68H variant with 2 amino acid deletion at the
 N-terminus

<400> 63

Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser

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

65 70 75 80
 Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu
 85 90 95
 Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

	100	105	110
<210>	64		
<211>	296		
<212>	PRT		
<213>	Artificial		
<220><223>	Benchmark Chain 1		
<400>	64		
Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val			
1	5	10	15
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly			
	20	25	30
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn			
	35	40	45
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile			
	50	55	60
Arg Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro			
65	70	75	80
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
	85	90	95
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
	100	105	110
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr			
	115	120	125
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu			
	130	135	140
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
145	150	155	160
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
	165	170	175
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
	180	185	190
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu			

195 200 205
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 210 215 220
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 225 230 235 240
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 245 250 255
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 260 265 270

 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 275 280 285
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 290 295
 <210> 65
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Benchmark Chain 2
 <400> 65
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30

 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asp Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser

<210> 66

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 S58G Variant Polypeptide

<400> 66

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

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Gly Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser

<210> 67

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 S58H Variant Polypeptide

<400> 67

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala His Ile His Asp Thr Val Glu
50 55 60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
100 105 110
Thr Ser

<210> 68

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 S58R Variant Polypeptide

<400> 68

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

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

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 69

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 S58Q Variant Polypeptide

<400> 69

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Gln Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 70

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 S58I Variant Polypeptide

<400> 70

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ile Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 71

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 S58P Variant Polypeptide

<400> 71

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
100 105 110
Thr Ser

<210> 72

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 V63A Variant Polypeptide

<400> 72

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

Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
		35					40					45			
Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Ala	Glu
		50					55					60			

Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70					75					80
Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
				85					90					95	

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
100 105 110
Thr Ser

<210> 73

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 V63K Variant Polypeptide

<400> 73

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Lys Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 74

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 V63R Variant Polypeptide

<400> 74

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Arg Glu

50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser

<210> 75

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I68Q Variant Polypeptide

<400> 75

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

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60

Asn Leu Ile Gln Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110

Thr Ser

<210> 76

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 I68G Variant Polypeptide

<400> 76

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

50 55 60

Asn Leu Ile Gly Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 77

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108E Variant Polypeptide

<400> 77

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
50 55 60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Glu Met Phe Ile Asn
100 105 110
Thr Ser

<210> 78

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 Q108K Variant Polypeptide

<400> 78

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

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
35 40 45
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
50 55 60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Lys Met Phe Ile Asn
100 105 110
Thr Ser

<210> 79

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 V63A/I68H Variant Polypeptide

<400> 79

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala Glu

50 55 60

Asn Leu Ile His Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100 105 110

Thr Ser

<210> 80

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 V63A/I68Q Variant Polypeptide

<400> 80

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala Glu
50 55 60

Asn Leu Ile Gln Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
100 105 110

Thr Ser

<210> 81

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IL-15 V63A/I68G Variant Polypeptide

<400> 81

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
35 40 45

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala Glu
50 55 60

Asn Leu Ile Gly Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

100

105

110

Thr Ser

<210> 82

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 S58G chain

<400> 82

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Gly Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 83

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 S58H chain

<400> 83

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val

260 265 270
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala His Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 84

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 S58R chain

<400> 84

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

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

100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
160		
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
225	230	235
240		
Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu		
245	250	255
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val		
260	265	270
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu		
275	280	285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Arg Ile His Asp Thr Val		
290	295	300
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn		
305	310	315
320		
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn		
325	330	335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile		
340	345	350

Asn Thr Ser

355

<210> 85

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 S58Q chain

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Gln Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 86

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 S58I chain

<400> 86

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

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

20	25	30	
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
35	40	45	
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
50	55	60	
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
65	70	75	80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
85	90	95	
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
100	105	110	
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
115	120	125	
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser			
130	135	140	
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
145	150	155	160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro			
165	170	175	
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val			
180	185	190	
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
195	200	205	
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
210	215	220	
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly			
225	230	235	240
Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu			
245	250	255	
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val			
260	265	270	

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ile Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 87

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 S58P chain

<400> 87

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
225	230	235
Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu		
245	250	255
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val		
260	265	270
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu		
275	280	285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Pro Ile His Asp Thr Val		
290	295	300
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn		
305	310	315
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn		
325	330	335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile		
340	345	350

Asn Thr Ser

355

<210> 88

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 V63A chain

<400> 88

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255

 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320

 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350
 Asn Thr Ser
 355
 <210> 89
 <211> 355
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fc-Linker 3-IL-15 V63K chain
 <400> 89
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240
Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val

				260				265				270			
His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu
275				280				285							
Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Lys
290				295				300							
Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn
305				310				315				320			
Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn
325				330				335							

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 90

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 V63R chain

 $\langle 400 \rangle$ 90

Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
1				5					10					15	
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
			20						25					30	

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

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

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160

 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220

 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285

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

340 345 350

Asn Thr Ser

355

<210> 91

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 I68F chain

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Phe Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350
Asn Thr Ser
355

<210> 92

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 I68D chain

<400> 92

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val

260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Asp Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350

Asn Thr Ser

355

<210> 93

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 I68H chain

<400> 93

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
160		
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
225	230	235
240		
Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu		
245	250	255
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val		
260	265	270
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu		
275	280	285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val		
290	295	300
Glu Asn Leu Ile His Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn		
305	310	315
320		
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn		
325	330	335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile		
340	345	350

Asn Thr Ser

355

<210> 94

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 I68K chain

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Lys Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 95

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 I68Q chain

<400> 95

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu

275 280 285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Gln Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350
Asn Thr Ser
355

<210> 96

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 I68G chain

<400> 96

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

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

115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255

 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Gly Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320

 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
 340 345 350
 Asn Thr Ser
 355

<210> 97

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hole Fc-Linker 1-IL-15 Q108S chain

<400> 97

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser

225 230 235 240

Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu

245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val

260 265 270

His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu
275				280				285							
Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val
290				295				300							
Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn
305				310				315				320			
Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn
325				330				335							

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ser Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 98

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hole Fc-Linker 1-IL-15 Q108A chain

<400> 98

Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
1				5					10					15	
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
			20						25					30	

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
225 230 235 240

Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu

275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val

290 295 300

Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn

305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn

325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ala Met Phe Ile

340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 99

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Knob Fc-Linker 3-IL-15 Q108M chain

<400> 99

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

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

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

 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300

 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335
 Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Met Met Phe Ile
 340 345 350
 Asn Thr Ser
 355

<210> 100

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Knob Fc-Linker 3-IL-15 Q108E chain

<400> 100

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240
Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
290 295 300
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Glu Met Phe Ile
340 345 350
Asn Thr Ser
355

<210> 101

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Knob Fc-Linker 3-IL-15 Q108K chain

<400> 101

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205

 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270

 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 290 295 300
 Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 305 310 315 320
 Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
 325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Lys Met Phe Ile
 340 345 350

Asn Thr Ser
 355

<210> 102

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 V63A/I68H chain

<400> 102

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270

His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285

Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala
290 295 300

Glu Asn Leu Ile His Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 103

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 V63A/I68Q chain

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
245 250 255
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
260 265 270
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
275 280 285
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala
290 295 300

Glu Asn Leu Ile Gln Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 104

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 V63A/I68G chain

<400> 104

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

50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 245 250 255

 Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 260 265 270
 His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 275 280 285
 Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala
 290 295 300

Glu Asn Leu Ile Gly Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
305 310 315 320

Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
325 330 335

Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
340 345 350

Asn Thr Ser
355

<210> 105

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IgG1-Fc with reduced/abolished effector function and
extended half-life

<400> 105

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

1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr

20 25 30
Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

Pro Gly

225

<210> 106

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IgG1-Fc with reduced/abolished effector function and
extended in vivo half-life

<400> 106

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly

225

<210> 107

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Knob-Fc with extended in vivo half-life

<400> 107

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15
Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 108

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Hole-Fc with extended in vivo half-life

<400> 108

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225
<210> 109
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial

<220><223> Humanized anti-FAP antibody heavy chain

<400> 109

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Asn

20 25 30

Ile Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Phe His Pro Gly Ser Gly Ser Ile Lys Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Gly Thr Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 110

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Humanized anti-FAP antibody kappa light chain

<400> 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Ser Thr Ser

20 25 30

Ala Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

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

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85 90 95

Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 111

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human PD-1 antagonist antibody heavy chain

<400> 111

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Arg Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Asp Ala Asp Tyr Ser Ser Gly Ser Gly Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 <210> 112

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human PD-1 antagonist antibody LC

<400> 112

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Met Val Ile Tyr

35 40 45

Lys Asp Thr Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ser Ser Gly Thr Lys Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Asn Ser Ile Thr Tyr

85 90 95

Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser

180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val

195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210

<210> 113

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Humanized PD-1 antagonist antibody-HC

<400> 113

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

[illegible]

[illegible]

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
 195 200 205
 Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
 210 215 220
 Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
 225 230 235 240

 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300

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

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Leu Gly Lys

450

<210> 116

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Humanized PD-1 antagonist antibody-LC

<400> 116

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215
<210> 117
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Humanized PD-1 antagonist antibody-HC
<400> 117
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

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

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

 435 440 445
 <210> 118
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Humanized PD-1 antagonist antibody-LC
 <400> 118
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
 85 90 95
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

 165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

 180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

 195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

 210 215

<210> 119

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human PD-1 antagonist antibody-HC

<400> 119

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

100 105 110

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser

115 120 125

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 130 135 140
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
 180 185 190

 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 245 250 255

 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 260 265 270
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 275 280 285
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 290 295 300
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 305 310 315 320

 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 325 330 335
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
 340 345 350
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 355 360 365
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

370 375 380
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440
 <210> 120
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220><223> Human PD-1 antagonist antibody-LC
 <400> 120
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

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

 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 121
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Humanized PD-L1 antagonist antibody-HC
<400> 121
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
20 25 30
Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

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

 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 122
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Humanized PD-L1 antagonist antibody-LC
 <400> 122
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

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

115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210
<210> 123
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Human CTLA-4 antagonist antibody-HC
<400> 123

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

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

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

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

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 124

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human CTLA-4 antagonist antibody-LC

<400> 124

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

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

20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Phe Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85

90

95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 125

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human CD40 agonist antibody-HC

<400> 125

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
100 105 110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
195 200 205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
210 215 220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
225 230 235 240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro

325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365

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

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 126

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human CD40 agonist antibody-LC

<400> 126

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu

65 70 75 80

85 90 95

Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala		
100						105						110					
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly		
115						120						125					
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala		
130						135						140					
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln		
145						150						155				160	

Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser								
				165								170								175			
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr								
				180								185								190			
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser								
				195								200								205			
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys																		
				210																			

<210> 127

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial

<220

><223> Humanized anti-fibronectin antibody-HC

<400> 127

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65

70

75

80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

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

115

120

125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val

130

135

140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

145

150

155

160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly

165

170

175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly

180

185

190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys

195

200

205

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

210

215

220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

225

230

235

240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

245

250

255

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

260

265

270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

275

280

285

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

290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

340 345 350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

405 410 415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 128

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Humanized anti-fibronectin antibody-LC

<400> 128

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 129

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Chimeric anti-CD20 antibody-HC

<400> 129

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

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

275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335

 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 130
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Chimeric anti-CD20 antibody-LC

 <400> 130
 Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile

20 25 30
 His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

 Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190

 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 131
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Humanized anti-Her2 antibody-HC
 <400> 131
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30

 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 132

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Humanized anti-Her2 antibody-LC

<400> 132

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 133

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Chimeric anti-EGFR antibody-HC

<400> 133

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr

50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

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

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355

360

365

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

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

Lys

<210> 134

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Chimeric anti-EGFR antibody-LC

<400> 134

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn

20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 135

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial

<220

><223> Human IgG1 CH1-CH2-CH3 domain with reduced/abolished effector
function

<400> 135

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

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

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 136

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IgG1 CH1-CH2-CH3 domain with reduced/abolished effector
 function knob chain

<400> 136

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

50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 137

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human IgG1 CH1-CH2-CH3 domain with reduced/abolished effector

function Hole chain

<400> 137

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

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

165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 138

<211> 575

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 Q108S chain

<400> 138

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

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

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

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

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Val
450 455 460
Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met
465 470 475 480
His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys

485 490 495
Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser
500 505 510
Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile
515 520 525

Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser
530 535 540
Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe
545 550 555 560
Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ser Met Phe Ile Asn Thr Ser
565 570 575
<210> 139
<211> 575
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 Q108S knob chain
<400> 139
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro

 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Val

450 455 460

Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met

465 470 475 480

His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys

485 490 495

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

500 505 510

Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile

515 520 525

Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser

530 535 540

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

545 550 555 560

Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ser Met Phe Ile Asn Thr Ser

565 570 575

<210> 140

<211> 575

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 Q108A knob chain

<400> 140

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Val
450 455 460

Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met
465 470 475 480

His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys
485 490 495

Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser
500 505 510

Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile

515 520 525
 Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser
 530 535 540
 Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe
 545 550 555 560
 Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Ala Met Phe Ile Asn Thr Ser
 565 570 575
 <210> 141
 <211> 575
 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220><223> PD-1 antagonist antibody HC-IL-15 V63A/I68H chain
 <400> 141
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

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

 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

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

 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

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

 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Val
450 455 460
Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met
465 470 475 480
His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys
485 490 495
Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser
500 505 510
Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala Glu Asn Leu Ile
515 520 525
His Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser
530 535 540
Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe
545 550 555 560
Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
565 570 575
<210> 142
<211> 575
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 I68G knob chain
<400> 142
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

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

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

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

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu

355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Val
450 455 460
Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met
465 470 475 480
His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys

485 490 495
Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser
500 505 510
Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile
515 520 525

Gly Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser

530

535

540

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

545

550

555

560

Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

565

570

575

<210> 143

<211> 575

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 V63A/I68G knob chain

<400> 143

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50

55

60

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

65

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100

105

110

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

115

120

125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130

135

140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro

 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Val

450 455 460

Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met

465 470 475 480

His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys

485 490 495

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

500 505 510

Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala Glu Asn Leu Ile

515 520 525

Gly Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser

530 535 540

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

545 550 555 560

Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

565 570 575

<210> 144

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC hole chain

<400> 144

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 145

<211> 575

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 V63A/I68G chain

<400> 145

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

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

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

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

 500 505 510
 Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala Glu Asn Leu Ile
 515 520 525

Gly Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser
530 535 540

Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe
545 550 555 560

Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

565 570 575

<210> 146

<211> 573

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 N-terminal 2-aa deletion chain

<400> 146

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

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

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

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

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

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

290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly

435 440 445
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Asn Val

450 455 460
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile

465 470 475 480
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val

485 490 495
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu

500 505 510
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu

515 520 525
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys

530 535 540
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln

545 550 555 560
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

565 570

<210> 147

<211> 571

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 N-terminal 4-aa deletion chain

<400> 147

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

 340 345 350
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Ile Ser
 450 455 460
 Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala

 465 470 475 480
 Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala
 485 490 495
 Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly
 500 505 510
 Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn
 515 520 525

Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu

530

535

540

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

545

550

555

560

Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

565

570

<210> 148

<211> 573

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> PD-1 antagonist antibody-HC-IL-15 V63A & N-terminal 2-aa deletion
chain

<400> 148

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50

55

60

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

65

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Ser Pro Asp Ser Ser Gly Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100

105

110

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

115

120

125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130

135

140

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

385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Asn Val

 450 455 460
 Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile
 465 470 475 480
 Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val
 485 490 495
 Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu
 500 505 510
 Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Ala Glu Asn Leu Ile Ile Leu

 515 520 525
 Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys
 530 535 540
 Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln
 545 550 555 560
 Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 565 570

 <210> 149
 <211> 354
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fc-Linker 3-IL-15 N-terminal 1-aa deletion chain

 <400> 149
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Ser Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 245 250 255

 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 260 265 270

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 275 280 285
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 290 295 300
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 305 310 315 320

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 325 330 335
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 340 345 350
 Thr Ser

<210> 150

<211> 353

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 N-terminal 2-aa deletion chain

<400> 150

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 1 5 10 15

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

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ser Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln
245 250 255

Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro
260 265 270

Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val
275 280 285

Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn
290 295 300

Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr
305 310 315 320

Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys
325 330 335

Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr
340 345 350

Ser

<210> 151

<211> 352

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 N-terminal 3-aa deletion chain

<400> 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240
Ser Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser
245 250 255
Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser
260 265 270
Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile
275 280 285

Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu
290 295 300
Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu
305 310 315 320
Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu
325 330 335
Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
340 345 350

<210> 152

<211> 351

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fc-Linker 3-IL-15 N-terminal 4-aa deletion chain

<400> 152

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

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

 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

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

 Ser Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met
 245 250 255
 His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys
 260 265 270
 Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser
 275 280 285
 Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile

290 295 300

Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser

305 310 315 320

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

325 330 335

Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

340 345 350

<210> 153

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide Linker Sequence

<400> 153

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 154

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide Linker Sequence

<400> 154

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5